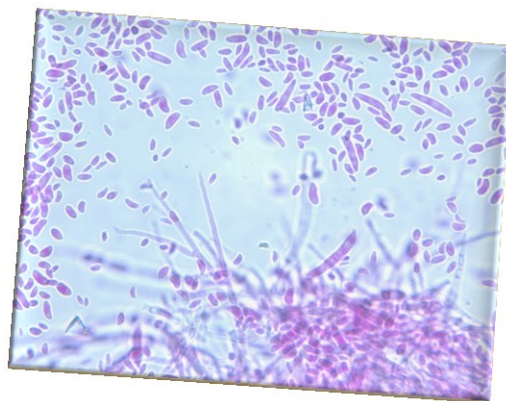




# Universidade dos Açores

## Departamento de Ciências Agrárias

### Monitorização da Presença de Fungos com Interesse Clínico em Ambiente Hospitalar: Zonas de Banho como Potenciais Focos de Contaminação Fúngica



Fusarium spp. (amostra 114) 40x

Marco António Linhares Rosa

**ORIENTADORA:** Professora Doutora Nicolina Marques Dias

**COORIENTADORA:** Professora Doutora Maria Adelaide Gonçalves Lobo

Dissertação de Mestrado em Engenharia do Ambiente

ANGRA DO HEROÍSMO

2013



**Universidade dos Açores**  
**Departamento de Ciências Agrárias**

Monitorização da Presença de  
Fungos com Interesse Clínico em Ambiente  
Hospitalar: Zonas de Banho como Potenciais  
Focos de Contaminação Fúngica

Marco António Linhares Rosa

**ORIENTADORA:** Professora Doutora Nicolina Marques Dias

**COORIENTADORA:** Professora Doutora Maria Adelaide Gonçalves Lobo

Dissertação de Mestrado em Engenharia do Ambiente

ANGRA DO HEROÍSMO

2013



À minha mulher Sandra,  
os meus filhos Gonçalo e Barbara Rosa.  
Aos meus familiares presentes e à memória dos que já partiram...

---

*"No meio da dificuldade encontra-se a oportunidade."  
Albert Einstein*

---

## Agradecimentos

A elaboração deste trabalho só foi possível com o apoio de várias pessoas e instituições, a quem quero agradecer especialmente:

À minha família pelo apoio e compreensão pela ausência devido à elaboração deste projeto. A todos os meus amigos que me apoiaram desde sempre!

À minha orientadora Professora Doutora Nicolina Marques Dias, pela sua orientação, disponibilidade e apoio incondicional, fundamentais à realização deste trabalho, o meu reconhecido agradecimento;

À minha coorientadora Professora Doutora Maria Adelaide Gonçalves Lobo, pela sua disponibilidade, amizade, apoio, incentivo, simpatia e orientação no meu percurso profissional durante 19 anos;

Ao Departamento de Ciências Agrárias da Universidade dos Açores na Pessoa do Professor Catedrático Alfredo Emílio Silveira de Borba pela permissão e apoio na realização de parte deste projeto no meu local de trabalho, a todos os colegas e aos funcionários que acreditaram em mim. À colega e amiga Lurdes Martins pelo apoio e incentivo sempre presente.

Ao Laboratório Regional de Veterinária na pessoa da Doutora Lídia Flôr, pela permissão e apoio na realização de parte deste projeto; no Laboratório de Micologia, à Mestre Valentina Maria Melo Santos por toda a simpatia, disponibilidade e apoio que sempre demonstrou ao longo da realização prática deste trabalho, que não era possível sem o seu apoio, à sua assistente a Senhora Fátima Carreira pela colaboração incondicional nos trabalhos práticos e todos os funcionários que diretamente ou indiretamente contribuíram para a sua execução.

Ao Professor Coordenador, Enfermeiro Miguel Gomes por acreditar em mim, pelo convite a integrar um projeto coordenado pelo próprio, pela sua disponibilidade. É a pessoa responsável pelo contacto com pessoas especialistas em micologia como é o caso da Doutora Nicolina Dias e a Mestre Valentina Santos e do meu fascínio pela temática.

---

Ao Professor Doutor José Carlos G. Fontes pelo apoio no fornecimento de material necessário.

Ao Professor Doutor Luís Filipe A. R. Souto pelo apoio, disponibilidade e informação do manuseio do equipamento existente no Centro de estudos do Clima, Meteorologia e Mudanças Globais (CMMG) o equipamento da temperatura e de humidade; datalogger DataHog 2 da Skye Instruments;

Aos colegas de mestrado em especial, ao Bruno, à Diana e Catarina pela amizade e apoio durante as aulas; a todos os Professores do Mestrado pela disponibilidade, aprendizagem e apoio à nossa formação;

Ao coordenador do mestrado, o Professor António Félix F. Rodrigues pela disponibilidade e compreensão ao longo da execução deste projeto;

À Administração do Hospital, pela autorização para a realização do estudo.

Ao Enfermeiro Diretor João Enes, pela disponibilidade que demonstrou em ajudar, por facilitar o meu trabalho dentro do hospital, obrigado por todo o apoio.

---

## Resumo

Não existe uma padronização na limpeza e desinfecção das zonas de banho, frequentadas por indivíduos muitas vezes debilitados do ponto de vista do seu sistema imunológico. Estes constituem grupos de risco para as infeções provocadas por fungos oportunistas que encontram as condições ideais para o seu desenvolvimento.

O objetivo principal deste estudo foi o de avaliar a presença de fungos com interesse clínico em ambiente hospitalar. Foram desenvolvidos três objetivos específicos: caracterização das zonas de banho de cada um dos seis serviços amostrados; caracterização da distribuição fúngica em diversas superfícies e água dos chuveiros nas zonas de banho; Avaliação da efetividade das limpezas nas zonas de banho, realizando-se uma colheita antes e após a limpeza e desinfecção do local. Foram efetuadas duas amostragens por serviço.

O fungo filamentosso prevalente em todas as amostras incubadas foi o fitopatogénico *Fusarium* spp., perfazendo 40% dos fungos isolados. Outros fungos filamentosos do género *Penicillium* spp. foram isolados em 26% das amostras e o género *Phoma* spp. em 25%. Estes três géneros correspondem a 91% do total de fungos isolados. Não se encontraram dermatófitos em nenhuma das amostras da superfície. Não se verificou a presença de fungos filamentosos na água amostrada.

Recomenda-se uma padronização do protocolo de higienização das zonas de banho em todos os serviços. Ações de sensibilização para o pessoal hospitalar, o condicionamento ao acesso das zonas de banho após a higienização do local e uma monitorização sistemática da carga fúngica do ambiente hospitalar são outras medidas preventivas para minimizar o risco de contaminação e garantir uma melhor segurança de quem frequenta as instalações sanitárias nos hospitais.

PALAVRAS-CHAVE: Fungos, Superfícies, Bioaerossóis, Zonas de Banho, Ambiente Hospitalar, Higienização.

---

## Abstract

There is no standardization in the cleaning and disinfection of sanitary facilities, including bathroom areas, which are frequented by individuals often weakened from the standpoint of their immune system. These groups are at risk for infections caused by opportunistic fungi, which find the optimal conditions for their development.

The study aimed at evaluating the presence of fungi with clinical interest in the hospital environment and three specific objectives were developed: Characterization of the bathroom areas; Characterization of fungal distribution on different surfaces and water of the showers of sanitary facilities (bathroom areas); Evaluation of the effectiveness of bath cleaning. Samples were taken before and after cleaning and disinfection of the site. Double sampling per healthcare unit was performed.

The phytopathogenic *Fusarium* spp. was the prevalent filamentous fungus found with a percentage of 40% among all the samples. Other filamentous fungi of the genus *Penicillium* spp. and *Phoma* spp. were found 26% and 25% respectively. The three genera corresponded to 91% of isolated fungi. No dermatophytes were found on any sample taken from surfaces. No filamentous fungi were found in the water.

Standardization of sanitization procedures is recommended for all the hospital units. Actions to increase awareness of the hospital's staff, conditioning the access to bathing areas after the sanitization and systematic monitoring of fungal burden of the hospital environment are other preventive measures to minimize the risk of contamination that ensure better safety of those attending the sanitary facilities in hospitals.

KEYWORDS: fungi, surfaces, bioaerosols, Bath area, Hospital Environment, Hygienization.

---

## Abreviaturas

ACOEM – *American College of Occupational Environmental Management*

ADN - Ácido desoxirribonucleico

AI – Aspergilose invasiva

API – Aspergilose Pulmonar Invasiva

AVAC – Aquecimento, Ventilação e Ar Condicionado

cm - Centímetro

D+S – Dermasel (meio de cultura) + Suplemento

E.P.E.- Entidade Pública Empresarial

EFA – *European Federation of Allergy*

EPA – *Environmental Protection Agency*

EPI - Equipamentos de protecção individual

EUA – Estados Unidos da América

HEPA - *High Efficiency Particulate Air*

HIV – *Human Immunodeficiency Virus*

IACS – *Infeções Associadas aos Cuidados de Saúde*

IFI – Infeções Fúngicas Invasivas

INF – Infeções Nosocomiais Fúngicas

M – Molaridade ou concentração molar

MEA - *Malt Extract Agar* (meio de cultura)

mL - Mililitro

NaClO - Hipoclorito de Sódio

---

°C – Grau centígrado

°F – Grau Fahrenheit

OMS – Organização Mundial de Saúde

QAI – Qualidade do Ar Interior

SAB – *Sabouraud Dextrose Agar* (meio de cultura)

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

spp. – Espécies

UCI - Unidade de Cuidados Intensivos

UFC - Unidade Formadora de Colónia

UNESCO - *United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization*

UTI – Unidade de Terapia Intensiva

UV - Ultra Violeta

WC - Compartimento dotado de sanita = Casa de Banho

---

## Índice

Resumo.....	vii
Abstract.....	viii
Abreviaturas.....	ix
Índice.....	xii
Lista de Figuras.....	xii
Lista de quadros.....	xiii
Capítulo I.....	1
Introdução.....	1
Revisão da Literatura.....	6
Objetivos.....	21
Capítulo II.....	22
Material e Métodos.....	22
Capítulo III.....	44
Resultados.....	44
Capítulo IV.....	56
Discussão.....	56
Capítulo V.....	64
Conclusão.....	64
Capítulo VI.....	67
Bibliografia.....	67
Legislação.....	78
Anexo 1.....	79
Anexo 2.....	80
Anexo 3.....	92
Anexo 4.....	93
Anexo 5.....	94
Anexo 6.....	95
Anexo 7.....	96
Anexo 8.....	97
Anexo 9.....	98

---

## Lista de Figuras

Figura 1. Mala térmica (1a e 1b) com os frascos estéreis, zaragatoas estéreis em tubo, placa de gelo, algodão, o álcool a 70° e o molde de metal de 100 cm <sup>2</sup> . ....	36
Figura 2. Aparelho, sensor combinado de temperatura e humidade relativa do ar da Skye Instruments Ltd. (rht+, SKH 2070/1). O equipamento de aquisição de dados, um datalogger DataHog 2 da Skye Instruments., programado para fazer leituras de 5 minutos em 5 minutos. ....	36
Figura 3. Chão com o molde de metal de 100 cm <sup>2</sup> . ....	37
Figura 4. Assento de inox, com o molde de metal de 100 cm <sup>2</sup> . ....	37
Figura 5. Parede, com o molde de metal 100 cm <sup>2</sup> . ....	38
Figura 6. Extrator na Medicina III. ....	38
Figura 7. Aparelho da Palintest (leitura do resíduo do cloro). ....	38
Figura 8. Percentagem de fungos identificados nas amostras realizadas nos diferentes serviços do Hospital. ....	49
Figura 9. Carga fúngica (UFC/ml) identificada nos diferentes serviços do Hospital. ....	50
Figura 10. Carga fúngica (UFC/ml) encontrada após a higienização dos Pacientes (Manhã) ....	51
Figura 11. Carga fúngica (UFC/ml) encontrada após a higienização da zona de banho (Tarde) ....	51
Figura 12. Carga fúngica (UFC/mL) e identificação dos fungos recolhidos por local de amostragem ....	52
Figura 13. Carga fúngica (UFC/ml) e identificação dos fungos recolhidos por local de amostragem no período da manhã. ....	53
Figura 14. Carga fúngica (UFC/ml) e identificação dos fungos recolhidos por local de amostragem no período da tarde. ....	54
Figura 15. Temperatura e humidade relativa nas zonas de banho amostradas do final de estudo. ....	55

---

## Lista de quadros

Quadro 1: Resumo da informação recolhida a partir dos registos escritos e observação das zonas de banho.....	24
Quadro 2: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina I (Homens) na fase de Pré- teste.....	44
Quadro 3: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia II- Mulheres na fase de Pré-teste.....	45
Quadro 4: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina II (Mulheres) na fase de Pré-teste.....	46
Quadro 5: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Pediatria na fase de Pré-teste.....	46
Quadro 6: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina III (infetocontagiosos) na fase de Pré-teste.....	47
Quadro 7: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia I (Homens) na fase de Pré-teste.....	47
Quadro 8: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina I (Homens), após higienização de pacientes (manhã de 25/01/2012).....	80
Quadro 9: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina II (Mulheres), após higienização de pacientes (manhã de 25/01/2012).....	80
Quadro 10: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina I (Homens), após higienização da zona (tarde de 25/01/2012).....	81
Quadro 11: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina II (Mulheres), após higienização da zona (tarde de 25/01/2012).....	81
Quadro 12: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia I (Homens), após higienização de pacientes (manhã de 01/02/2012).....	82
Quadro 13: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia II (Mulheres), após higienização de pacientes (manhã de 01/02/2012).....	82

---

Quadro 14: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia I (Homens), após higienização da zona (tarde de 01/02/2012).....	83
Quadro 15: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia II (Mulheres), após higienização da zona (tarde de 01/02/2012).....	83
Quadro 16: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Pediatria, após higienização de pacientes (manhã de 08/02/2012).....	84
Quadro 17: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina III, após higienização de pacientes (manhã de 08/02/2012).....	84
Quadro 18: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Pediatria, após higienização da zona (tarde de 08/02/2012).....	85
Quadro 19: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina III, após higienização da zona (tarde de 08/02/2012).....	85
Quadro 20: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina I (Homens), após higienização dos pacientes (manhã de 15/02/2012).....	86
Quadro 21: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina II (Mulheres), após higienização dos pacientes (manhã de 15/02/2012).....	86
Quadro 22: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina I (Homens), após higienização da zona (tarde de 15/02/2012).....	87
Quadro 23: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina II (Mulheres), após higienização da zona (tarde de 15/02/2012).....	87
Quadro 24: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia I (Homens), após higienização dos pacientes (manhã 01/03/2012).....	88
Quadro 25: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia II (Mulheres), após higienização dos pacientes (manhã 01/03/2012).....	88

---

Quadro 26: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia I (Homens), após higienização da zona (tarde 01/03/2012).....	89
Quadro 27: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia II (Mulheres), após higienização da zona (tarde 01/03/2012).....	89
Quadro 28: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Pediatria, após higienização dos pacientes (manhã 09/03/2012).....	90
Quadro 29: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina III, após higienização dos pacientes (manhã 09/03/2012).....	90
Quadro 30: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Pediatria, após higienização da zona (tarde 09/03/2012).....	91
Quadro 31: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina III, após higienização da zona (tarde 09/03/2012).....	91

---

# Capítulo I

## Introdução

Os fungos são organismos eucariotas, heterotróficos, que exigem compostos orgânicos como fonte de nutrientes. Na natureza desempenham o papel de depuradores, decompondo os hidratos de carbono e proteínas complexas dos cadáveres de outros organismos, utilizando-os como fonte de carbono e azoto, respetivamente. Ao contrário da maior parte dos microrganismos, os fungos interessam ao Homem, porque intervêm em numerosos processos industriais tais como no fabrico do pão, bebidas fermentadas, queijo e, ainda produzem valiosos compostos orgânicos, nomeadamente fármacos como os antibióticos e a cortisona. Os fungos são também reconhecidos pela sua capacidade de parasitar os vegetais produzindo grandes prejuízos nas culturas agrícolas (Freitas, 2010). Geralmente os fungos saprófitas não constituem um risco de doença grave para o ser Humano. No entanto as alterações ambientais, os hábitos alimentares alterados, o uso indevido de medicamentos e o aumento da esperança de vida do homem, surgem doenças graves, cujo tratamento é cada vez mais agressivo para o organismo, enfraquecendo o sistema imunitário.

Nos últimos anos, o aparecimento de novos agentes infecciosos, muitos dos quais oportunistas patogénicos, tem vindo a contribuir para as alterações profundas no padrão das infeções fúngicas humanas. As infeções provocadas por fungos filamentosos, como a espécie *Aspergillus fumigatus*, são graves tendo-se verificado que a sua incidência tem vindo a crescer com o aumento do número de indivíduos imunocomprometidos. Por outro lado, as dermatofitoses, infeções superficiais dos tecidos queratinizados (pele, unha e cabelo), são causadas por um grupo específico de fungos – os dermatófitos. Apesar de serem infeções menos graves são bastante mais frequentes e constituem por si só um problema de saúde pública.

Os hospitais, são definidos como estabelecimentos de saúde, com serviços diferenciados, dotados de capacidade de internamento, de ambulatório (consulta e urgência) e de meios de diagnóstico e terapêutica, com o objetivo de prestar à

---

população, assistência médica curativa e de reabilitação, competindo-lhe também colaborar na prevenção da doença, no ensino e na investigação científica. Com a Portaria n.º 132/2009 de 30 de Janeiro, a definição de episódio de internamento passou a exigir a permanência de, pelo menos, vinte e quatro horas. Define-se como doente internado, um indivíduo admitido num estabelecimento de saúde com internamento, num determinado período, que ocupe cama (ou berço de neonatologia ou pediatria), para diagnóstico ou tratamento, com permanência de, pelo menos, vinte e quatro horas. Excetuam-se os casos em que os doentes venham a falecer, saiam contra parecer médico ou sejam transferidos para outro estabelecimento. A unidade de internamento, corresponde a uma Chefia de Enfermagem (exemplo: Medicina I - Homens).

Os hospitais são os edifícios mais importantes para o tratamento de doenças, mas também podem ser um foco de infeções humanas devido ao estado debilitado dos pacientes, como também do próprio edifício. No Relatório de Inquérito de Prevalência de Infeção de 2010 do Ministério da Saúde (Pina et al., 2010a), está reportado um estudo que teve a participação de 97 hospitais do Continente e Ilhas incluindo 14 hospitais privados, num total de 21011 doentes. Os serviços que apresentaram taxas mais elevadas de infeções nosocomiais foram as unidades de cuidados intensivos, serviços cirúrgicos e de hematologia/oncologia. Foi solicitado um estudo laboratorial para diagnóstico etiológico da infeção sendo a frequência maior nos doentes com infeção hematogénea, infeção das vias urinárias, infeções do local cirúrgico, infeções osteoarticulares e infeções da pele e tecidos moles. Nesses pacientes foram isolados 105 fungos, dos quais 69 pertenciam à espécie *Candida albicans*, 32 foram identificadas como outras espécies do género *Candida* e 4 identificaram-se como outros fungos.

O local escolhido para o estudo prende-se com o facto de os Açores serem um local privilegiado e com um potencial muito elevado para estudos de micologia. Os Açores têm um clima marítimo com temperaturas amenas que variam desde os 16°C (60°F) no Inverno aos 26°C (79°F) no Verão. O clima na Ilha Terceira é caracterizado pela sua amenidade térmica, pelos elevados índices de humidade do ar e por um regime de ventos persistentes, sendo a caracterização sazonal do clima da Ilha Terceira particularmente ditada pelo regime pluviométrico (Brito, 1996). A

---

chuva é uma presença mais ou menos constante durante todo o ano sendo, regra geral, mais frequente e intensa no Inverno. Uma circulação predominante do quadrante Oeste, com uma representatividade mais acentuada para o rumo SW, tendencialmente portadora de ar mais quente e húmido, propicia as condições para mais rapidamente ser atingido o ponto orvalho e, por deposição de parte da humidade que transportam, conduzirem a um acréscimo da temperatura do ar a sotavento (Brito, 1996). É característica dos Açores a grande variedade de condições climáticas a acontecer num curto período de tempo. Pelas especificidades do clima temperado e húmido, apresenta o microclima ideal para o desenvolvimento de fungos e este estudo, poderá ser precursor de estudos posteriores.

Esta dissertação foi elaborada no âmbito da 4<sup>a</sup> edição do Mestrado em Engenharia do Ambiente da Universidade dos Açores. A principal justificativa para este estudo foi o desafio de participar numa investigação pioneira, nos Açores, em que se procurou estabelecer uma associação entre os fungos e o meio hospitalar. Pretendeu-se ainda, que o estudo favorecesse uma articulação interdisciplinar entre diversas áreas científicas, nomeadamente a biologia e ecologia de fungos de interesse clínico, que tendem a desenvolver-se nos ambientes específicos das zonas de banho de alguns serviços hospitalares. Este trabalho constitui um estudo preliminar efetuado no Hospital de Santo Espírito de Angra do Heroísmo E.P.E. cujos serviços foram transferidos a partir de 26 de Março de 2012 com a inauguração de um novo edifício, nos Açores. Este consistiu no primeiro estudo micológico realizado em ambiente hospitalar no Arquipélago dos Açores. Quisemos conhecer a realidade local de forma a poder responder eficazmente aos seus problemas específicos.

O estudo teve como objetivo geral avaliar a presença de fungos com interesse clínico em ambiente hospitalar. Para concretizar este objetivo propusemo-nos desenvolver três objetivos específicos:

- Caracterização das zonas de banho de cada serviço onde foram recolhidas posteriormente as amostras;

---

- Caracterização da distribuição fúngica em diferentes superfícies (paredes, chão, bancos, extratores de ar...) e água dos chuveiros nas zonas de banho;

- Avaliação da efetividade das limpezas nas mesmas zonas de banho, realizando-se a colheita antes e após os procedimentos de limpeza e desinfecção do local.

O presente estudo deverá contribuir para obtenção de informações que dêem a conhecer as práticas de higienização e a sua efetividade na prevenção de uma possível contaminação fúngica para o paciente, em ambiente hospitalar, a distribuição e frequência da carga fúngica nas zonas de banho de várias enfermarias do Hospital de Santo Espírito de Angra do Heroísmo.

A presente dissertação está dividida em seis capítulos. No capítulo I que inclui a Introdução, a Revisão da Literatura em que se abordaram os principais temas do estudo, nomeadamente a problemática da presença de fungos na qualidade do ar interior (QAI) nos edifícios; os fungos como agentes infecciosos; a presença de fungos no meio hospitalar; a limpeza e higienização de superfícies. No final deste capítulo foram novamente referidos os principais objetivos globais e específicos do estudo. No capítulo II descreveram-se todos os materiais e métodos utilizados para o desenvolvimento da parte prática do estudo, dos quais se destacam: 1) o local de estudo e a caracterização de cada serviço, nomeadamente Medicina I – Homens, Medicina II – Mulheres, Medicina III – infetocontagiosos, Cirurgia I – Homens, Cirurgia II – Mulheres, Pediatria e da observação in situ dos locais; 2) Descrição dos procedimentos realizados antes de se iniciarem as recolhas de material nos diferentes serviços (pré-testes) e respetivo procedimento de recolha e processamento das amostras; 3) Recolha de material e procedimento experimental nas amostragens finais; 4) Controlo ambiental. No capítulo III são enumerados os principais resultados obtidos a partir dos pré-testes e das amostragens subsequentes. No capítulo IV fez-se a análise e interpretação dos resultados desenvolvendo a discussão, e tendo em conta a bibliografia científica consultada. No capítulo V elaborou-se uma conclusão geral acompanhada de perspetivas futuras. Finalmente no capítulo VI enumerou-se toda a bibliografia referenciada e consultada (incluindo a legislação) da qual se extraíram as

---

fundamentações científicas e as orientações para o desenvolvimento do estudo e formulação das conclusões.

---

## Revisão da Literatura

### 1. Qualidade do Ar Interior (QAI) e edifícios

#### 1.1. A presença de fungos e a deterioração da QAI

A Qualidade do Ar Interior (QAI) surgiu como ciência a partir da década de 70 do século XX, com a crise energética e a consequente construção de edifícios selados (desprovidos de ventilação natural), principalmente nos países desenvolvidos, após a descoberta de que a diminuição das taxas de troca de ar nesses ambientes era a grande responsável pelo aumento da concentração de poluentes no ar interno dos edifícios. Admite-se que a ventilação seja um dos principais fatores que interferem na QAI e que os próprios ocupantes dos edifícios contribuem substancialmente com a poluição destes ambientes através das suas atividades (Shirmer et al., 2011).

Até final dos anos noventa do século XX, uma boa ventilação era considerada como o suficiente para a manutenção de uma QAI aceitável, uma vez que apenas as atividades dos ocupantes eram tidas como emissores de poluentes. Com a alteração desta visão redutora, reconheceu-se que a presença dos poluentes estava relacionada não só com os ocupantes e as suas atividades, mas também com os materiais utilizados na construção dos edifícios, com os equipamentos e mobiliário, com os sistemas de aquecimento, ventilação e ar condicionado (AVAC), e com a qualidade do ar exterior (Sanguessuga, 2012).

Segundo o Relatório da European Federation of Allergy and Airways Diseases Patients Associations (EFA), hoje em dia, a taxa de renovação do ar nos edifícios é 10 vezes menor que há 30 anos atrás. Consequentemente verifica-se um aumento da humidade, bem como nos níveis de poluentes do ar interior (EFA, 2004). Para entender a importância do ar ambiente no interior dos edifícios e as suas consequências para a saúde, é necessário combinar os efeitos de uma variedade de fenómenos. Estes incluem o tempo de permanência no edifício; as diferentes fontes de poluentes decorrentes de pessoas, animais e atividades domésticas; as condições intrínsecas, adequadas para o crescimento de ácaros,

---

fungos e insetos; e infiltrações a partir do exterior através de pragas de roedores bem como a eficiência da remoção de poluentes com ventilação e infiltração de ar. Os fungos filamentosos não crescem em superfícies secas uma vez que necessitam de um mínimo de humidade para germinar (OMS, 2009). No entanto quando isso ocorre o fungo desenvolve-se rapidamente produzindo um número elevado de esporos que se disseminam pelo ar, pela água ou nas superfícies. Os fungos estão assim associados a ambientes húmidos e quentes.

O desenvolvimento de fungos filamentosos em qualquer edifício representa um problema de excesso de água que deve ser reparado ou corrigido antes da sua colonização nas superfícies e a disseminação dos esporos pelo ar (ACOEM, 2003). Nos Estados Unidos da América, a presença de fungos em ambientes internos associados a uma humidade elevada foram considerados fatores importantes para a saúde pública (Wu et al., 2007). Um aumento na consciencialização da opinião pública em relação aos efeitos nocivos de fungos em edifícios, tornou o problema transversal à indústria da construção civil e às agências seguradoras (Li e Yang, 2004).

Reações alérgicas, episódios de asma, bronquite, sensibilização atópica e fadiga extrema são alguns dos sintomas associados à exposição aos propágulos fúngicos (Nielsen, 2003). Adicionalmente os potenciais efeitos toxigénicos da inalação de micotoxinas e produtos metabólicos secundários tóxicos devem também ser tidos em consideração. De facto quando ocorre a inalação de esporos fúngicos até aos brônquios e alvéolos pulmonares, os esporos sofrem lise e o organismo é exposto aos metabolitos primários e secundários. Estas alterações patológicas ou funcionais, designam-se por micotoxicoses. Alguns fungos produzem micotoxinas que são consideradas carcinogénicas para o homem. Entre os géneros fúngicos responsáveis pela produção de micotoxinas destacam-se o *Aspergillus* spp. e o *Fusarium* spp. As aflotoxinas são produzidas pelo fungo *Aspergillus flavus*; *Aspergillus parasiticus* e *Aspergillus nomius*. As Fumonisinias são micotoxinas produzidas pelo fungo *Fusarium verticillioides* e *Fusarium subglutinans* (Pereira e dos Santos, 2011). Estudos sugerem que a exposição por inalação de esporos contaminados com micotoxinas provoca a falência hepática (ocratoxina), danos ao

---

nível do sistema nervoso central (micotoxina tremorgénica) e danos no trato respiratório superior (*Stachybotrys chartarum*) (Fisher e Dott, 2003).

Os problemas associados à QAI podem ocorrer numa variedade de ambientes; desde residências (Ara et al., 2004), creches e escolas (Karwowska, 2003; Barbosa et al., 2012), lares de idosos (Gniadek et al., 2005; Rolka et al., 2005), bibliotecas (Gambale et al., 1993; Pantoja et al., 2007) e outros ambientes especiais. Num estudo realizado em 28 bibliotecas no Brasil verificou-se que os fungos mais frequentes isolados pertenciam aos géneros *Cladosporium* spp., *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp., *Rhodotorula* spp., *Phoma* spp., e *Penicillium* spp. (Gambale et al., 1993).

## **1.2. Sistema de Certificação Energética e legislação referente à QAI**

Em Portugal o Decreto-Lei n.º 78/2006, de 4 de Abril – Aprova o Sistema Nacional de Certificação Energética e da QAI nos Edifícios e transpõe parcialmente para a ordem jurídica nacional a Diretiva n.º 2002/91/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de Dezembro, relativa ao desempenho energético dos edifícios, regulamentado pela Portaria n.º 461/2007 (2ª Série) de 5 de Junho e Despacho n.º 10250/2008 (2ª Série) de 8 de Abril. O Decreto-Lei n.º 79/2006, de 4 de Abril – Aprova o Regulamento dos Sistemas Energéticos de Climatização em Edifícios.

A calendarização da aplicação do Sistema de Certificação Energética e da QAI, aos vários tipos de edifícios foi definida pela Portaria n.º 461/2007, de 5 de Junho. Os edifícios novos estão sujeitos a auditorias da QAI na fase de projeto, para obter licença ou autorização de construção. Nesta fase é emitida uma Declaração de Conformidade Regulamentar. Posteriormente, após a construção do edifício, é realizada uma auditoria QAI, para obter licença ou autorização de utilização, sendo emitido um certificado QAI, de 2 em 2 anos, no caso de edifícios ou locais que funcionem como estabelecimentos de ensino ou de qualquer tipo de formação, desportivos e centros de lazer, creches, infantários ou instituições e estabelecimentos para permanência de crianças, centros de idosos, lares e equiparados, **hospitais**, clínicas e similares.

---

Atualmente a legislação em Portugal Continental referente a fungos, está descrita no Decreto-Lei 79/2006 de 4 de Abril, transpondo para o ordenamento jurídico nacional a Diretiva n.º 2002/91/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de Dezembro. Na legislação da Região Autónoma dos Açores é também referido no Decreto Legislativo Regional n.º 16/2009/A de 13 de Outubro, transpondo para o ordenamento jurídico regional a Diretiva n.º 2002/91/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 16 de Dezembro, em que é aprovado o Regulamento dos Sistemas Energéticos de Climatização em Edifícios. Os dois Decretos colocam, como requisito de qualidade do ar interior, a concentração máxima de referência para Microrganismos/fungos, de 500 unidades formadoras de colónias (UFC) por metro cúbico.

### **1.3. Avaliação da QAI**

A Avaliação da QAI dos edifícios é um processo que inclui diferentes tipos de procedimentos. Um levantamento de construção qualificada, procedimentos de amostragem corretos, uma boa avaliação e análise das informações que são obtidas a partir de processos de amostragem, são passos cruciais para a obtenção de um resultado satisfatório. É importante que o investigador seja capaz de interpretar os resultados das medições e posteriormente correlacioná-los com observações *in situ*, de forma a criar hipóteses sobre as possíveis causas dos problemas a serem resolvidos na QAI e / ou as medidas a tomar (Asadi et al., 2013).

Um estudo realizado num período de 18 meses para monitorização da carga fúngica numa unidade de hematologia, de um hospital durante os trabalhos de construção, enfatiza os benefícios da vigilância ambiental de contaminação do ar para prevenir surtos de infeção nosocomial provocada por fungos, relacionados com os trabalhos de construção. A utilização de dispositivos móveis de filtração do ar poderá ser uma medida importante na redução da carga fúngica durante obras de renovação (Sautour et al., 2007).

---

## 2. Os fungos como agentes infecciosos

### 2.1. O género *Aspergillus* e as aspergiloses

O padrão de infeções fúngicas tem vindo a alterar-se nas últimas décadas, verificando-se um aumento substancial das micoses oportunistas, cujo agente etiológico pode ser qualquer fungo saprófita ou comensal. Fungos filamentosos ubíquos, pertencentes ao género *Aspergillus*, podem produzir infeções fúngicas oportunistas invasivas graves em pacientes imunocomprometidos (Richardson, 1991). A este tipo de infeções dá-se o nome de aspergilose invasiva (AI). Os doentes com leucemia, com aplasia medular, os transplantados, os recetores de órgãos sólidos e os indivíduos com tratamentos prolongados de quimioterapia ou à base de corticosteróides são considerados grupos de risco para a ocorrência desta infeção (Saballs-Radresa et al., 2000; Ascioğlu et al., 2002). Assim os esporos inalados podem desenvolver hifas nos pulmões – as aspergiloses pulmonares invasivas (API). A inalação dos esporos no ambiente hospitalar e a consequente germinação do fungo no organismo do hospedeiro leva a que doentes suscetíveis possam contrair facilmente API (Einsele et al., 1998). O fungo pode posteriormente invadir outros tecidos ou órgãos (Raja e Singh, 2006).

Num estudo realizado entre Janeiro de 2010 e Julho de 2011, em 104 doentes com suspeita de API, a prevalência da AI, foi de 19,2%, sendo que 12,5% eram doentes oncológicos e 6,7% eram doentes hematológicos. Em 8 dos 20 casos positivos foi possível comprovar a presença de fungos do género *Aspergillus* pela pesquisa de ADN (Rocha, 2012). Um estudo numa unidade de hematologia, revelou a variedade da estrutura genética de *Aspergillus flavus*, sugerindo que a AI pode surgir pela colonização e infeção de múltiplos genótipos ou a partir de um único genótipo (Hadrich et al., 2010). Num estudo de revisão de cinquenta e três estudos, em 356 pacientes foram isoladas espécies identificadas, como *Aspergillus fumigatus* (154 pacientes) e *Aspergillus flavus* (101 pacientes). Os pacientes hematológicos foram predominantes (299 indivíduos). A taxa de mortalidade foi maior nos pacientes imunocomprometidos. As obras de construção ou demolição foram

---

consideradas, em 49,1%, como foco provável dos surtos. Uma concentração de *Aspergillus* spp. de apenas 1 UFC/m<sup>3</sup> foi suficiente para causar infecção em pacientes imunocomprometidos (Vonberg e Gastmeier, 2006). Existem ainda alguns estudos que identificaram a AI como uma doença fatal em recém-nascidos prematuros (Meessen et al., 1998).

## 2.2. O género *Candida* e as candidemias

Em relação às leveduras do género *Candida* spp., a *Candida albicans* é um microrganismo comensal e encontra-se no organismo de mais de metade da população sem que isso signifique uma infecção ativa. O crescimento anormal desta levedura está associado ao desequilíbrio da flora microbiana provocado pela administração de antibióticos (ACOEM, 2003). Já o mesmo não se pode dizer de outras espécies de *Candida*, nomeadamente a *C. parapsilosis* que tem vindo a ser referida ao longo das últimas décadas, como um fungo patogénico emergente. Esta espécie tem sido frequentemente encontrada no ambiente hospitalar e está associada a surtos de candidemias nos pacientes imunocomprometidos (Trofa et al., 2008). Na revisão efetuada por Xisto S. Passos em 2007, observou-se uma elevada percentagem (44,4%) de candidemias em pacientes de uma Unidade, de Terapia Intensiva (UTI). As espécies de *Candida* não-*albicans* estavam também presentes numa percentagem elevada no sangue e urina também. A possível fonte de transmissão ambiental de candidíase encontrada em três casos, justifica a importância de maiores cuidados na UTI para evitar a transmissão da infecção. Num estudo de suscetibilidade a antifúngicos de *Candida* spp., num hospital universitário, foram obtidos 91 isolados, sendo 38 de *C. albicans*, 23 de *C. tropicalis*, 16 de *C. glabrata*, 10 de *C. parapsilosis* e quatro de *C. krusei*. Aproximadamente 50% das infeções fúngicas em pacientes internados em UTIs foram provocadas por *C. não albicans*, sendo as espécies mais comuns *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei* e *C. parapsilosis*. Infeções fúngicas causadas por *C. não albicans* são de interesse especial pela sua virulência e patogenicidade, e resistência às drogas antifúngicas atualmente disponíveis (Demitto et al., 2012). Nos EUA, a incidência anual estimada de infeções invasivas por *Candida* spp. e *Aspergillus* spp., é de 72 para 228 e de 12 para 34 infeções por milhão de habitantes, respetivamente. Tem-se verificado um aumento da incidência de *C. glabrata* nos EUA (entre 12 e 37%), 15% na Europa,

---

10% na Ásia, e 5% na América Latina. A espécie *C. parapsilosis* é a segunda levedura mais isolada das hemoculturas na Europa e tende a formar biofilmes na superfície. A *C. parapsilosis* também tem sido reportada por colonizar as mãos dos profissionais de saúde, enfatizando a importância da higiene das mãos (Richardson e Lass-Flörl, 2008). Foi descrito o primeiro caso de espondilodiscite causado por um subtipo raro de *Candida*, designado *Candida sake*, que é muitas vezes considerado como uma espécie não patogénica (Palmisano, et al., 2011). A partir do estudo realizado entre o *Institut Pasteur* em França, e a *CBS-KNAW* (Centraalbureau voor Schimmelcultures) na Holanda concluiu-se que *Candida famata*, não é um fungo patogénico comum no ser humano como se pensava anteriormente (Desnos-Oliver et al., 2008).

### **2.3. Os dermatófitos e as dermatofitoses**

Existe um número reduzido de espécies de fungos capazes de produzirem infeções em pessoas saudáveis, como é o caso do grupo dos fungos dermatófitos, que são agentes etiológicos de infeções superficiais de tecidos queratinizados. Nas últimas duas décadas, a incidência de infeções provocadas por este grupo de fungos aumentou consideravelmente (Jessup et al., 2000). Os dermatófitos são ubíquos e afetam atualmente cerca de 25% da população mundial. Estima-se que 30 a 70% dos adultos sejam portadores assintomáticos. A incidência da doença tende a aumentar com a idade.

A epidemiologia das dermatofitoses pode ser afetada por fatores climáticos, práticas sociais, migração de populações e características individuais (Perea et al., 2010). A invasão do estrato córneo da epiderme e dos tecidos queratinizados designa-se por dermatofitose (Kanbe, 2008) e pode ocorrer em humanos e outros animais (Weitzman e Summerbell, 1995). Essas zonas constituem o nicho ecológico deste tipo de fungos onde se desenvolvem, “escondendo-se”, do sistema imunológico do hospedeiro (Kanbe, 2008). Devido ao interesse clínico dos dermatófitos, estes têm sido intensamente estudados (Torres-Rodriguez et al., 2000). O conhecimento exato da ecologia e epidemiologia dos dermatófitos e os principais aspetos clínicos da doença são essenciais para a identificação da infeção,

---

assim como uma melhor compreensão dos seus padrões de transmissão (Valdigen et al., 2006).

Os dermatófitos são frequentemente divididos em três grandes grupos, com base no seu habitat natural e preferência em relação ao hospedeiro. As espécies geofílicas encontram-se geralmente no solo, não associados a animais vivos, e estão envolvidas no processo de decomposição. Ocasionalmente podem ser patogênicos para o Homem; as espécies zoofílicas têm preferência pelo hospedeiro animal, apesar de também poderem infetar os humanos. São responsáveis por cerca de 30% das dermatofitoses humanas e geralmente provocam uma inflamação aguda e severa; finalmente, as espécies antropofílicas são exclusivamente patogênicas do Homem. Representam cerca de 70% das infeções humanas, causando uma infeção crónica e de progressão lenta (Aly, 1994).

Vários fatores, tais como a estrutura física e química da pele, a exposição permanente à luz ultravioleta (UV), a temperatura, a humidade e a presença da flora micobiota normal podem fornecer o ambiente propício para o crescimento de microrganismos patogênicos (Perea et al., 2010). Apesar da elevada incidência de micoses provocadas por dermatófitos em todo o mundo, estes fungos raramente causam infeções profundas ou sistêmicas, aparecendo relatos esporádicos de casos, apenas em pacientes imunocomprometidos (Nir-Paz et al., 2003).

Os agentes etiológicos das dermatofitoses são classificados em três géneros anamórficos (cuja reprodução sexuada é desconhecida até à data) - *Epidermophyton*, *Microsporium* e *Trichophyton*. Entre os dermatófitos, a espécie *Trichophyton rubrum* é de interesse clínico especial para o homem, porque é o agente mais comum nas dermatomicoses humanas (Degreef, 2008).

#### **2.4. Outros fungos filamentosos**

Nas espécies de *Fusarium* spp., as ações da fusariose invasiva, com características da aspergilose invasiva e outras infeções fúngicas invasivas, ocorrem em pacientes que estão a receber elevadas doses de corticosteroides e com neutropenia prolongada e profunda. As espécies de *Fusarium* spp. podem causar infeções superficiais, bem como infeções disseminadas. A forma clínica de

---

fusariose depende muito do estado imunológico do hospedeiro e do local da infecção. Ao contrário da infecção no hospedeiro normal, a fusariose na população de imunocomprometidos é tipicamente invasiva. O prognóstico da fusariose neste hospedeiro está diretamente relacionada com o estado imunitário do paciente. A taxa de mortalidade é particularmente elevada em pacientes com imunodeficiência permanente (Nussi e Anaissie, 2007).

As espécies de *Phoma* spp. são descritas como fitopatogénicos (Horta Lopes, DJ, 2008; Pimentel et al., 2009) e são geralmente considerados como contaminantes ambientais. No entanto infecções humanas causadas por *Phoma* spp. têm sido reportadas esporadicamente na literatura. Os casos-de-estudo reportam a infecção em pacientes imunocomprometidos (Vasoo et al., 2011; Roehm et al., 2012).

Apesar de ubíquo no meio ambiente o género *Penicillium* spp. não se encontra associado a infecções fúngicas. No entanto, o fungo pertencente à espécie *Penicillium marneffe* é um fungo patogénico emergente que pode colocar em risco de vida os pacientes imunodeprimidos, provocando micoses sistémicas, especialmente em pacientes com SIDA. A prevalência desta doença na Ásia fez aumentar rapidamente os casos de peniciliose marneffe. Na China a literatura reporta 668 casos entre Janeiro de 1984 e Dezembro de 2009, *Penicillium marneffe* é um fungo patogénico emergente que se tornou um caso de saúde pública na China (Hu et al., 2012).

## **2.5. Outros fungos leveduriformes**

As leveduras do género *Rhodotorula* spp. têm sido cada vez mais reconhecidas como importantes agentes patogénicos humanos. Embora as estirpes de *Rhodotorula* spp. pareçam, ser menos virulentas do que os agentes patogénicos mais comuns como o género *Candida* spp., a infecção por *Rhodotorula* spp. tem sido associada a uma taxa de mortalidade superior a 15%.

A *Malassezia* spp. é um género de fungos monofiléticos encontrados na pele de 7.000 milhões seres humanos e está associada a uma variedade de condições, incluindo caspa, eczema atópico, dermatite, pitiríase versicolor, dermatite seborreica, foliculite, e caspa. *Malassezia* spp. é um fungo comensal da pele,

---

fazendo parte da flora epidérmica. O sistema imunitário do hospedeiro está regularmente a ser exposto a este microrganismo e a *Malassezia* spp. poderá ser isolada em indivíduos saudáveis. No entanto nos indivíduos imunodeprimidos este fungo também pode causar infeções sistémicas (Saunders et al., 2012). Têm sido reportadas infeções sistémicas em recém-nascidos (Xu et al., 2007).

Outros fungos leveduriformes como *Blastomyces*, *Coccidioides*, *Cryptococcus*, e *Histoplasma* são saprófitas na natureza, mas que, no entanto, são patogénicos quando entram em contacto com os tecidos do hospedeiro, provocando micoses profundas ou até sistémicas (Grigoriu et al., 1987).

### **3. Os fungos no meio hospitalar**

Os indivíduos que padecem de doenças hematológicas e oncológicas são particularmente suscetíveis às infeções provocadas por fungos oportunistas (Ascioglu et al., 2002). Nestes, o risco de infeção é mais elevado que nos pacientes imunocompetentes e as infeções nosocomiais, por fungos filamentosos do género *Aspergillus*, estão associadas a elevadas taxas de mortalidade e morbidade (Hajjeh e Warnock, 2001; Groll et al., 2002; Kontoyiannis e Bodey, 2002; Vonberg e Gastmeier, 2006). A exposição frequente e prolongada a variadas condições ambientais, nestes pacientes imunocomprometidos, resultam geralmente no aumento de novas infeções provocadas por um número crescente de fungos oportunistas (Perfect et al., 1996).

Segundo a classificação de Walsh e Pizzo (1988) as infeções nosocomiais fúngicas (INF) podem ser de tipo I – adquirida a partir do ambiente hospitalar ou de tipo II o paciente desenvolve a infeção durante a permanência no hospital mas esta foi previamente adquirida, estando o fungo a colonizar ou em estado latente no hospedeiro. Autores referem que o ambiente hospitalar é determinante na epidemiologia das INF (Faure et al., 2002; Kordbacheh et al., 2005),

Em Portugal, um total de 250 isolados de *Aspergillus fumigatus*, que foram isolados no Departamento de Microbiologia da Faculdade de Medicina do Porto, foram originalmente obtidas a partir de amostragem ambiental do ar e da água em 19 alas no Hospital de S. João, Porto. Neste estudo, refere-se que a avaliação da

---

diversidade genética intraespecífica representa uma abordagem muito útil para detetar especificamente clones de *A. fumigatus* em diferentes áreas do hospital. Considerando a elevada capacidade de dispersão de *A. fumigatus* em ambientes interiores, deve dar-se maior atenção às medidas preventivas, em alas restritas, que são usados principalmente para a admissão de pacientes hematológicos e transplantados (Araujo et al., 2010).

Uma extensa pesquisa da literatura médica da América Latina parece mostrar que a incidência de infeções fúngicas invasivas (IFI), aumentou para as espécies endémicas e oportunistas. Nesta parte do mundo a tuberculose tem um papel importante como coinfeção em pessoas com SIDA. As infeções oportunistas causadas por leveduras têm sido extensivamente estudados na América Latina, onde a incidência de infeções na corrente sanguínea por *Candida* spp., é mais elevada que na Europa e nos Estados Unidos. Além disso, a distribuição de espécies de *Candida* spp. na América Latina é diferente, provavelmente devido a grandes variações na qualidade dos cuidados de saúde para os pacientes de alto risco (Sifuentes et al., 2012). Adicionalmente, os custos de hospitalização e de tratamento deste tipo de infeções são geralmente muito elevados (Vogeser et al., 1999; Dasbach et al., 2000). Num total de 1280 episódios, considerou-se infeção no local cirúrgico em 37 casos dos quais 25 foram classificados como superficiais. Todos os casos foram identificados durante o período de internamento dos doentes. Verificou-se que o custo médio de cada infeção do local cirúrgico foi de 3323€ (Aires, 2011).

Alguns autores, propuseram que a via mais provável de entrada de fungos filamentosos no meio hospitalar fosse a circulação do ar externo contaminado pelos sistemas de ventilação (Morrison et al., 1993; Walsh et al., 1996). Num estudo, em que foram utilizados como pontos de colheita os sistemas de ar condicionado em pontos críticos dos hospitais públicos e privados, verificou-se um elevado nível de contaminação por microrganismos, como o *Penicillium* spp., *Candida* spp., e *Aspergillus* spp., entre outros (Santana e Fortuna, 2012). Noutro estudo, no Brasil durante um ano de investigação em três hospitais os fungos com maior prevalência no ar relacionando com a temperatura e humidade, foram, *Penicillium* spp., *Cladosporium* spp. e *Aspergillus* spp.. Os autores concluíram que o aumento da

---

concentração fúngica está associada com o aumento de temperatura e humidade (Boff, 2011).

Uma das principais medidas de prevenção contra as infeções hospitalares provocadas por fungos filamentosos passa pela instalação de sistemas de filtração do ar de elevada eficiência (filtros HEPA). No entanto, apesar destas medidas de prevenção, o número de infeções hospitalares, por fungos filamentosos, continuou a aumentar, sugerindo que existem outros reservatórios para além do ar na disseminação de esporos e fragmentos de hifas (Groll et al., 1996). Anassie et al. (2001a, 2001b, 2002a, 2002b, 2004), após realizarem vários estudos, em ambiente hospitalar, concluíram que a água que circula nos sistemas de distribuição dos hospitais é um potencial reservatório para fungos dos géneros *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp. e outros fungos oportunistas, podendo levar à ocorrência de focos de disseminação de esporos, causando um maior risco de exposição e consequente infeção nos pacientes. Noutro estudo, também em ambiente hospitalar, os mesmos autores verificaram uma concentração de fungos ambientais elevada, nas áreas de banho mais frequentadas do que nos quartos dos pacientes. Foi sugerido que a formação dos bioaerossóis tenha ocorrido de uma forma direta, através da água que passa pelo chuveiro, ou através de bioaerossóis que se depositaram nas superfícies (chuveiro, torneiras, paredes, chão). Estas superfícies, mantendo-se constantemente húmidas, funcionam como um micro-nicho, favorecendo o desenvolvimento de fungos (Anassie et al., 2002b). A limpeza nas zonas de banho, traduziu-se numa diminuição acentuada da carga fúngica, sendo sugerido que esta deveria ocorrer idealmente, imediatamente antes, de os pacientes usarem os chuveiros. Outros autores, em estudos anteriores e posteriores, também referem a presença de uma elevada carga fúngica, nomeadamente em unidades pediátricas de transplantes (Warris et al., 2001), e em unidades de hemodialisados (Varo et al., 2007, Arvanitidou, 2000). Num estudo posterior Warris et al. em 2002, demonstraram, a partir de técnicas moleculares de tipagem, que a estirpe de *A. fumigatus* encontrada na água correspondia ao genótipo de uma das estirpes isoladas num dos pacientes. Relativamente ao potencial alergénico de fungos em água, três casos foram relatados na Suécia e na Finlândia. Os sintomas foram associados ao uso de chuveiros e banheiras, e as análises da água levaram a

---

resultados entre 77 e 3100 UFC/100 mL (Hageskal et al., 2009). No entanto a questão da presença de fungos na água da comunidade e em hospitais e a sua associação com a ocorrência de aspergilose nos pacientes parece estar longe de ser resolvida. De facto outros autores (Panagopoulou et al., 2007) referem não terem encontrado fungos em nenhuma das 48 amostras de água realizadas. Estes últimos referem ainda outro estudo (Gangneux, et al., 2002) em que não se obtiveram resultados positivos para fungos filamentosos em água.

A importância clínica dos fungos contaminantes não está ligada apenas a uma contaminação por via aérea, mas também às contaminações de materiais clínicos retirados de locais não estéreis e que não tenham uma antissepsia adequada (Soares, 2009). Num estudo realizado com formigas existentes em hospitais, conclui-se que as mesmas possuem a capacidade de se deslocarem rapidamente percorrendo extensas áreas. Além de constituírem vetores de microrganismos em ambientes intra-hospitalares, podem atuar também como importantes vias de dispersão dos microrganismos (Pereira e Ueno, 2008).

#### **4. Limpeza e higienização de superfícies**

Vários tipos de desinfetantes (álcoois, hipocloritos, fenóis, compostos de amoníaco ou misturas), podem ser utilizados na higienização de superfícies. Num estudo realizado por Gangneux et al. em 2004, os autores verificaram em superfícies a efetividade do álcool nas estruturas vegetativas de *A. fumigatus*. No entanto o etanol a 70% não possui características esporicidas (McDonnell, 2007). O hipoclorito de sódio 3-6% para o uso doméstico ou 10 a 12% para fins industriais, tem sido amplamente utilizado como um desinfetante económico e seguro (EPA, 1991; Racciopi et al., 1994), e o seu potencial na prevenção do crescimento de fungos em sistemas de água (Niemi et al., 1982), frutas (Martinez et al., 2002), culturas (Andrews et al., 1997), e madeira (Taylor et al., 2004) tem sido investigado. Em superfícies, para a desinfeção de instalações de saúde e dispositivos médicos, o hipoclorito continua a ser um importante agente de desinfeção (Rutala e Weber, 1997) que tem sido utilizado como uma medida de higienização, no sentido de minimizar ou eliminar fungos ambientais produtores de micotoxinas. Foi realizado um estudo centrado na inativação de aflatoxinas, moléculas produzidas por uma

---

estirpe de *Aspergillus flavus*, aflatoxigénica e a destruição completa destas foi alcançada, após uma exposição de 4h a uma concentração  $2,1 \times 10^{-3}$  M de hipoclorito de sódio (NaClO) (Yang, 1972). A resistência à inativação do cloro de conídios de *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium* spp. e *Penicillium oxalicum*, foi testada, tendo-se verificado que o *A. niger* apresentou maior resistência (Rosenzweig et al., 1983). A viabilidade de esporos de *Penicillium brevicompactum* foi avaliada usando três concentrações de hipoclorito (1%, 5,7% e 10%) com tempos de exposição diferentes. Apesar de se ter mostrado eficaz para todas as concentrações testadas foi necessário aumentar os tempos de exposição (2, 4 e 30 min) para eliminar 100% dos esporos (Elbing, 2008).

O risco de infeção nosocomial, está associado com a suscetibilidade do hospedeiro, com o comportamento dos profissionais (Kordbacheh et al., 2005) e o nível de limpeza/desinfecção, dos locais com maior risco de disseminação da infeção. O contacto com as superfícies das zonas húmidas dos hospitais (zonas de banho), pode constituir um risco de infeção (Anassie et al. 2001a, 2001b, 2002a, 2002b, 2004), particularmente para os pacientes imunocomprometidos que frequentam esses locais (chuveiros e outras superfícies nas casas de banho). Nestes locais, uma incorreta higienização leva a uma proliferação de microrganismos, nomeadamente fungos, que podem provocar o aumento do estado de morbidade dos pacientes internados ou mesmo a sua mortalidade, principalmente os imunocomprometidos.

A importância na prevenção de infeções pelos profissionais de saúde, é demonstrada pela realização da Campanha Nacional de Higiene das Mãos que se insere na estratégia multimodal proposta pela World Alliance for Patient Safety, da Organização Mundial da Saúde (OMS), no seu 1º. Desafio “Clean Care is Safer Care”, que já foi divulgada com sucesso por muitos países de todo o mundo. Apontou-se, como objetivo geral, atingir uma taxa de adesão de 75% (média nacional), sendo o preconizado pela OMS, para 2013, de 90%. Pretende-se promover a prática da higiene das mãos de forma padronizada e abrangente, contribuindo para a diminuição das infeções associadas aos cuidados de saúde (IACS) e para o controlo das resistências dos microrganismos aos antimicrobianos, tendo como meta o aumento da adesão dos profissionais de saúde à higiene das

---

mãos (Costa et al., 2011). Considera-se que as infecções nosocomiais, são erros evitáveis e conhecer a sua incidência é condição prévia necessária para a sua erradicação (Palomar et al., 2010).

---

## Objetivos

### Contextualização

Não existe uma padronização na limpeza e desinfecção das instalações sanitárias, nomeadamente zonas de banho, que são frequentadas por indivíduos muitas vezes debilitados do ponto de vista do seu sistema imunológico. Estes constituem grupos de risco para as infecções provocadas por todo o tipo de agentes biológicos, nomeadamente os fungos oportunistas, que, nestes indivíduos encontram o hospedeiro certo e as condições ideais para o seu desenvolvimento

Este estudo tem como objectivo geral avaliar a presença de fungos com interesse clínico em ambiente hospitalar. Desenvolveram-se ainda três objectivos específicos:

- Caracterização das zonas de banho de cada serviço onde foram recolhidas as amostras;
- Caracterização da distribuição fúngica em diferentes superfícies (paredes, chão, bancos, extractores de ar...) e água dos chuveiros nas zonas de banho;
- Avaliação da efetividade das limpezas nas mesmas zonas de banho, realizando-se a colheita antes e após os procedimentos de limpeza e desinfecção do local.

---

## Capítulo II

### Material e Métodos

#### 1. O Local de Estudo

O estudo foi efectuado em seis serviços clínicos de internamento do Hospital de Santo Espírito de Angra do Heroísmo E.P.E., cujos serviços foram transferidos a partir de 26 de Março de 2012 com a inauguração de um novo edifício.

O Hospital situa-se na cidade de Angra do Heroísmo, capital da Ilha Terceira, que desde 1983 é classificada como Património Mundial pela UNESCO.

Em relação à área de influência do Hospital, este serve as populações das Ilhas Terceira, Graciosa e S.Jorge (Regulamento Interno do Hospital, 2009). Os serviços clínicos de internamento escolhidos para realizar as amostragens foram: Medicina I (Homens); Medicina II (Mulheres); Medicina III (Infecção-contagiosos); Cirurgia I (Homens); Cirurgia II (Mulheres) e Pediatria.

Sendo o primeiro estudo micológico realizado nos Açores em ambiente hospitalar, foi necessário dividir a metodologia em várias etapas de forma a conhecer a realidade de cada local escolhido.

##### 1. 1. Caracterização de cada serviço

Fez-se um contacto direto com cada serviço, onde se realizou o registo escrito e fotográfico das correspondentes zonas de banho, por observação dos locais, complementado com uma entrevista feita a cada enfermeiro(a) chefe.

Os registos escritos para descrição das zonas de banho referiram-se:

- a) Sistema de ventilação e extração do ar.
  - b1) Existência de janelas;
  - b2) o ângulo máximo de abertura;
  - b3) abertura para o exterior/ interior;
  - b4) a altura em relação ao chão.

---

c1) A área do local; (c2) o tipo de pavimento; (c3) Equipamento usado na zona de banho pelos pacientes.

d) Existência de estrados.

e) Procedimento afixado com a higienização do local.

O quadro 1 resume a informação recolhida acerca das zonas de banho nos diferentes serviços escolhidos para amostragem no estudo.

As questões colocadas na entrevista aos enfermeiros-chefe foram:

1. Quais as especialidades a que cada paciente pode pertencer?
2. Quantas zonas de banho existem no serviço?
3. Existem áreas diferenciadas para pacientes autónomos e semi autónomos?
4. Quem é o responsável pela designação de paciente autónomo e semi-autónomo?
5. A que hora é dado o banho aos pacientes?
6. Que tipo de produtos de higiene o paciente utiliza (os seus produtos ou estes são fornecidos pelo hospital)?
7. Existe higienização do local de banho entre cada paciente?
8. Qual é o horário da higienização do local após os banhos?
9. Quem efectua a higienização na zona de banho?
10. Que produtos são utilizados para a higienização do local da zona de banhos, qual a diluição e com que frequência?
11. Que material é utilizado para a higienização do local de banho?

Quadro 1: Resumo da informação recolhida a partir dos registos escritos e observação das zonas de banho.

Local de amostragem	a) Sistema de ventilação/extração do ar	b1) Existência de janelas	b2) Ângulo Max. de abertura (°)	b3) Abertura para o exterior/interior	b4) Altura em relação ao chão (cm)	c1) Área do local (m <sup>2</sup> )	(c2) Tipo de pavimento	(c3) Equipamento na zona de banho	d) Existência de estrados	e) Procedimento afixado de higienização do local
Medicina I (Homens)	Não	Sim	45	Interior	205	9	tijoleira anti derrapante	- banco e corrimão em inox (semi-independentes) - lava-mãos e sanita	Não	Não
Medicina II (Mulheres)	Não	Sim	45	Interior	205	9	tijoleira anti derrapante	- banco e corrimão em inox (semi-independentes) - lava-mãos e sanita	Não	Não
Medicina III (Infeto-contagiosos)	abertura no teto que funciona como extrator não mecânico	Não (*)	---	---	---	3,5 (0.7 m <sup>2</sup> para autónomos)	tijoleira plana vermelha	- Duche em metal e superfície esmaltada - lava-mãos e sanita	Não	Não
Cirurgia I (Homens)	Não	Sim	45	Interior	205	9	tijoleira anti derrapante	- banco e corrimão em inox (semi-independentes) - lava-mãos e sanita	Não	Não
Cirurgia II (Mulheres)	Não	Sim	45	Interior	205	9	tijoleira anti derrapante	- banco e corrimão em inox (semi-independentes) - lava-mãos e sanita	Não	Não
Pediatria.	Não	Sim	45	Interior	**	Depende da zona	tijoleira plana vermelha	- 1ª zona: 2 banheiras em inox de 80 x35 cm; - 2ª zona: 1 banheira em metal 140 x 60 cm; sanita; lava-mãos e duche inutilizado; - 3ª zona: duche em metal 55 X 50 cm num quarto individual	Não	Não

(\*) Não existem janelas porque neste serviço cada quarto duplo tem uma casa de banho. O aceso é direto do interior do quarto.

(\*\*) 1ª zona (até 1ª infância) as janelas estão a 5m de distância da banheira, na 2ª zona (a partir da 1ª infância) a junto à banheira, na 3ª zona (adolescentes) as janelas estão a 5 metros de distância

---

As respostas referentes a cada serviço encontram-se registadas abaixo.

### **Medicina I (Homens)**

1. Neurologia, Pneumologia, Nefrologia, Oncologia Médica, Medicina Interna, Dermatologia.
2. Ao todo são duas zonas de banho com zona para autónomos e semiautónomos. Os acamados são higienizados na própria cama.
3. Existem áreas diferenciadas para autónomos e semiautónomos, mas, também poderá ser utilizada por acompanhantes dos pacientes, não só para o banho mas quando acompanham o paciente ao WC, que se encontra na mesma área da zona de banho
4. Avaliação feita pelo clínico responsável
5. Entre as 7h e as 13h (na prática a partir das 10h30 normalmente já se efetuaram todos os banhos)
6. Não existe uma obrigatoriedade nos produtos utilizados na higienização dos pacientes assim se o paciente não tiver os seus produtos o serviço disponibiliza, dois tipos de sabão, *softaskin* e *oleoban* (doentes com lesões na pele e pele escamativa).
7. Só no caso de ser um paciente sinalizado, a senhora da limpeza é avisada e assim existe uma higienização entre os doentes ou então o paciente é o primeiro ou o último a utilizar a zona de banho.
8. Logo após os banhos e à tarde só nas zonas de WC.
9. A higienização é efetuada por funcionárias pertencentes à empresa responsável pela limpeza do edifício. De manhã está a mesma funcionária em permanência e efetua a higienização após os banhos. O conhecimento em relação às técnicas de limpeza foi transmitido por colegas e formação da empresa, mas está presente um princípio que a limpeza é sempre efetuada do local menos sujo para o mais sujo.
10. Os produtos utilizados para limpeza, do chão o *jontec 300*, (chuveiro), *sprint* creme de limpeza (nas paredes), *R7* creme de limpeza (portas e janelas) *Sani calc* ou Creme de limpeza. Os produtos são utilizados uma vez por dia e a diluição é efetuada pela empresa que fornece os produtos à funcionária.

- 
11. O material que a funcionária utiliza como apoio, uma esfregona, balde, panos com cores diferenciadas, a cor amarela para as paredes, lava-mãos, portas e a cor rosa só para a sanita.

## **Medicina II (Mulheres)**

1. Neurologia, Pneumologia, Nefrologia, Oncologia Médica, Medicina Interna, Dermatologia
2. Ao todo são duas zonas de banho com zona para autónomos e semiautónomos. Os acamados são higienizados na própria cama.
3. Existem áreas diferenciadas para autónomos e semiautónomos, mas, também poderá ser utilizada por acompanhantes dos pacientes não só para o banho mas quando acompanham o paciente ao WC, que se encontra na mesma área da zona de banho
4. Avaliação feita pelo clínico responsável.
5. Entre as 9h e as 11h30.
6. Não existe uma obrigatoriedade nos produtos utilizados na higienização dos pacientes assim se o paciente não tiver os seus produtos o serviço disponibiliza, *sabão neutro* (doentes com lesões na pele e pele escamativa).
7. Só no caso de ser um paciente sinalizado, a senhora da limpeza é avisada e assim existe uma higienização entre os doentes ou então o paciente é o primeiro ou o último a utilizar a zona de banho.
8. Logo após os banhos e à tarde só nas zonas de WC.
9. A higienização é efetuada por funcionárias pertencentes à empresa responsável pela limpeza do edifício, assim de manhã está a mesma funcionária em permanência e efetua a higienização após os banhos, o conhecimento em relação às técnicas de limpeza foram transmitidas por colegas e formação da empresa, mas está presente um princípio que a limpeza é sempre efetuada do local menos sujo para o mais sujo.
10. Os produtos utilizados para limpeza, para o chão o *jontec 300*, para o chuveiro, *sprint* creme de limpeza, nas paredes *R7* creme de limpeza, portas e janelas *Sani calc* ou Creme de limpeza. Os produtos são utilizados uma vez

---

por dia e a diluição é efetuada pela empresa que fornece os produtos à funcionária.

11. O material que a funcionária utiliza como apoio, uma esfregona, balde, panos com cores diferenciadas, a cor amarela para as paredes, lava mãos, portas e a cor rosa só para a sanita.

### **Medicina III (Infectocontagiosos)**

1. Pneumologia, Medicina
2. Zonas de banho para autónomos nos quatro quartos duplos do serviço. Os não-autónomos são higienizados na própria cama.
3. Quatro quartos duplos independentes com zona de banho independente, normalmente para um ou dois pacientes, mas se houver especificações o paciente é isolado no quarto.
4. Avaliação feita pelo clínico responsável
5. Entre as 9h e as 10h30
6. O paciente só utiliza produtos fornecidos pelo hospital, sabão *Baktolin*.
7. Só no caso de ser um paciente sinalizado, é isolado num quarto.
8. Logo após os banhos e à tarde só nas zonas de WC.
9. A higienização é efetuada por funcionárias pertencentes à empresa responsável pela limpeza do edifício, assim de manhã está a mesma funcionária em permanência e efetua a higienização após os banhos, o conhecimento em relação às técnicas de limpeza foram transmitidas por colegas e formação da empresa, mas está presente um princípio que a limpeza é sempre efetuada do local menos sujo para o mais sujo.
10. Os produtos utilizados para limpeza; para o chão *Jontec 300*, para o chuveiro, *sprint* creme de limpeza, nas paredes *R7* creme de limpeza, portas, janelas *Sani calc* ou Creme de limpeza. Os produtos são utilizados uma vez por dia e a diluição é efetuada pela empresa que fornece os produtos à funcionária.
11. O material que a funcionária utiliza como apoio, uma esfregona, balde, panos com cores diferenciadas, a cor amarela para as paredes, lava mãos, portas e a cor rosa só para a sanita.

---

## Cirurgia I (Homens)

1. Cirurgia Geral, abdominal, vascular e Urologia.
2. Ao todo são duas zonas de banho com zona para autónomos e semiautónomos. Os acamados são higienizados na própria cama.
3. Existem áreas diferenciadas para autónomos e semiautónomos, mas, também poderá ser utilizada por acompanhantes dos pacientes não só para o banho mas quando acompanham o paciente ao WC, que se encontra na mesma área da zona de banho
4. Avaliação feita pelo clínico responsável
5. Entre as 7h e as 11h.
6. Não existe uma obrigatoriedade nos produtos utilizados na higienização dos pacientes assim se o paciente não tiver os seus produtos o serviço disponibiliza, sabão neutro.
7. Só no caso de ser um paciente sinalizado, a senhora da limpeza é avisada e assim existe uma higienização entre os doentes ou então o paciente é o primeiro ou o último a utilizar a zona de banho.
8. Logo após os banhos e à tarde só nas zonas de WC.
9. A higienização é efetuada por funcionárias pertencentes à empresa responsável pela limpeza do edifício, assim de manhã está a mesma funcionária em permanência e efetua a higienização após os banhos, o conhecimento em relação às técnicas de limpeza foram transmitidas por colegas e formação da empresa, mas está presente um princípio que a limpeza é sempre efetuada do local menos sujo para o mais sujo.
10. Os produtos utilizados para limpeza, são fornecidos pelo hospital (*Cif*, detergente de usos gerais e hipoclorito de sódio concentrado (utilizado frequentemente),
11. O material que a funcionária utiliza como apoio, uma esfregona, balde, panos com cores diferenciadas, a cor amarela para as paredes, lava mãos, portas e a cor rosa só para a sanita.

---

## Cirurgia II (Mulheres)

1. Cirurgia Geral, abdominal, vascular e Urologia, Queimados e Pé-Diabético.
2. Ao todo são duas zonas de banho com zona para autónomos e semiautónomos. Os acamados são higienizados na própria cama.
3. Existem áreas diferenciadas para autónomos e semiautónomos, mas, também poderá ser utilizada por acompanhantes dos pacientes não só para o banho mas quando acompanham o paciente ao WC, que se encontra na mesma área da zona de banho
4. Avaliação feita pelo clínico responsável ou pela equipa de enfermagem.
5. Entre as 8h30 e as 11h30.
6. Não existe uma obrigatoriedade nos produtos utilizados na higienização dos pacientes assim se o paciente não tiver os seus produtos o serviço disponibiliza *sabão neutro*.
7. Só no caso de ser um paciente sinalizado, a senhora da limpeza é avisada e assim existe uma higienização entre os doentes ou então o paciente é o primeiro ou o último a utilizar a zona de banho.
8. Logo após os banhos e à tarde só nas zonas de WC.
9. A higienização é efetuada por funcionárias pertencentes à empresa responsável pela limpeza do edifício, assim de manhã está a mesma funcionária em permanência e efetua a higienização após os banhos, o conhecimento em relação às técnicas de limpeza foram transmitidas por colegas e formação da empresa, mas está presente um princípio que a limpeza é sempre efetuada do local menos sujo para o mais sujo.
10. Os produtos utilizados para limpeza, são fornecidos pelo hospital (Cif, detergente de usos gerais e hipoclorito de sódio concentrado (utilizado frequentemente),
11. O material que a funcionária utiliza como apoio, uma esfregona, balde, panos com cores diferenciadas, a cor amarela para as paredes, lava mãos, portas e a cor rosa só para a sanita.

---

## Pediatria

1. Gastro, Pneumologia, Nefrologia, Cirurgia, Neurologia, Oncologia (só em casos especiais de estar uma noite ou estarem só durante o dia para exames).
2. Existem três áreas (1ª infância, a partir da 1ª infância e adolescentes),
3. Não existem áreas diferenciadas referentes à sua autonomia devido à especificidade do serviço.
4. Avaliação feita pelo clínico responsável.
5. Das 8h30 às 10h00.
6. Não existe uma obrigatoriedade nos produtos utilizados na higienização dos pacientes assim se o paciente não tiver os seus produtos o serviço disponibiliza, sabão *Softaskin* pH neutro.
7. Existe higienização do local entre cada paciente. Lavar com sabão e hipoclorito de sódio a 1% ou mais concentrado se houver infeção.
8. Não existe horário fixo.
9. Efetuado por assistentes operacionais (funcionários do Hospital, uma funcionária da empresa responsável pela limpeza do edifício).
10. Hipoclorito a 1%, *sprint 200*, *sani 100* (já diluído pela empresa) e *Cif*.
11. O material utilizado como apoio, uma esfregona, balde, panos com cores diferenciadas, a cor amarela para as paredes, lava mãos, portas e a cor rosa só para a sanita. Uma vez por mês lavam com máquina própria.

## **2. Procedimentos realizados antes de se iniciarem as recolhas de material nos diferentes serviços (pré-testes).**

Devido à transferência da Universidade dos Açores do Edifício na Terra Chã para o Pico da Urze, não foi possível realizar a análise micológica do material recolhido no laboratório de microbiologia de águas da Universidade sita na terra chã. Assim foram cedidas as instalações e todo o equipamento e material necessário à prossecução dos trabalhos pelo Laboratório de Micologia (Laboratório Acreditado) integrado no Laboratório Regional de Veterinária, sito à Vinha Brava em

---

Angra do Heroísmo. Os pré-testes foram essenciais para a implementação de uma metodologia relacionada com a realidade local e com os recursos existentes.

Efetuiu-se uma amostragem no dia 12 de Agosto de 2011 na Medicina I (Homens), somente após higienização dos pacientes e antes da higienização da zona de banho, porque para esta amostragem só poderia haver recolha de seis amostras para processar no laboratório.

Preparação no Laboratório, antes de se efetuar a amostragem:

- Preparação dos meios de cultura;
- Preparação de tubos estéreis com 9 mL de soro para as diluições.
- Semeadores em forma de “L” de vidro estéreis.
- Pipetas de 10 mL e 1 mL estéreis.

## **2. 1. Procedimento de recolha de amostras**

### **2.1.1 Material necessário para as recolhas**

- \* Mala térmica com o material estéril para as recolhas
- \* Luvas de latex
- \* Zaragatoas (swab) estéreis em tubo
- \* Placa de Gelo
- \* Frascos de recolha estéril para água
- \* Molde de metal para as amostras de superfície (10 x 10 cm)
- \* Aparelho de medição da temperatura e da humidade
- \* Folhas de recolha de dados a partir de uma tabela com a primeira coluna, para identificação do local da recolha, a segunda coluna para o número da amostra, a terceira coluna para o número de registo, a quarta coluna para a hora, a quinta coluna para o cloro residual (para as recolhas de água), a sexta coluna para a humidade relativa do local, a sétima coluna para a temperatura no local e a oitava coluna para colocar a hora a que o aparelho começava a registar a humidade e temperatura e a hora que terminava. A

---

folha de recolha de dados tinha um espaço para registar se as janelas estavam abertas ou não e outras observações (ver ANEXO 1).

### **2.1.2 Procedimento de recolha de material**

No local da amostragem e depois da higienização dos pacientes, o procedimento a recolha de material para análise foi o seguinte:

1. No local a efetuar a recolha, colocou-se o aparelho de medição da temperatura e humidade no centro, a uma altura de 100 cm do chão.
2. Registou-se a hora do começo de registos do aparelho.
3. Retirou-se o tubo com a zaragatoa (swab) e registou-se na folha de recolha de dados e no tubo que continha a zaragatoa os dados referentes à primeira amostra.

#### **a) Amostragem no chão**

Com o molde (10cm X 10cm) previamente desinfetado com álcool a 70°, delimitou-se a zona de recolha. Como a tijoleira do pavimento era irregular, esfregou-se diretamente toda a área delimitada com a zaragatoa.

#### **b) Amostragem no assento de inox e paredes**

Procedeu-se de igual modo.

Em todas as colheitas a sequência de amostras foi, chão, seguido do assento e da parede e por fim a colheita de água do chuveiro.

4. A recolha de água. Colocou-se o chuveiro a 100 cm do chão e o frasco a 30 cm da saída da água (devido ao efeito de aspersão), a torneira era aberta na posição deixada pelo serviço. Registou-se o resíduo de cloro.
5. Fotografaram-se os locais de recolha (apenas nos Pré-testes).

### **2.2. Processamento das amostras no Laboratório**

1. Colocaram-se os tubos com as zaragatoas (swab) na bancada e com o bico de buzen aceso, colocou-se com a pipeta de vidro estéril 10 mL de soro fisiológico estéril agitando cada tubo, sucessivamente, até ao último tubo.

- 
2. Para realizar diluições até a  $10^{-3}$  retirou-se 1 mL com a pipeta esteril do tubo contendo a zaragatoa e colocou-se no tubo contendo 9 mL de soro estéril (agitou-se mecanicamente na diluição  $10^{-1}$ , seguindo-se o mesmo procedimento no tubo  $10^{-1}$  para a diluição seguinte até  $10^{-3}$ ).
  3. Fez-se a inoculação em meio de cultura de agar de extrato de malte da OXOID (MEA) suplementado com o antibiótico cloranfenicol (SR0078E-OXOID) numa concentração de 100mg/L de (MEA) para inibir o crescimento de bactérias, e em meio de cultura selectivo para dermatófitos, o dermasel agár (D+S) da OXOID. Este meio de cultura foi suplementado com dois antibióticos cloranfenicol e cicloheximida (SR0075E-OXOID) numa concentração de 50 mg/L e 400 mg/L, respetivamente. Para cada diluição foi retirado 0,2 mL de amostra e colocado em cada uma de 5 placas para cada meio de cultura. As amostras foram incubadas a 25°C durante 5 a 7 dias (MEA) e 15 a 20 dias (D+S).

Na segunda amostragem realizada no dia 29 de Agosto na Medicina II (Mulheres) e Cirurgia II (Mulheres), fizeram-se algumas alterações ao procedimento laboratorial inicial devido à análise dos resultados da primeira amostragem.

- Antes de colocar o soro fisiológico nos tubos, passou-se a zaragatoa por duas placas de dermasel (porque os dermatófitos são patogénicos “per si”) e depois mergulhou-se no tubo com 10 mL de soro. As diluições só se realizaram para o meio de MEA.
- O procedimento de inoculação (ponto 3 de 2.2.2) não sofreu alterações

Na terceira e quarta amostragem, dia 02 de Setembro 2011 na Pediatria e no dia 08 de Setembro 2011 na Cirurgia I (Homens) e Medicina III (Infecçãocontagiosos) respetivamente, houve alteração no procedimento de recolha bem como no processamento das amostras em laboratório devido ao possível “esgotamento” da zaragatoa no meio dermasel e assim haver falsos negativos no meio (MEA), assim:

- No procedimento de recolha utilizaram-se duas zaragatoas em simultâneo para cada local de recolha da amostra em superfície.
- No processamento das amostras em laboratório, um dos tubos continha 10 mL de soro fisiológico para as respectivas diluições (até  $10^{-2}$ ) e do outro tubo

---

foi retirado a zaragatoa e “esgotada” directamente na placa de petri contendo o meio de cultura dermasel.

### **3. Recolha de material e procedimento experimental**

Iniciaram-se as amostragens após o período de pré-testes em Janeiro de 2012, por demora na obtenção do material necessário. Foi necessário montar todo o equipamento bem como elaborar o procedimento experimental de preparação pré-amostragem, o procedimento experimental no dia da amostragem, o procedimento experimental para o processamento e incubação, e o procedimento experimental da identificação.

Realizaram-se três amostras de superfície à exceção da Medicina III (Infecção contagiosa) onde se realizou uma amostra suplementar ao extrator. Todas as amostras foram realizadas em duplicado. Recolheu-se apenas uma amostra de água por serviço, devido à restrição de meio disponível e de zaragatoas. No total realizaram-se seis amostragens, em seis serviços envolvidos, ou seja 76 amostras de superfície, e 12 amostras de água totalizando 6 litros (uma amostra de 500 mL por serviço de manhã e uma de tarde). A calendarização das amostragens efetuadas está descrita abaixo:

- 1ª Dia 25/01/2012, no serviço de Medicina I (Homens) e de Medicina II (Mulheres);
- 2ª Dia 01/02/2012, no serviço de Cirurgia I (Homens) e de Cirurgia II (Mulheres);
- 3ª Dia 08/02/2012, no serviço de Pediatria e de Medicina III (Infecção contagiosa);
- 4ª Dia 15/02/2012, no serviço de Medicina I (Homens) e de Medicina II (Mulheres);
- 5ª Dia 01/03/2012, no serviço de Cirurgia I (Homens) e de Cirurgia II (Mulheres);
- 6ª Dia 09/03/2012, no serviço de Pediatria e de Medicina III (Infecção contagiosa).

#### **3.1. Procedimento de preparação para a amostragem**

1. Prepararam-se os meios de cultura, para os fungos filamentosos e leveduras o meio MEA suplementado com cloranfenicol (100mg/L) e para os Dermatofitos o meio de cultura selectivo D+S suplementado com cloranfenicol e cicloheximida numa concentração de 50 mg/L e 400 mg/L, respetivamente. Preparou-se o soro fisiológico e esterilizou-se em frascos

---

Shott de 250 mL. Um volume de 9mL de soro fisiológico foi colocado em tubos estéreis com rolha.

2. Esterilizaram-se os copos da rampa de filtragem para as amostras de água, bem como as pipetas e os semeadores.
3. Preparou-se todo o material necessário para se efetuar a recolha:
  - Luvas de Látex
  - Zaragatoas estéreis em tubo
  - Mala térmica
  - Placa de Gelo
  - Frascos de recolha de água estéril
  - Aparelho da Temperatura e Humidade (sensor combinado de temperatura e humidade relativa do ar da Skye Instruments Ltd. Modelo: rht+, SKH 2070/1
  - Aparelho para a leitura do resíduo do cloro
  - Pastilhas para dissolver na água para a leitura do resíduo do cloro.
  - Algodão para desinfeção
  - Álcool 70°

### **3.2. Procedimento experimental no dia da amostragem**

Na preparação da mala térmica, colocou-se nela uma placa de gelo que já continha os tubos com as zaragatoas estéreis e os frascos de plástico estéreis para a recolha de água, ligou-se o aparelho para a leitura da temperatura e humidade, o aparelho e as pastilhas para a leitura do resíduo do cloro na água, algodão e álcool a 70° (ver Figuras 1a, 1b, e 2). No local da amostragem e após a higienização dos pacientes, seguiu-se o procedimento da recolha de amostras para análise (ponto 3.2.1).

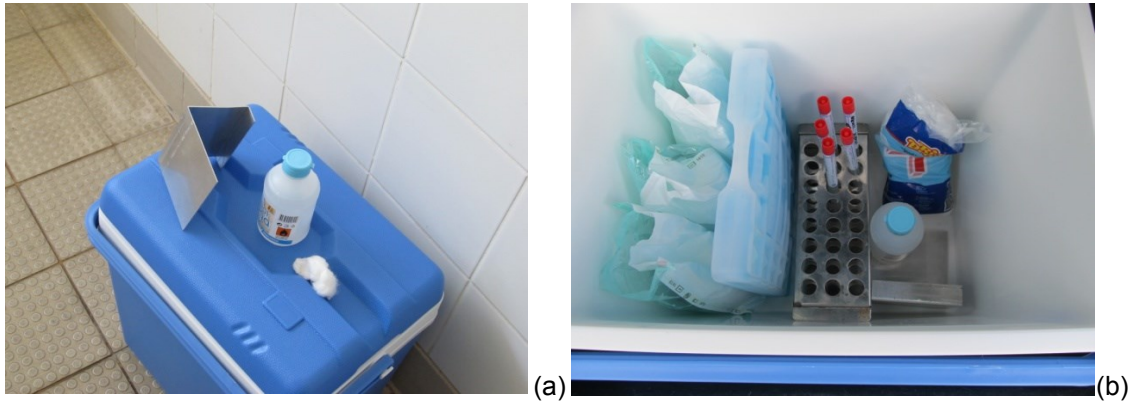


Figura 1. Mala térmica (1a e 1b) com os frascos estéreis, zaragatoas estéreis em tubo, placa de gelo, algodão, o álcool a 70º e o molde de metal de 100 cm<sup>2</sup>.



Figura 2. Aparelho, sensor combinado de temperatura e humidade relativa do ar da Skye Instruments Ltd. (rht+, SKH 2070/1). O equipamento de aquisição de dados, um datalogger DataHog 2 da Skye Instruments., programado para fazer leituras de 5 minutos em 5 minutos.

### 3.2.1. Procedimento experimental de recolha de amostras

1. No centro do local a amostrar fez-se a medição da temperatura e da humidade no centro a uma altura de 100 cm do chão.
2. Registou-se a hora do início de registos do aparelho.
3. Retiraram-se os dois tubos com as zaragatoas (swab) e registou-se na folha de registo e nos tubos os dados referentes à primeira amostra (primeiro o chão para que não houvesse contaminação pela recolha das outras amostras). De seguida com a ajuda do molde de metal desinfetado (10 cm X

- 
- 10 cm) com álcool a 70°, delimitou-se a zona de recolha, usando-se diretamente a zaragatoa, devido à forma irregular da tijoleira (Figura 3).
4. A segunda amostra foi recolhida no assento de inox (Figura 4); a terceira na parede (Figura 5), à exceção da Medicina III onde se efetuou uma quarta recolha no extrator mecânico usando o mesmo procedimento descrito no ponto 3 (Figura 6).
  5. Por fim recolheu-se a amostra de água, colocando-se o chuveiro a 100 cm do chão e o frasco a 30 cm da saída da água. Retiraram-se 500 mL para cada frasco estéril. A torneira foi aberta na posição deixada pelo serviço, e registou-se o resíduo de cloro (Figura 7).
  6. Transportaram-se imediatamente as amostras para o Laboratório.
  7. Repetiram-se os procedimentos de recolha à tarde, após a higienização da zona de banho.



Figura 3. Chão com o molde de metal de 100 cm<sup>2</sup>.

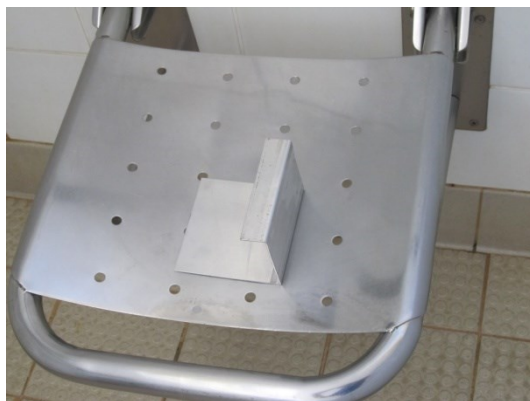


Figura 4. Assento de inox, com o molde de metal de 100 cm<sup>2</sup>.



Figura 5. Parede, com o molde de metal 100 cm<sup>2</sup>



Figura 6. Extrator na Medicina III.



Figura 7. Aparelho da Palintest (leitura do resíduo do cloro).

### **3.3.2. Procedimento experimental para o processamento e Incubação das amostras em laboratório**

Na receção das amostras, colocaram-se estas na câmara de fluxo laminar, para o respetivo processamento. Utilizou-se álcool a 70° na desinfeção da bancada.

1. Esgotou-se uma das zaragatoas com amostra na placa com meio Dermasel.

- 
2. Colocou-se 10ml de soro fisiológico no tubo que contem a outra zaragatoa com amostra, agitando mecanicamente. Retirou-se 1 mL de amostra para um tubo com 9 mL de soro fisiológico resultando uma diluição  $10^{-1}$ . Usaram-se 5 placas de meio MEA para o tubo sem diluição e 5 placas de meio MEA para o tubo  $10^{-1}$ .
  3. Distribuíram-se 0,2 mL de amostra em 5 placas com MEA por cada diluição. Com um semeador de vidro, distribui-se o inóculo uniformemente pela superfície do meio.  
Nota: Iniciou-se sempre com a diluição mais elevada. Com este procedimento iniciou-se com a diluição  $10^{-2}$ ,
  4. Colocaram-se as placas na estufa de incubação a  $25^{\circ}\text{C}$ .

À tarde repetiram-se as amostragens após a higienização das zonas de banho e nos mesmos locais da manhã. Repetiu-se o procedimento de amostragem e recolha à exceção do facto de não se fazer diluição do inóculo (amostra). Isto permitiu reduzir o número de placas para incubação. Para além disso partiu-se do pressuposto que as zonas higienizadas deveriam ter uma carga fúngica muito menor, não sendo por isso necessário realizar diluições. Este pressuposto foi devido aos resultados dos pré-teste em que a diluição  $10^{-1}$ , antes da higienização do local.

### **3.3.3. Procedimento experimental de contagem e identificação dos fungos**

As placas incubadas no meio de MEA foram analisadas, após 5 a 7 dias. As placas onde se obteve crescimento fúngico foram envolvidas em parafilme e colocaram-se numa caixa desinfetada com álcool a  $70^{\circ}$ . As placas foram de seguida levadas para o Laboratório de Micologia (Laboratório de Veterinária), para se efetuar a contagem de leveduras e fungos filamentosos.

Depois da leitura procedeu-se à identificação de leveduras e fungos:

Para as leveduras

- Repicaram-se as leveduras para uma placa de sabouraud (SAB) e para uma placa de SAB suplementada com cloranfenicol (50 mg/L);
- Colocou-se novamente a incubar a  $30^{\circ}\text{C}$ ;

- 
- Confirmou-se a identificação das leveduras com o teste de identificação Api ID 32 C (Biomérieux).

Para os fungos filamentosos

- Repicaram-se os fungos só para meio SAB (repicar com fio).
- Colocou-se novamente a incubar a 25°C.
- A confirmação da identificação realizou-se a partir da observação das características macroscópicas da cultura e microscópicas das estruturas fúngicas em preparações em lâmina com lactofucsina num microscópio, com ajuda dos guias de identificação laboratorial de fungos.

As placas incubadas em meio D+S, foram observadas após 15 a 20 dias. Daquelas onde se verificou crescimento fúngico envolveram-se em parafilme e colocaram-se numa caixa desinfetada com álcool a 70°. As placas foram levadas para o Laboratório de Micologia (Laboratório de Veterinária), para se efetuar a contagem das unidades formadoras de colónias (UFC) e identificação dos dermatófitos.

#### **4. Controlo Ambiental**

Este procedimento estabelece a metodologia de execução para o controlo ambiental do local de processamento de amostras na Universidade dos Açores.

Para verificar a contaminação ambiental da sala de processamento das amostras e respetiva incubação, foram utilizados meios de cultura não-seletivos.

##### Material

- Placas de Petri esterilizadas de 90mm de diâmetro
- Estufa Regulável a 25 °C +/-1 °C
- Estufa Regulável a 30 °C +/-1 °C

##### Meios de Cultura

- *Plate Count Agar (PCA)*
- Agar de extracto de malte (MEA)

---

## **4.1 Procedimento do teste no dia anterior ao do processamento das amostras**

### **4.1.1. Locais da colocação das placas de teste.**

(A) - Câmara de Fluxo Laminar (à esquerda, ao centro e direita)

(A1) - Exterior da Câmara de Fluxo Laminar

(B) - Estufas (ao centro)

(C) - Frigorífico (ao centro)

### **4.1.2. Teste da Presença de Bactérias**

Locais de colocação das placas (A1); (B); (C)

1. Colocaram-se as placas de Petri com o meio PCA abertas durante 15 minutos em (A1), (B) e (C) e durante 30 minutos em (A).
2. Após o tempo decorrido fecharam-se as placas e colocaram-se na estufa a 30 °C+/- 1 °C durante 72 horas.

### **4.1.3. Teste da Presença de Fungos**

Locais: (A1); (B); (C)

1. Colocaram-se as placas de Petri com o meio de cultura MEA abertas durante 15 minutos nos locais (A1), (B), e (C) e 30 minutos no local (A).
2. Após o tempo decorrido fecharam-se as placas e colocaram-se na estufa a 25 °C+/- 1 °C durante 5 dias.

Local: (A)

1. Colocar placas de Petri com o meio de cultura MEA abertas durante 30 minutos.
2. Após os 30 minutos, fechar as placas e colocar na estufa a 25 °C+/- 1 °C durante 5 dias.

---

## **4.2. Procedimento do teste no dia do processamento das Amostras (manhã e tarde)**

### **4.2.1. Teste da Presença de Bactérias**

Locais (A) (ao centro); (A1)

1. Colocaram-se as placas de Petri com o meio de cultura PCA abertas durante o processamento das amostras.
2. Após o processamento, fecharam-se as placas e colocaram-se na estufa a 30 °C +/- 1 °C durante 72 horas.

### **4.2.2. Teste da Presença de Fungos**

Locais (A) (ao centro); (A1)

1. Colocaram-se as placas de Petri com o meio de cultura MEA abertas durante o processamento das amostras.
2. Após o processamento, fecharam-se as placas e colocaram-se na estufa a 25 °C +/- 1° C durante 5 dias.

### **4.2.3. Critérios de Aceitação: Unidades Formadoras de Colónias (UFC):**

(Instalações da Universidade dos Açores, como referência a norma ISO 7218)

Presença de Bactérias

Locais:

- (A1); (B); (C) \_\_\_\_ <15 UFC (limite máximo)
- (A) \_\_\_\_\_ 0 UFC (limite máximo)

Presença de Fungos

Locais:

- (A1); (B); (C) \_\_\_\_ <10UFC (limite máximo)
- (A) \_\_\_\_\_ 0 UFC (limite máximo)

---

NOTA 1: Deve ocorrer uma ação corretiva se os limites máximos de UFC são ultrapassados. Isto indica uma contaminação no laboratório. Assim deverá ser feita uma desinfecção ao local e um novo controlo de contaminação do ambiente. Este processo deve ser repetido até que a situação esteja resolvida.

NOTA 2: No local (A), no caso de ultrapassar o limite máximo de UFC permitidos, deve limpar-se a Câmara de Fluxo Laminar com álcool a 70° e realizar uma desinfecção utilizando a luz UV. Caso o problema não fique resolvido será chamado um técnico para efetuar a manutenção do equipamento. Assim o local (A), só será utilizado após resolução do problema.

### **4.3 Análise estatística**

A análise estatística foi efetuada através do software, IBM SPSS Statistics 20, usando um nível de significância de 0,05. Utilizou-se o teste não-paramétrico de Wilcoxon para amostras emparelhadas para comparar os resultados obtidos nas amostragens da manhã vs tarde, para os diferentes serviços (Anexo 3).

## Capítulo III

### Resultados

#### 1. Pré-Testes

Realizaram-se pré-testes que foram essenciais para a implementação de uma metodologia relacionada com a realidade local e com os recursos existentes. Nos pré-testes foram realizadas um total de 34 amostras das zonas de banho dos serviços (Medicina I; Cirurgia II; Medicina II; Pediatria; Medicina III e Cirurgia I), as amostras foram recolhidas somente após a higienização dos pacientes ou seja não foram efetuadas as recolhas após a higienização da zona de banho. No dia 12 de Agosto de 2011 realizou-se a amostragem na Medicina I (Homens) e os resultados dessa amostragem estão registados no quadro 2.

Foi encontrada uma carga fúngica total de 2520 UFC/mL, dos quais 70,2% eram leveduras e 29,8% eram fungos filamentosos. Foram isolados 5 géneros/espécies, 3 fungos filamentosos (*Phoma* spp., *Penicillium* spp., e

Quadro 2: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina I (Homens) na fase de pré- teste.

AMOSTRAGEM DIA 12/08/2011	Incubação 25°C 5 dias (MEA)		Incubação 25°C 15 dias (D+S)	
	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
1 - Assento de Inox	--	1570 UFC/mL <i>Candida dubliniensis</i>	--	--
2 - Chão junto ao assento de inox	--	190 UFC/mL <i>Candida dubliniensis</i>	--	--
3 - Parede	680 UFC/mL <i>Phoma</i> spp.	10 UFC/mL <i>Rhodotorula minuta</i>	--	--
4 - Base do chuveiro	60 UFC/mL <i>Penicillium</i> spp.	--	--	--
5 - Parede do chuveiro	10 UFC/mL <i>Cladosporium</i> spp.	--	--	--
6 - Água do chuveiro Resíduo do cloro (0,4 mg/L)	--	--	--	--

*Cladosporium* spp.) e 2 leveduras (*Candida dubliniensis*, *Rhodotorula minuta*). O assento em inox foi o local onde se registou a maior carga fúngica. As amostras realizadas no assento de inox e no chão (amostras 1 e 2) revelaram uma elevada carga microbiana de leveduras da espécie *Candida dubliniensis* (1760 UFC/mL). A parede junto ao assento de inox (amostras 3) apresentava uma carga microbiana de 680 UFC/mL de fungos do género *Phoma* spp. e a base de chuveiro 60 UFC/ml de fungos do género *Penicillium* spp. na parede (amostra 5) apenas se verificou o crescimento de *Cladosporium* sp numa carga microbiana de 10 UFC/mL, não houve crescimento de fungos na amostra de 500 mL de água retirada do chuveiro. Não se verificou o crescimento de dermatófitos após 15 dias de incubação em meio de cultura seletivo Dermasel (D+S).

A segunda amostragem realizou-se nas zonas de banho da Cirurgia II (mulheres) e Medicina II (Mulheres) no dia 29 de Agosto de 2011 e os resultados encontram-se registados nos quadros 3 e 4 respetivamente.

Quadro 3: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia II- Mulheres na fase de Pré-teste.

AMOSTRAGEM DIA 29/08/2012	Incubação 25°C 5 dias (MEA)		Incubação 25°C 15 dias (D+S)	
	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
7 - Assento de inox	--	--	Negativo	--
8 - Chão junto assento de inox	20 UFC/mL <i>Aspergillus terreus</i>	--	Negativo	3 UFC/100 cm <sup>2</sup> <i>Candida albicans</i>
9 -Base do chuveiro	--	--	Negativo	--
10 - Porta do chuveiro	--	--	Negativo	--
15 - Água do chuveiro Resíduo do cloro (0,3 mg/L)	--	-		

Apenas se registou o crescimento de leveduras do género *Candida albicans* (amostras 8, 11 e 12), fungos filamentosos do género *Aspergillus terreus* (apenas na Cirurgia II – Mulheres – amostra 8). Nenhum dermatófito foi encontrado nesta amostragem.

Quadro 4: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina II (Mulheres) na fase de Pré-teste.

AMOSTRAGEM DIA 29/08/2012	Incubação 25°C 5 dias (MEA)		Incubação 25°C 15 dias (D+S)	
	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
11 - Chão junto assento de inox	--	--	Negativo	17 UFC/100 cm <sup>2</sup> <i>Candida albicans</i>
12 - Assento de inox	--	--	Negativo	12 UFC/100 cm <sup>2</sup> <i>Candida albicans</i>
13 - Chão	--	--	Negativo	--
14 - Banco	--	--	Negativo	--
16 - Água do chuveiro Resíduo do cloro (0,3 mg/L)	--	--	--	--

A terceira amostragem pré-teste realizou-se a 02 de Setembro de 2011, na zona de banho da Pediatria (quadro 5). Nenhum fungo filamentoso foi encontrado e identificado. Apenas se encontrou uma carga microbiana de 40 UFC/ml da levedura da espécie *Rhodotorula minuta* na zona de banho desta ala (quadro 4).

Quadro 5: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Pediatria na fase de Pré-teste.

AMOSTRAGEM DIA 02/09/2012	Incubação 25°C 5 dias (MEA)		Incubação 25°C 15 dias (D+S)	
	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
26 - Banheira de inox	--	--	Negativo (*)	--
27 - Beira da banheira de inox	--	--	Negativo	--
28 - Chão junto à banheira	--	--	Negativo	--
29 - Cadeira junto à banheira	--	--	Negativo	--
30 - Base da banheira grande	--	--	Negativo	--
31 - Parede da banheira	--	--	Negativo	--
32 - Base do chuveiro do quarto individual	--	--	Negativo	--
33 - Parede do chuveiro do quarto individual	--	40 UFC/mL <i>Rhodotorula minuta</i>	Negativo	--
34 - Água do chuveiro. Resíduo do cloro (0,3 mg/L)	--	--		

(\*) bactérias em meio de cultura não especificado

A quarta amostragem pré-teste realizou-se a 08 de Setembro de 2011, na zona de banho da Medicina III (infetocontagiosos) e Cirurgia I (Homens), representados nos quadros 6 e 7 respetivamente.

Quadro 6: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina III (infetocontagiosos) na fase de Pré-teste.

AMOSTRAGEM DIA 08/09/2011	Incubação 25°C 5 dias (MEA)		Incubação 25°C 15 dias (D+S)	
	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
35 - Base do chuveiro	60 UFC/mL <i>Phoma</i> spp. 30 UFC/mL <i>Acremonium</i> spp. 30 UFC/mL <i>Aspergillus</i> spp.	--	--	--
36 - Parede do chuveiro	20 UFC/mL <i>Penicillium</i> spp.	--	--	--
37 - Parede do chuveiro	--	--	--	--
38 - Extrator	--	--	--	--
39 - Água do chuveiro. Resíduo do cloro (0,2 mg/L)	--	--	--	--

Quadro 7: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia I (Homens) na fase de Pré-teste.

AMOSTRAGEM DIA 08/09/2011	Incubação 25°C 5 dias (MEA)		Incubação 25°C 15 dias (D+S)	
	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
40 – Chão	20 UFC/mL <i>Acremonium</i> spp.	--	--	--
41 - Parede	--	100 UFC/mL <i>Rhodotorula glutinis</i>	--	--
42 – Cadeira	40 UFC/mL <i>Acremonium</i> spp.	--	--	--
43 - Suporte de alumínio	--	--	--	--

---

Na Medicina III (infetocontagiosos) só foram isolados fungos filamentosos, numa carga fúngica total de 140 UFC/mL. Foram identificados fungos do género *Phoma* spp., *Acremonium* spp., *Aspergillus* spp., e *Penicillium* spp. Na base do chuveiro (amostra 35) verificou-se uma carga fúngica de 60 UFC/mL de *Phoma* spp., 30 UFC/mL de *Acremonium* spp. e na parede (amostra 36) registou-se o crescimento de 20 UFC/mL de *Penicillium* spp. na zona de banho desta ala. Na Cirurgia I (Homens) foram isolados apenas 2 géneros/espécies, dos quais 60 UFC/mL de um fungo filamentoso do género *Acremonium* spp. (60 UFC/mL) e a levedura (*Rhodotorula glutinis*) com uma carga fúngica de 100 UFC/mL. No chão foram encontrados 20 UFC/mL de *Acremonium* spp. (amostra 40). Verificou-se também o crescimento de 40 UFC/mL de *Acremonium* spp. na cadeira (amostra 42).

## **2. Estudo final**

O estudo final realizou-se no dia 25 de Janeiro de 2012 e decorreu até 09 de Março de 2012. Foram efetuadas duas amostragens por serviço, totalizando seis amostragens, e perfazendo um total de 100 amostras. Foram incubadas 1164 placas de Petri com meio de cultura de agar de malte (MEA) suplementado com cloranfenicol. Para a identificação de dermatófitos incubaram-se 76 placas de Petri com meio seletivo suplementado com cloranfenicol e cicloheximida (D+S).

A figura 8 representa a percentagem de fungos encontrados em todas as amostras realizadas no estudo final. O fungo filamentoso mais prevalente em todas as amostras incubadas em meio de cultura MEA durante 5 dias, foi o fitopatogénico *Fusarium* spp. (39,6%). Outros fungos filamentosos do género *Penicillium* spp. foram identificados em 25,77% das amostras e o género *Phoma* spp. em 25,47%. Estes três géneros correspondem a 90,84% de todos os fungos identificados. Não foram isolados dermatófitos em meio D+S.

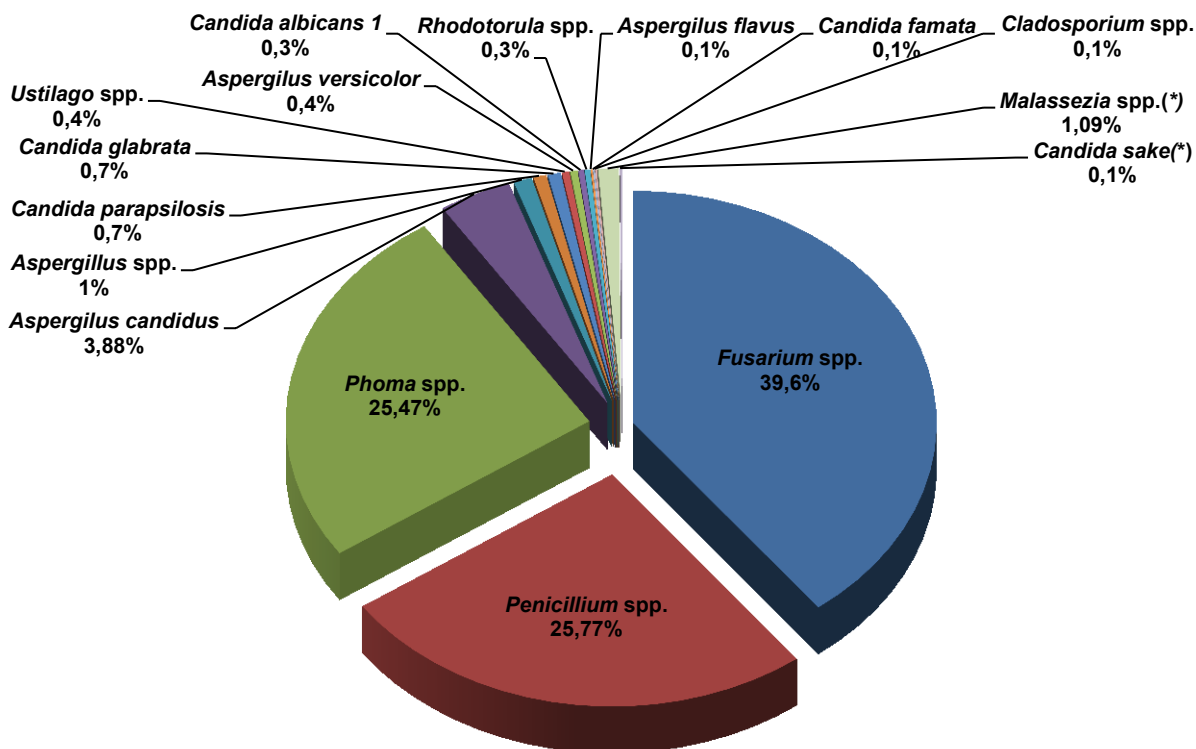


Figura 8. Percentagem de fungos identificados nas amostras realizadas nos diferentes serviços do Hospital. (\*) – fungos encontrados UFC/100 cm<sup>2</sup>.

Em todos os dias de amostragens, fizeram-se as recolhas das amostras da parte da manhã (após a higienização dos pacientes) e à tarde (após a higienização da zona de banhos). A carga fúngica para cada zona foi: Cirurgia I (Homens) com 680 UFC/mL, seguindo-se a Medicina II (Mulheres) com 219 UFC/mL, a Cirurgia II (Mulheres) com 79 UFC/mL, a Medicina III com 15 UFC/mL, a Medicina I (Homens) com 8 UFC/mL. A Pediatria foi o serviço onde se registou menor carga fúngica, somente com 1UFC/mL (Figura 9). O mesmo gráfico revela ainda que os fungos mais encontrados foram os fitopatogénicos do género *Fusarium spp.*, com 398 UFC/mL e o fungo do género *Phoma spp.*, com uma carga microbiana de 244 UFC/mL em Cirurgia I. Na Medicina II prevaleceram os fungos do género *Penicillium spp.*, não se tendo efetuado a identificação da espécie.

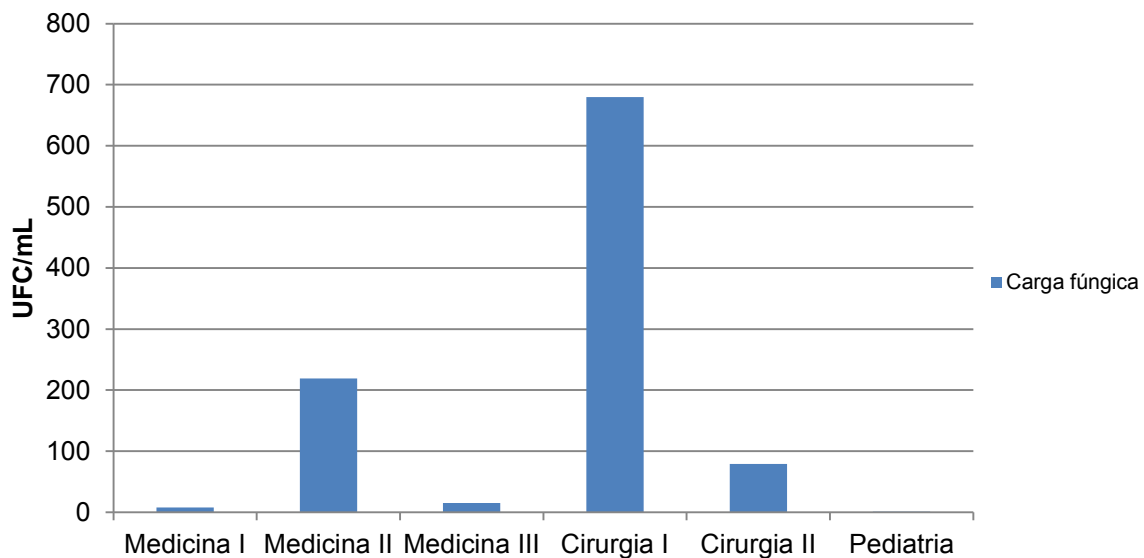


Figura 9. Carga fúngica (UFC/mL) identificada nos diferentes serviços do Hospital.

As Figuras 10 e 11 representam a carga fúngica encontrada por cada um dos serviços amostrados de manhã e de tarde, respetivamente. Assim foi possível observar que os fungos mais encontrados no período da manhã pertenciam ao género *Phoma* spp. (256 UFC/mL), em Cirurgia I, e os fungos do género *Penicillium* spp. (144 UFC/mL), em Medicina II. À tarde encontrou-se uma elevada carga microbiana de fungos dos géneros *Fusarium* spp. (373 UFC/mL) em Cirurgia I, os fungos do género *Penicillium* spp. (68 UFC/mL) na Medicina III, e o ascomiceto *Aspergillus candidus* (39 UFC/mL) em Cirurgia II. Não se verificaram diferenças significativas ( $P=0,753$ ) entre a carga fúngica antes/depois da higienização das zonas de banho, em relação aos respetivos serviços amostrados. No entanto encontrou-se uma carga fúngica de *Fusarium* spp. 15 vezes superior, no período da tarde em relação ao período da manhã. Também houve um aumento de fungos do género *Aspergillus* spp. de 9 UFC/mL para 43 UFC/mL, dos quais 1 UFC/mL pertencia à espécie *A. flavus*. Verificou-se uma redução de 18 UFC/mL (manhã) para 1 UFC/mL (tarde) para os fungos do género *Candida* spp..

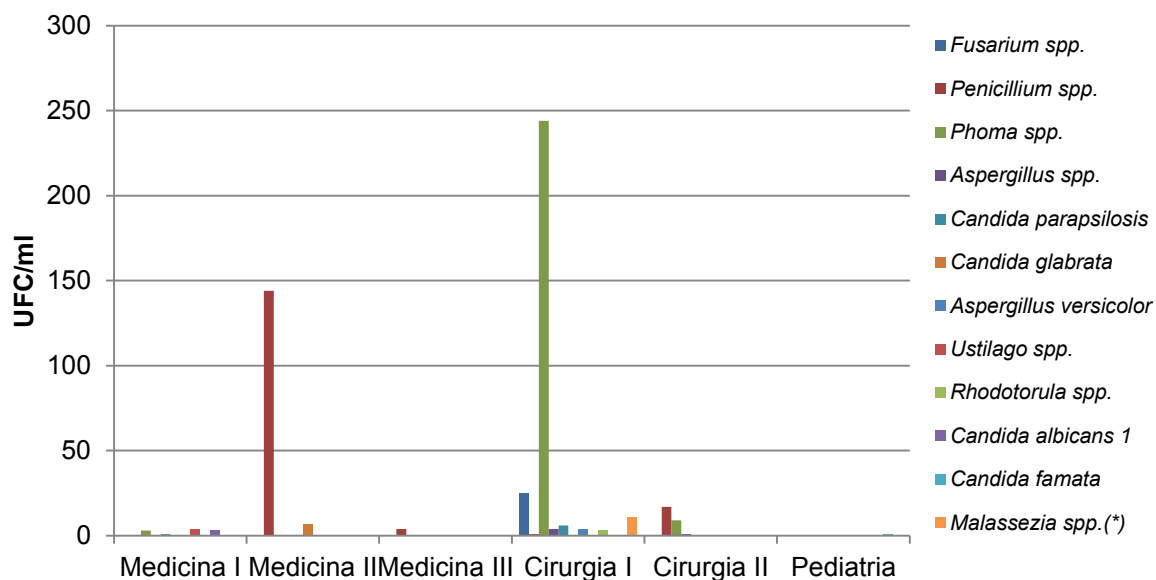


Figura 10. Carga fúngica (UFC/mL) encontrada após a higienização dos Pacientes (Manhã). (\*) Correspondente a UFC/100 cm<sup>2</sup>

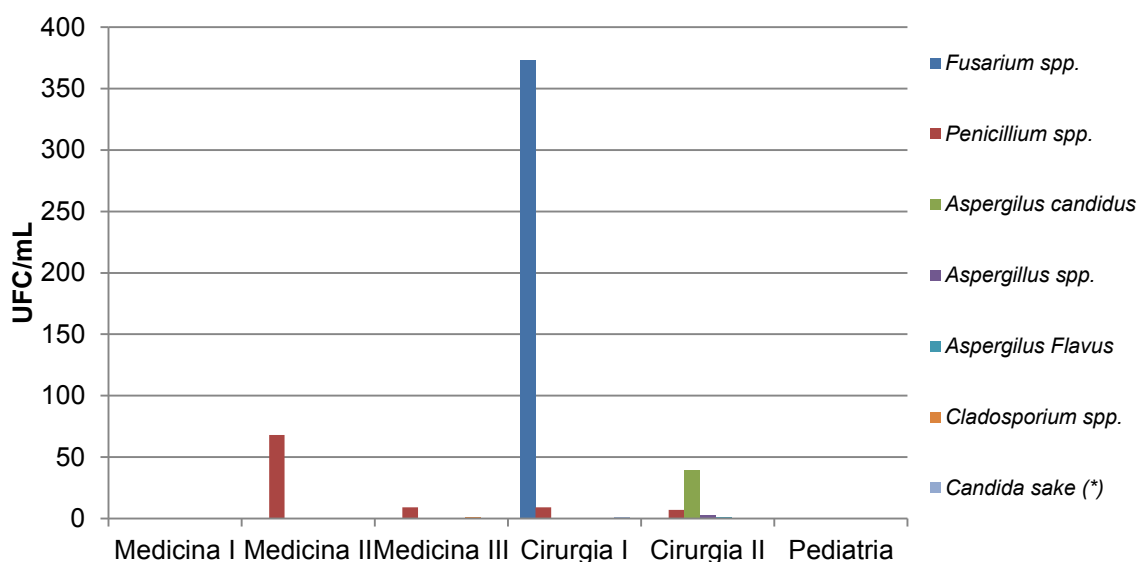


Figura 11. Carga fúngica (UFC/mL) encontrada após a higienização da zona de banho (Tarde). (\*) Correspondente a UFC/100 cm<sup>2</sup>

Fazendo a relação dos locais de amostragem (chão, assento inox, parede, base da banheira, base do duche, e extrator) e a carga fúngica existente em cada local, verificou-se que o chão teve maior carga fúngica com um total de 581 UFC/mL. Os fungos dos géneros *Fusarium spp.* e *Penicillium spp.* estiveram

presentes em 68% e 29,5% das amostras Na parede obtiveram-se 333 UFC/mL (77% do género *Phoma* spp.) e no assento de inox encontraram-se 87 UFC/mL, cujo fungo prevalente foi o género *Penicillium* spp. em 71,3% das amostras recolhidas nesse local. A base do duche apresentou uma carga fúngica de 10 UFC/mL (9 UFC/mL do género *Penicillium* spp. e 1 UFC/mL do género *Cladosporium* spp.). A base da banheira apresentou 1 UFC/mL com levedura *Candida famata* e no extrator apenas se recolheu 1 UFC/mL de *Fusarium* spp. Algumas espécies do género *Aspergillus* spp. são produtoras de micotoxinas, nomeadamente a espécie *Aspergillus flavus*. Este fungo foi encontrado apenas com uma carga fúngica de 1 UFC/mL na parede (Figura 12).

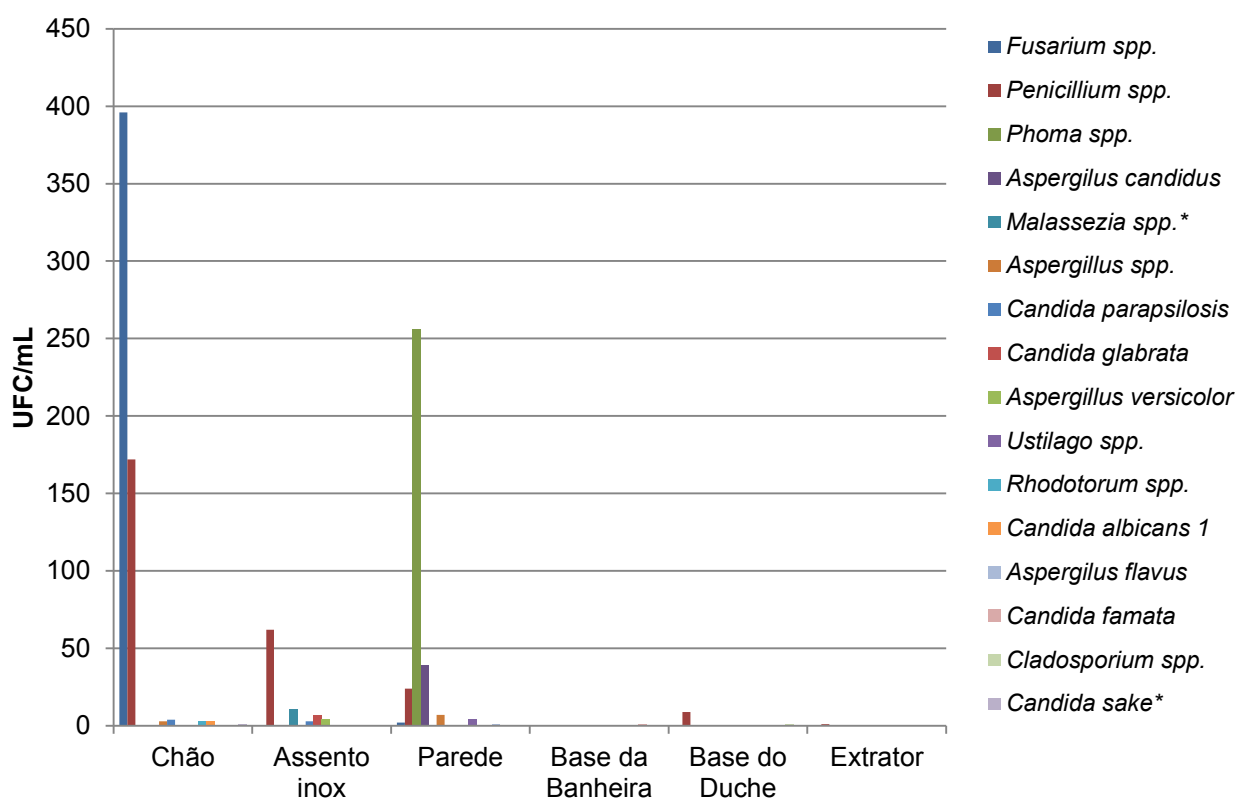


Figura 12. Carga fúngica (UFC/mL) e identificação dos fungos recolhidos por local de amostragem. (\*) Correspondente a UFC/100 cm<sup>2</sup>

Para comparar a carga fúngica recolhida no período da manhã e no período da tarde elaboraram-se os gráficos das Figuras 13 e 14. A manhã foi o período do dia em que se verificou um número total de 499 UFC/mL. Constatou-se que durante

esse período o local com maior carga fúngica foi a parede (286 UFC/mL), onde o fungo mais prevalente pertencia ao género *Phoma* spp., contribuindo com 90% da carga fúngica. O chão apresentou uma carga fúngica total de 184 UFC/mL, sendo os fungos do género *Penicillium* spp. os mais recolhidos (150 UFC/mL). O assento de inox apresentou uma carga de fungos de 27 UFC/mL. Os locais com menor carga fúngica foram a base da banheira, o extrator (1 UFC/mL). A base do duche não apresentou fungos durante o período da manhã. Durante o período da tarde prevaleceram os fungos do género *Fusarium* spp. que se concentraram no chão (371 UFC/mL). Os fungos do género *Penicillium* spp. distribuíram-se pelo assento em inox (53 UFC/mL), o chão (22 UFC/mL), a parede (9 UFC/mL) e a base do duche (9 UFC/mL). A base da banheira e o extrator não apresentaram nenhum fungo nas recolhas realizadas no período da tarde.

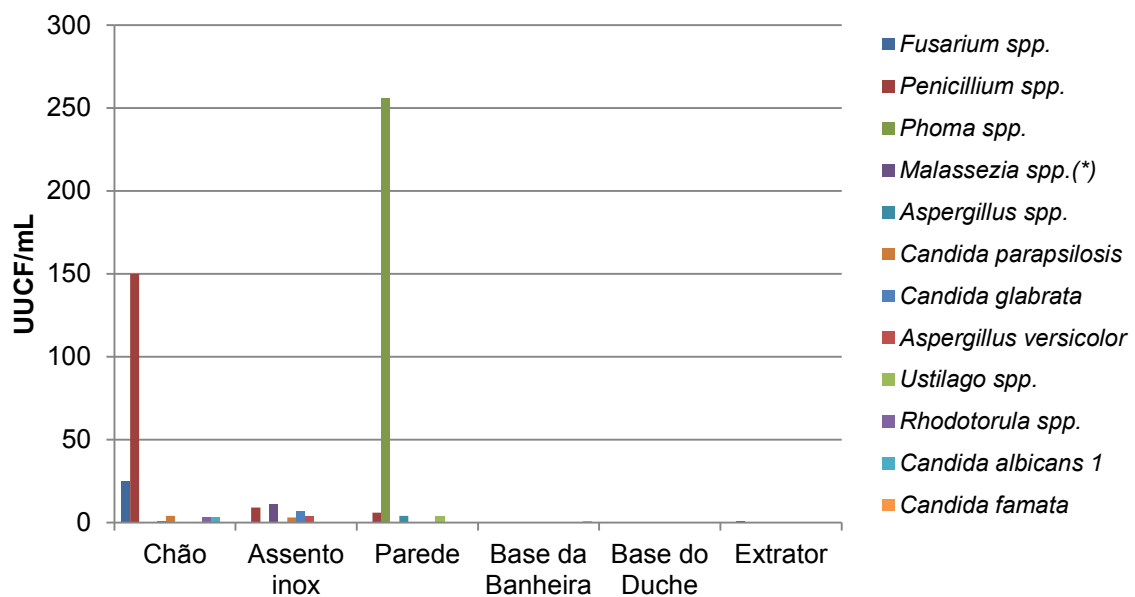


Figura 13. Carga fúngica (UFC/mL) e identificação dos fungos recolhidos por local de amostragem no período da manhã.

(\*) Correspondente a UFC/100 cm<sup>2</sup>

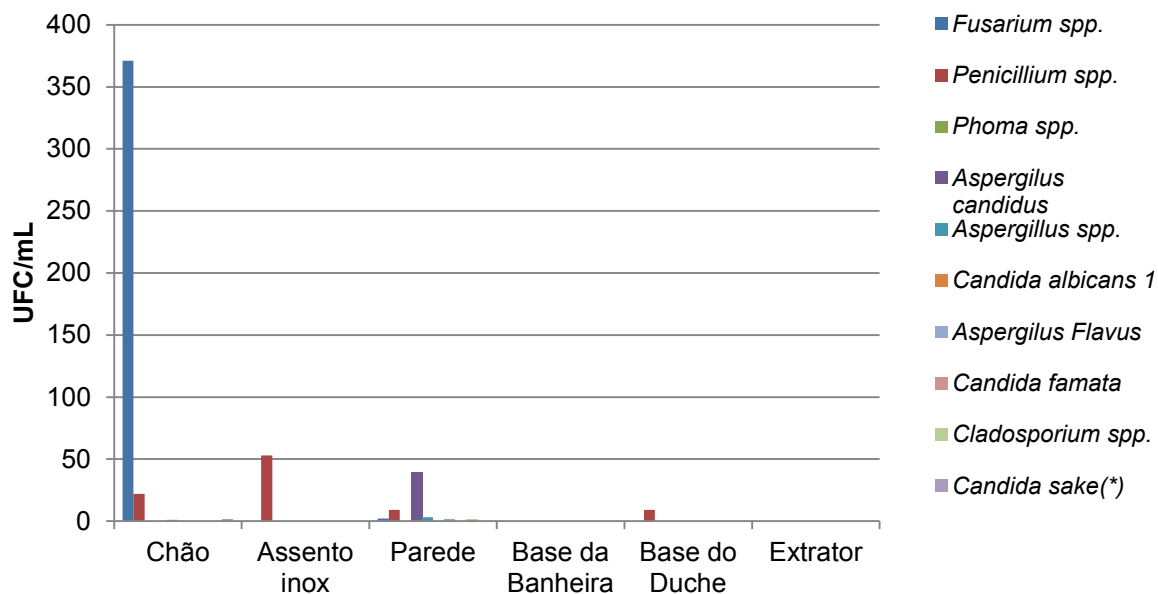


Figura 14. Carga fúngica (UFC/mL) e identificação dos fungos recolhidos por local de amostragem no período da tarde.  
 (\*) Correspondente a UFC/100 cm<sup>2</sup>.

Nos locais de amostragem foi referido nas fichas de recolhas (Anexo1), quais os locais que tinham janelas abertas durante a recolha de amostras. A Medicina II teve a janela aberta no dia 25 de Janeiro (Manhã e Tarde); a Cirurgia II teve janela aberta (manhã e tarde) no dia 1 de Fevereiro; No dia 15 de Fevereiro a Medicina I teve a janela aberta somente à tarde. A temperatura e a humidade foram monitorizadas todos os dias de amostragem (Figura 15). Quanto à temperatura esta oscilou entre os 19,49°C e os 22,31°C no período da manhã, com um valor médio de 21,33°C. No período da tarde a temperatura mínima era de 20,12°C (Fevereiro de 2012) e a máxima atingiu os 22,93°C (Fevereiro de 2012). O valor médio da temperatura foi de 21,75°C. A humidade relativa média foi de 62,15% para a manhã e 54,97% para a tarde.

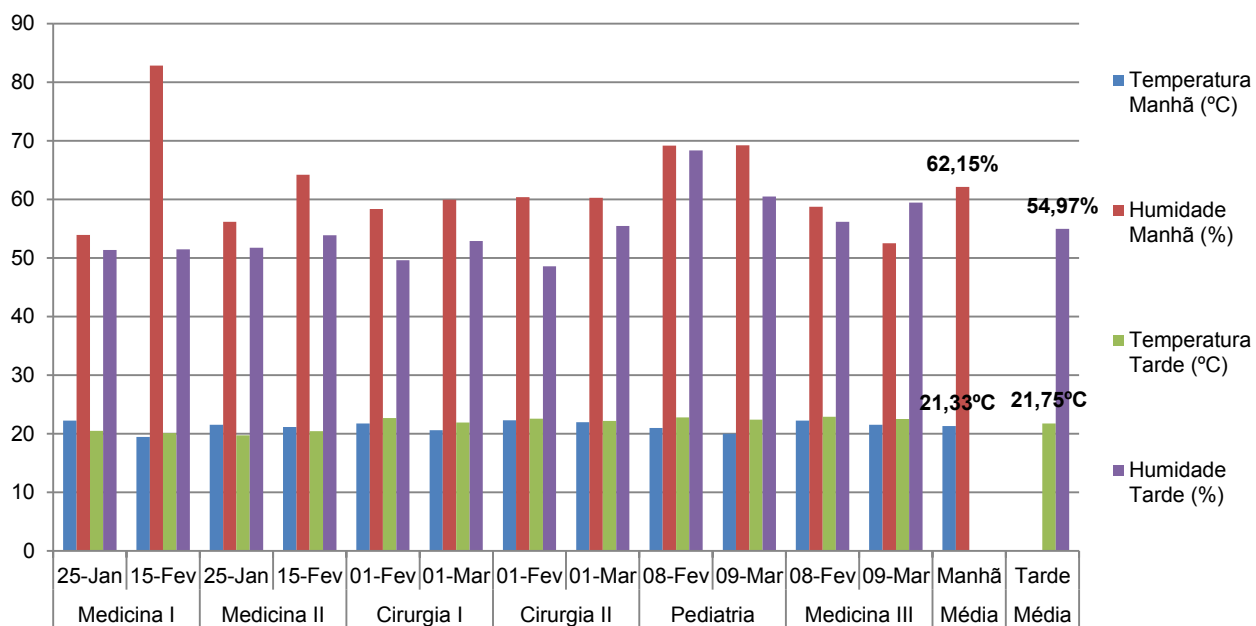


Figura 15. Temperatura e humidade relativa nas zonas de banho amostradas do final de estudo.

---

## Capítulo IV

### Discussão

As infecções nosocomiais por fungos têm ganho cada vez mais importância no quadro clínico nas últimas décadas, na medida em que se tem verificado um aumento de pacientes imunocomprometidos ou mesmo imunossuprimidos com elevada suscetibilidade a estes microrganismos. Ao mesmo tempo fungos considerados até então não-patogénicos ou de baixa virulência começaram a surgir como novos agentes causadores de infeção, contribuindo para o aumento da morbilidade e mortalidade nos hospitais por aspergilose, candidose, criptococose e zigomicose (Warnock, 2007). Por outro lado, a incidência de casos de infeção fúngica em pacientes imunocompetentes mas internados nas Unidades de Cuidados Intensivos (UCI) também tem vindo a aumentar. Um estudo realizado em 76 países, incluindo Portugal, revelou que metade dos pacientes internados nas UCIs recebia tratamento por infeção das quais 16% eram de origem fúngica (Vincent et al., 2010). O risco de transmissão existe em todos os momentos da prestação de cuidados de saúde, especialmente em doentes imunocomprometidos e/ou na presença de dispositivos invasivos. A sobrelotação, a ausência de pessoal dedicado apenas aos doentes infetados e/ou colonizados (diminuição de profissionais), transferências frequentes de doentes entre serviços e Instituições de Saúde, e doentes críticos internados em unidades específicas são fatores que contribuem para o aumento do risco de transmissão cruzada (Pina, 2010).

#### 1. Pré-Testes

Os resultados obtidos a partir dos pré-testes foram essenciais para a implementação de uma metodologia relacionada com a realidade local e com os recursos existentes. Os resultados do pré-teste mostraram uma elevada diversidade de fungos em cada um dos serviços amostrados, verificando-se a prevalência de fungos filamentosos (98,1%) em relação às leveduras (1,9%). As recolhas foram efetuadas somente após a higienização dos pacientes, mas verificou-se uma elevada carga fúngica da levedura da espécie *Candida dubliniensis* na zona de

---

banho do serviço Medicina I (Homens) no assento de inox correspondente a 1760 UFC/mL. O facto de se ter encontrado *C. dubliniensis* é preocupante, uma vez que este microrganismo tem sido frequentemente encontrado em ambiente clínico, tendo sido isolado de pacientes HIV positivos com candidíase oral (Coleman et al., 1997). No entanto, outros autores referem que esta espécie também pode causar doença oral em pacientes HIV negativos e é também um colonizador da mucosa oral em indivíduos imunocompetentes (Gutiérrez et al., 2002). Apesar de existirem poucos relatos de fungemia provocada por *C. dubliniensis* (Tan et al., 2002), esta espécie tem sido referida como resistente ao fluconazol (Moran et al., 1997).

Apesar de se ter verificado uma elevada carga fúngica nas primeiras recolhas (pré-teste), nas amostragens subsequentes (estudo final) *C. dubliniensis* não foi isolada em mais nenhuma amostra. Uma situação semelhante aconteceu no serviço de Medicina III (infetocontagiosos). Neste serviço registou-se uma elevada carga fúngica de *Phoma* spp., *Acremonium* spp. e *Aspergillus* spp., na base do chuveiro. Alguns autores referem este local particularmente crítico, tendo-se verificado a presença de uma carga fúngica significativamente mais elevada do que na enfermaria ou o corredor (Anassie et al., 2001a). Noutro estudo, os mesmos autores sugeriram que a disseminação dos microrganismos ocorre em parte pela formação de bioaerossóis nas gotículas de água dos salpicos que contactam com as superfícies contaminadas. E ainda verificaram que a limpeza eficiente da base do chuveiro reduziu significativamente a carga fúngica nesse local (Anassie et al., 2002b).

Nenhuns dos fungos anteriormente referidos foram isolados nas amostras subsequentes (estudo final). Não existe uma explicação documentada para justificar esta redução. Pode sugerir-se que tenha havido uma maior atenção por parte dos intervenientes responsáveis pela limpeza nesses locais.

## **2. Estudo final**

No estudo final realizado com um protocolo já implementado para pesquisar a existência de fungos após a higienização dos pacientes (manhã) foi possível confirmar a eficácia no procedimento de higienização nos mesmos pontos (tarde), da recolha nas superfícies e da água.

---

## 2.1 Superfícies

Verificou-se que no serviço de Pediatria o procedimento de higienização foi eficaz tendo em conta os valores baixos da carga fúngica nesse local, em qualquer amostragem realizada durante o estudo. Verificou-se que os intervenientes responsáveis pela limpeza da zona de banho, desse serviço, era realizado por uma funcionária da empresa de limpeza (contratada pelo Hospital) e pelos assistentes operacionais (funcionários do Hospital). O serviço de Medicina I (Homens) também revelou uma higienização eficaz, apresentando uma carga fúngica de apenas 8 UFC/ml. Ao contrário do serviço de Pediatria não se verificou diferenciação dos responsáveis da limpeza, sendo apenas a funcionária da empresa contratada pelo hospital. A zona de banho em que se obtiveram sempre isolados após higienização do local foi no serviço de Cirurgia II (Mulheres) nas duas amostragens efetuadas. No entanto a zona de banho do serviço Cirurgia I (Homens) foi a mais contaminada, representando 68% da carga fúngica total encontrada nos diferentes serviços. Podemos sugerir que a desinfeção pode não ter sido suficiente aquando da higienização da zona de banho. Também se pode colocar a hipótese da existência de contaminação após a higienização pelo facto do acesso à zona da sanita ser junto à zona de banho. Os principais fungos identificados na zona de banho desse serviço foram os fitopatogénicos do género *Fusarium* spp. (com um aumento do número de isolados no período da tarde) e *Phoma* spp. (não foi isolado na recolha da manhã), os quais foram recolhidos no chão e na parede do local, respetivamente. O fungo leveduriforme *Candida sake* foi isolado do chão e cresceu no meio suplementado com cicloheximida e cloranfenicol (meio de dermasel), indicando uma potencial resistência a antibióticos.

É conhecida a associação entre a colonização de fungos do género *Fusarium* spp. com o desenvolvimento de fusariose em ambiente hospitalar (Anaissie et al., 2001b). Isto justifica, por si só, adotar medidas de monitorização ao local e a tomada de ações de intervenção no sentido de determinar a fonte da infeção e melhorar o protocolo de higienização. Este facto é particularmente importante uma vez que se registou uma elevada carga de *Fusarium* spp., após a higienização do local.

---

No serviço de Cirurgia II (Mulheres), isolaram-se 43 UFC/mL de fungos do género *Aspergillus* spp., identificando-se duas espécies, *Aspergillus flavus* e *Aspergillus candidus* após a higienização do local durante o período da tarde. A associação entre a colonização de *A. flavus* e a produção de aflotoxinas e do género *Aspergillus* spp. na origem da aspergilose invasiva em pacientes imunocomprometidos tem sido referida por alguns autores (Hajjeh e Warnock, 2001; Groll et al., 2002). Os nossos resultados justificam a adoção de medidas de monitorização ao local e a tomada de ações de intervenção no sentido de determinar a proveniência destes fungos. Por outro lado também se recomenda o melhoramento do protocolo de higienização. Estas medidas são particularmente importantes uma vez que a amostragem foi realizada após a higienização do local. No serviço de Medicina III (Infetocontagiosos) também se verificou um aumento de isolados após a higienização do local. Estes factos podem ser preocupantes na medida em que a higienização parece não ser suficiente para reduzir a carga fúngica nos locais onde os pacientes correm maior risco de infeção nosocomial. Recomenda-se ainda um protocolo de higienização mais uniforme para todos os serviços do Hospital.

Em relação às leveduras encontradas, seis espécies foram identificadas das quais cinco eram do género *Candida* spp. e uma do género *Malassezia* spp.. *Candida parapsilosis* é uma espécie reportada por vários autores como agente de infeções nosocomiais relacionada com episódios epidémicos em ambiente hospitalar. Esta espécie tem sido frequentemente encontrada em ambiente hospitalar e está associada a surtos hospitalares de candidemias nos pacientes imunocomprometidos (Trofa et al., 2008). A presença de leveduras pode dever-se a contaminação por contacto das superfícies pelos pacientes, visitantes ou até os profissionais que frequentam as zonas de banho das enfermarias onde os pacientes estão internados. Num estudo realizado em profissionais de saúde de uma UCI, verificou-se que as mãos e anéis desses profissionais estavam contaminados com uma variedade de microorganismos dos quais 16,6% correspondiam a 16.6% de *Candida* spp., 3,9% de *Rhodotorula* spp., 3,1% de *Aspergillus niger*, e 3,9% de *Aspergillus flavus*. Após este estudo recomendou-se que os profissionais de saúde seguissem o procedimento de lavagem das mãos e que retirassem toda a joalheria

---

e acessórios antes de entrar no serviço a fim de minimizarem o risco de transmissão de microorganismos potencialmente perigosos para os pacientes (Khodavaisy et al., 2011).

Alguns autores referem uma associação entre a taxa de contaminação das mãos e objetos usados pelos profissionais de saúde com a prevalência de infeções nosocomiais (Lacroix et al., 2007; Khodavaisy et al., 2011) Tendo em conta a contaminação cruzada que pode ocorrer aquando do contacto profissional de saúde/paciente recomenda-se adotar medidas de prevenção como a higienização das mãos. No relatório da Campanha Nacional de higiene das mãos, uma das principais recomendações referia adotar medidas de prevenção e controlo da infeção, tornando a adesão à higiene das mãos uma prioridade institucional (Costa, et al., 2011). Outro aspeto importante é a lavagem das mãos antes da colocação dos equipamentos de protecção individual (EPI) nomeadamente as luvas, e depois da sua remoção. Um estudo efetuado na Universidade do Minho concluiu que a percentagem de enfermeiros que lavavam as mãos antes de colocar as luvas e após a remoção das mesmas era consideravelmente baixa, entre 34,8 e 36,4% respetivamente. No mesmo estudo verificou-se que os enfermeiros, na sua maioria (62%), não tinha por hábito utilizar as mesmas luvas para o desempenho de outras atividades, existindo ainda uma parte considerável de enfermeiros (32,4%) que admitia fazê-lo, ainda que, esporadicamente. No entanto, 5 enfermeiros admitiram utilizar muito frequentemente as mesmas luvas para o desempenho de outras atividades (Lima, 2008).

Todos os fungos encontrados neste estudo são potenciais agentes no desenvolvimento de infeções nosocomiais em pacientes imunocomprometidos.

A prevenção de Infeções hospitalares deve ser baseada na formação técnica (mas também na segurança) dos trabalhadores de saúde, e garantir um ambiente de trabalho em equipa. A monitorização dos protocolos gerais e específicos, com a introdução de rotinas de teste, para minimizar o risco de contaminação exige o cumprimento de todos os trabalhadores de saúde, inclusive a administração (Palomar, 2010).

---

## 2.2. Água

Não se verificou a presença de fungos filamentosos na água amostrada. Houve apenas a identificação de leveduras do género *Rhodotorula* spp., na 2ª amostragem (Cirurgia I e II) no período da manhã e tarde, com um crescimento superior a 500 UFC/500 mL. Os resultados obtidos neste estudo corroboram os de Gangneux, et al., 2002 e Panagopoulou et al., 2007 que referem não terem encontrado fungos filamentosos nas amostras de água realizadas. No entanto outros autores, referiram a presença de uma elevada carga fúngica, nomeadamente em unidades pediátricas de transplantes (Warris et al., 2001), e em unidades de hemodialisados (Varo et al., 2007, Arvanitidou, 2000). Para se avaliar corretamente a presença de fungos na água, seria necessário ter-se em conta a origem da água, como e onde é armazenada (reservatório), e o seu tratamento. Num estudo efetuado em pacientes com aspergilose invasiva comprovou-se que os isolados eram genotipicamente idênticos aos isolados da água do hospital. A utilização de filtros em pontos críticos do fornecimento da água no interior do hospital foi eficaz na eliminação de fungos filamentosos da água usada para a higiene e para limpeza de feridas (Warris et al., 2002). Assim é de considerar a higienização dos equipamentos que são usados para extrair a água, como por exemplo as torneiras. Muitos estudos sobre fungos filamentosos em água têm sido publicados nos últimos anos, mas ainda existe uma falta de conhecimento no que diz respeito à formação de biofilmes de fungos filamentosos no sistema de distribuição de água. Além disso, também ainda são escassos os estudos que avaliam os efeitos do cloro livre em biofilmes de fungos filamentosos de água (Siqueira, 2011). Os biofilmes são constituídos por comunidades complexas de microrganismos, incluindo populações bacterianas, os protozoários, os nemátodos, e os fungos. Os biofilmes conferem protecção à comunidade de microrganismos às condições adversas no que diz respeito a elevados de químicos dissolvidos, a temperatura extremas e desinfetantes (especialmente desinfetantes com base cloro). O biofilme representa assim um reservatório importante de microrganismos e o seu desprendimento das tubagens, especialmente durante as atividades da limpeza, pode ser uma outra fonte de microrganismos (incluindo fungos) na água podendo afetar a qualidade da água de formas imprevisíveis (Hu et al., 2008; Hageskal et al., 2009). No presente estudo

---

não foi possível fazer a correlação do resíduo de cloro livre e o isolamento de fungos.

O Decreto-Lei 306/2007 de 27 de Agosto no artigo 2º, define como rede de distribuição, o conjunto de tubagens e acessórios instalados para a distribuição da água para consumo humano desde os reservatórios, ou captações ou estações de tratamento de água, até à entrada nos sistemas de distribuição prediais. O mesmo Decreto-lei define sistema de distribuição predial como o conjunto de canalizações, acessórios e aparelhos instalados entre as torneiras normalmente utilizadas para consumo humano e o ramal de ligações. Tendo em conta este Decreto-Lei um estudo aprofundado com pontos de recolha de água diferenciados, nomeadamente antes do ponto de entrada (da responsabilidade da entidade gestora) para o sistema de distribuição do hospital, no próprio sistema de distribuição incluindo, se existir, um sistema de armazenamento, seria importante para se determinar a presença de fungos no sistema de abastecimento de água. O Decreto-Lei 306/2007 de 27 de Agosto é omissivo quanto a referir os fungos como contaminantes, indicadores de poluição ou possíveis patogénicos para o ser humano na água. No entanto vários estudos demonstraram a importância de detetar a presença de fungos, contribuindo para uma melhor qualidade da água de consumo (Hageskal et al., 2009).

As técnicas de quantificação e identificação de fungos em amostra de água são relevantes, no que diz respeito à obtenção de resultados válidos e representativos (Fernandes, 2008). Assim a utilização de técnicas de crescimento inadequadas pode alterar os resultados dando origem a falsos negativos. Das três técnicas mais utilizadas (filtração por membrana, espalhamento, e incorporação) a técnica de “filtração por membrana” é a que apresenta uma melhor representatividade fúngica (Fernandes, 2008). Tendo em conta os resultados do estudo anterior, é pouco provável que a ausência de fungos nas amostras de água recolhidas no presente trabalho se deva à utilização de uma técnica de crescimento inadequada.

### **2.3. Fungos dermatófitos**

Não se verificou a presença de fungos dermatófitos em nenhuma das amostras recolhidas. Isto pode revelar que os pacientes tomam as devidas medidas de higiene em relação à proteção dos pés e por isso não se encontraram dermatófitos

---

após a higienização individual. Por outro lado a higienização do local é eficiente para se verificar a eliminação destes fungos e seus propágulos. É improvável que os pacientes adquiram micoses superficiais causadas por este tipo de fungos ao frequentarem as zonas de banho do hospital.

#### **2.4. Contaminação fúngica no ar**

Para se ter um panorama completo do nível de contaminação fúngica em interiores de edifícios devem ser recolhidas amostras de superfície que devem ser sempre complementadas por amostras de ar (Buttner e Stetzenbach, 1993). Este estudo revela essa limitação uma vez que não foi possível realizar as amostras de ar ambiente nos locais onde se fez a amostragem das superfícies. No entanto é de referir que num estudo cujo objetivo era determinar o método mais adequado para a recolha de amostras ambientais (por sedimentação ou por zaragatoa) verificou-se que não houve diferenças significativas entre os dois métodos. Recomenda-se que os dois métodos devam ser usados em paralelo, ao investigar a incidência de fungos nas enfermarias (Nzeako, et al., 2011). O estudo ainda concluiu que não foi possível recolher fungos do género *Fusarium* spp. e *Cladosporium* spp. pelo método de sedimentação. No presente estudo a recolha por zaragatoa permitiu isolar em maior percentagem fungos do género *Fusarium* spp..

---

## Capítulo V

### Conclusão

A presença de fungos no ambiente hospitalar e a infeção hospitalar adquirida após o internamento do paciente poderá estar relacionado com o internamento, ou pelos procedimentos hospitalares, a prevenção de infeções hospitalares depende muito mais do hospital e dos seus trabalhadores do que dos pacientes.

Com este estudo pretendemos caracterizar as zonas de banho de vários serviços do Hospital de Santo Espírito de Angra do Heroísmo E.P.E. relativamente à carga fúngica encontrada em diferentes superfícies e da água utilizada.

Apesar de ter sido suficiente para reduzir a carga fúngica em vários serviços, a higienização das zonas de banho deve ser uniformizada em todos os serviços. Será necessário reforçar as medidas de higienização nos serviços de Cirurgia I e II e Medicina III que são enfermarias frequentadas por pacientes imunocomprometidos, uma vez que constituem um grupo de risco para infeções nosocomiais, que acarretam custos avultados aos hospitais.

Apesar de não ter sido possível correlacionar diretamente os géneros/espécies de fungos encontrados com o risco de infeção nosocomial, deve dar-se especial atenção à exposição a fungos filamentosos em pacientes potencialmente vulneráveis. Devem ainda tomar-se as medidas preventivas adequadas para a redução eficiente de infeções provocadas por fungos, que incluam: ações de sensibilização para o pessoal hospitalar, uniformização da higienização das zonas de banho em todos os serviços, condicionamento ao acesso das zonas de banho, após a higienização do local e uma monitorização sistemática da carga fúngica do ambiente hospitalar, e a instalação de sistemas de filtração do ar de elevada eficiência (filtros HEPA). Recomenda-se um estudo do ambiente exterior para que haja um conhecimento da carga fúngica existente no ar do exterior e assim haver uma correlação do ambiente exterior e a sazonalidade. Com esta monitorização poderá determinar-se se o foco de contaminação é exclusivo do interior do edifício.

---

Uma melhor compreensão das vias de transmissão e dispersão dos fungos de interesse clínico no ambiente hospitalar é necessária. É importante que esse conhecimento seja transmitido às Comissões de controlo de infeções hospitalares que elaboram procedimentos para a prevenção das infeções nosocomiais. É também importante que os protocolos de higienização sejam padronizados e que a monitorização da carga fúngica na água e das superfícies seja realizada periodicamente.

A implementação da regulamentação energética, em vigor em Portugal, tem sido importante numa perspetiva do conforto, diminuição do consumo de energia e do controlo de poluentes no ar interior, e permitiu elevar os padrões de construção existentes no que diz respeito à redução das necessidades energéticas nos edifícios. A legislação atual onde se indicam os valores máximos admissíveis de fungos no ar interior (Decreto-Lei nº 79/2006 de 4 de Abril) veio dar resposta positiva a estes problemas, exigindo a sua aplicação a todos os novos edifícios ou a todos os que sofram grandes remodelações. Mas existem outros fatores que terão no futuro de ser contemplados com mais atenção, como a carga fúngica nas superfícies e no ar interior dos edifícios públicos, bem como nas habitações próprias. É uma problemática muito mais abrangente, sendo necessário que surjam mais estudos para uma melhor compreensão do problema. A qualidade das superfícies como local de desenvolvimento ou deposição de fungos, e do ar interior como elemento de dispersão dos fungos, terá cada vez mais relevância constituindo uma questão de saúde pública.

A legislação em Portugal e na Região Autónoma dos Açores é insuficiente para o caso específico dos hospitais. Este estudo abre o caminho para se desenvolverem novos estudos que permitam estabelecer uma correlação entre os géneros/espécies de fungos presentes no ambiente hospitalar com o risco de infeção nosocomial. Por outro lado, outros estudos permitirão que as entidades legisladoras possam tomar decisões relativamente aos valores máximos admissíveis de Unidades Formadoras de Colónias (UFC) para os hospitais. Os hospitais são edifícios que rececionam pacientes e respetivos acompanhantes, e também o internamento de pacientes que podem estar imunocomprometidos. A ocorrência de infeções nosocomiais aumenta

---

o tempo de permanência por internamento, o que aumenta conseqüentemente os custos para o paciente, para a administração hospitalar e para o Estado Português.

---

## Capítulo VI

### Bibliografia

Aires, E. Avaliação de custos associados à infeção do local cirúrgico nos serviços de cirurgia geral dos Hospital geral Santo António. [Dissertação de Mestrado] **2011**. Lisboa. Universidade Católica Portuguesa.

Aly, R. Ecology and Epidemiology of Dermatophyte Infections. *J Am Acad Dermatol* **1994**; 31: 21-25

American College of Occupational and Environmental Management (ACOEM). Adverse Human Health Effects Associated with Molds in the Indoor Environment. Health Effects Associated with Molds Council on Scientific Affairs. *JOEM*, **2003**; 45:470-478

(a) Anaissie EJ, Stratton SL, Dignani MC, et al. Pathogenic *Aspergillus* species recovered from a hospital water system: a 3-year prospective study. *Clin Infect Dis* **2001**; 34:780–789.

(b) Anaissie EJ, Kuchar RT, Rex JH, Francesconi A, Kasai M, Müller FM, Lozano-Chiu M, Summerbell RC, Dignani MC, Chanock SJ, Walsh TJ. Fusariosis and pathogenic *Fusarium* species in a hospital water system: a new paradigm for the epidemiology of opportunistic mould infections. *Clin Infect Dis* **2001**;33:1871-1878.

(a) Anaissie EJ, Penzak SR, Dignani C. The hospital water supply as a source of nosocomial infections: a plea for action. *Arch Intern Med* **2002**;162:1483-1492

(b) Anaissie, EJ,Stratton, S L,Dignani, M C, Lee Choon-Kee, Mahfouz Tahsine H., Rex John H, Summerbell, R C Walsh TJ. Cleaning Patient Shower Facilities: A Novel Approach to Reducing Patient Exposure to Aerosolized *Aspergillus* Species and Other Opportunistic Molds. *Clin Infect Dis* **2002**; 35: 86-88.

---

Ara k, Aihara M, Ojima M, Toshima Y, Yabune C, Ueda N, Tanaka T, Akiyama K, Takatori K. Survey of fungal contamination in ordinary houses in Japan. *Allergol Int* **2004**; 53: 369-377.

Araujo, R, Amorim, A, Gusmão, L. Genetic diversity of *Aspergillus fumigatus* in indoor hospital environments. *Med Mycol* **2010**; 48: 832-838.

Arvanitidou M, Spaia S, Velegaki A, et al. High level of recovery of fungi from water and dialysate in haemodialysis units. *J Hosp Infect* **2000**; 45:225-230.

Asadi, E; da Silva, MCG, Costa, JJ. A systematic indoor air quality audit approach for public buildings. *Environm Monitor Assess* **2013**; 185: 865-875.

Ascioglu, S, Rex, JH, de Pauw, B, Bennett, JE, Bille, J, Crokaert, F, Denning, DW, Donnelly, JP, Edwards, J E, Erjavec, Z, Fiere, D, Lortholary, O, Maertens, J, Meis, JF, Patterson, TF, Ritter, J, Selleslag, D, Shah, PM, Stevens, DA, Walsh, TJ Defining Opportunistic Invasive Fungal Infections in Immunocompromised Patients with Cancer and Hematopoietic Stem Cell Transplants: An International Consensus. *Clin Infect Dis* **2002**; 34:7–14.

Barbosa J, Vieira R, Costa J, Moreira L, Fernandes A, Madeira C, Afonso C, Oliveira R, Carvalho C. Prevalence of *Aspergillus* sp in Portuguese Infant and Elementary Schools. *Air & Water Borne Dis*, **2012**; 1:103-105.

Boff, C. Monitoramento de fungos no ar de unidades de terapia intensiva. [Dissertação de Mestrado] **2011**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Ciências Pneumológicas.

Coleman, D, Sullivan, D, Bennet, GP, Moran, G, Barry, H, Shaley, D. Candidiasis, the emergence of a novel species, *Candida dubliniensis*. *AIDS* **1997**; 11: 557–567.

Costa, AC, Noriega, E, Gaspar, MJ. Relatório da campanha acional de higiene das mãos. Ministério da Saúde. Direção Geral de Saúde. **2010**; 17 pp.

Dasbach EJ, Davies GM, Teutsch SM. Burden of aspergillosis-related hospitalizations in the United States. *Clin Infect Dis* **2000**; 31:1524-1528.

---

Demitto, FO, do Amaral, RCR, Biasi, RP, Guilhermetti, E, Svidzinski, TIE, Baeza, LC. Antifungal susceptibility of *Candida* spp. *in vitro* among patients from Regional University Hospital of Maringá-PR. *J Bras Patol Med Lab* **2012**; 48: 315-322.

Degreef, H. Clinical Forms of Dermatophytosis (Ringworm Infection). *Mycopathologia* **2008**; 166: 257-265.

Desnos-Ollivier, M, Ragon, M, Robert, V, Raoux, D, Gantier, J-C, Dromer, F. *Debaryomyces hansenii* (*Candida famata*), a rare human fungal pathogen often misidentified as *Pichia guilliermondii* (*Candida guilliermondii*). *J Clin Microbiol* **2008**; 46: 3237-3242.

Einsele, H, Quabeck, K, Muller, KD, Hebart, H, Rothenhofer, I, Loffler, J, Schaefer, UW. Prediction of invasive pulmonary aspergillosis from colonization of lower respiratory tract before marrow transplantation. *Lancet* **1998**; 352: 1443.

European Federation of Allergy and Airways Diseases Patients Associations (EFA). Towards Healthy Air in Dwellings in Europe. *The THADE Report*. **2004**. <http://www.efanet.org/activities/documents/THADEReport.pdf> (Acedido 15 Janeiro 2012)

Faure O, Fricker-Hidalgo H, Lebeau B, Mallaret MR, Ambroise-Thomas P, Grillot R (2002). Eight- year surveillance of environmental fungal contamination in hospital operating rooms and haematological units. *J Hosp Infect* **2002**; 50: 155-60.

Fernandes, DAC. Ocorrência de fungos e bactérias em águas não tratadas destinadas a consumo humano. [Dissertação de Mestrado] **2008**. Lisboa. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa.

Fisher, G, Dott, W. Relevance of airborne fungi and their secondary metabolites for environmental, occupational, and indoor hygiene. *Arch Microbiol* **2003**;179: 75-82.

Freitas, G. Fungos. In Microbiologia (Coord. Wanda F. Canas, João Carlos F. de Sousa, Nelson Lima) 2010. LIDEL. Edições técnicas. Lisboa. 622 pp.

---

Gambale W, Croce J, Costa-Manso E, Croce, MS. Library fungi at the University of São Paulo and their relationship with respiratory allergy. *J Invest Allergol Clin Immunol* **1993**; 3:45-50.

Gangneux JP, Bretagne S, Cordonnier C, Datry A, Derouin F, Grillot R, Kauffmann-Lacroix C., Lebeau B., Morin O., Nicolle MC, Piens MA, Poirot JL. Prevention of nosocomial fungal infection: the French approach. *Clin Infect Dis* **2002**; 35:343-346

Gniadek, A, Macura, A B., Oksiejczuk, E, Krajewska-Kułak, E, Łukaszuk, C. Fungi in the air of selected social welfare homes in the Małopolskie and Podlaskie provinces—a comparative study *Int Biodeterioration & Biodegradation* **2005**; 55: 85-91.

Grigoriu, D, Delacrétaz, J, Borelli, D *in* Medical Mycology **1987**. Ed F. Hoffmann-LaRoche & Co. Limited. 473 pp.

Groll AH, Shah PM, Mentzel C, Schneider M, Just-Nuebling G, Huebner K. Trends in the postmortem epidemiology of invasive fungal infections at a university hospital. *J Infect* **1996**; 33: 23-32.

Groll AH, Walsh TJ. Antifungal chemotherapy: advances and perspectives. *Swiss Med Wkly* **2002**; 132:303-311.

Gutiérrez, J, Morales, P, González, MA, Quindós, G. *Candida dubliniensis*, a new fungal pathogen. *J Basic Microbiol* **2002**; 42: 207–227

Hadrich, I, Makni, F, Ayadi, A, Ranque, S. Microsatellite typing to trace *Aspergillus flavus* infections in a hematology unit. *J Clin Microbiol* **2010**; 48: 2396–2401

Hageskal, Gunhild; Lima, Nelson; Skaar, Ida. The study of fungi in drinking water. *Mycological research*, **2009**, 113: 165-172.

Hajjeh RA, Warnock DW. Counterpoint: invasive aspergillosis and the environment—rethinking our approach to prevention. *Clin Infect Dis* **2001**; 33:1549-1552.

Hardin BD, Kelman BJ, Saxon A. Adverse human health effects associated with molds in the indoor environment. *J Occup Environ Med* **2003**; 45: 470-478.

---

Horta Lopes, DJ. Problemas fitossanitários e fauna auxiliar dos citrinos. Edição do Centro de Biotecnologia dos Açores. 2008. Angra do Heroísmo. 80 pp.

Hu, Y, Zhang, J, Li, X, Yang, Y, Zhang, Y, Ma, J, Xi, L. *Penicillium marneffeii* Infection: An Emerging Disease in Mainland China. *Mycopathologia* **2012**; 1-11.

Huq A, Whitehouse CA, Grim CJ, Alam M, Colwell RR. Biofilms in water, its role and impact in human disease transmission. *Curr Opin Biotechnol* **2008**;19: 244–247.

Jessup, C.J., J. Warner, N. Isham, I. Hasan and M.A. Ghannoum, 2000. Antifungal susceptibility testing of dermatophytes: Establishing a medium for inducing conidial growth and evaluation of susceptibility of clinical isolates. *J Clin Microbiol* **2000**; 38: 341-344.

Kanbe T. Molecular Approaches in the Diagnosis of Dermatophytosis. *Mycopathologia*. **2008**; 166:307-317.

Karwowska, E. Microbiological Air Contamination in Some Educational Settings. *Polish J Environ Studies* **2003** 12: 181-185.

Khodavaisy S, Nabili M, Davari B, Vahedi M. Evaluation of bacterial and fungal contamination in the health care workers' hands and rings in the intensive care unit. *J Prev Med Hyg* **2011**; 52:215-8.

Kontoyiannis DP, Bodey GP. Invasive aspergillosis in 2002: an update. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **2002**; 21:161-172.

Kordbacheh P, Zaini F, Kamali P, Ansari K, Safara M. Study on the Sources of Nosocomial Fungal Infections at Intensive Care Unit and Transplant Wards at a Teaching Hospital in Tehran. *Iranian J Publ Health* **2005**, 34,.1-8

Lacroix C, Pavie J, Bouakline A, Raffoux E, Feuilhade M, Dombret H, Molina JM, Derouin F. Fungal contamination of hospital healthcare workers' overalls. *J Hosp Infect* **2007**; 66: 88-90.

Li, DW, Yang, CS. Notes on indoor fungi I: New records and noteworthy fungi from indoor environments. *Mycotaxon* **2004**; 89: 473-478.

---

Lima, JPB. A utilização de equipamentos de protecção individual pelos profissionais de enfermagem: práticas relacionadas com o uso de luvas. [Dissertação de Mestrado] **2008**. Guimarães: Universidade do Minho.

Meessen, NEL, Oberndorff, KME, Jacobs, JA Disseminated aspergillosis in a premature neonate. *J Hosp Infect* **1998**; 40: 249-251.

Moran, GP, Sullivan, DJ, Henman, MC, McCreary, EC, Harrington, BJ, Shanley, DB, Coleman. DC. Antifungal drug susceptibilities of oral *Candida dubliniensis* isolates from human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non-HIV-infected subjects and generation of stable fluconazole-resistant derivatives in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* **1997**; 41: 617-623.

Morrison VA, Haake RJ, Weisdorf DJ. The Spectrum of non-*Candida* fungal infections following bone marrow transplantation. *Medicine* **1993**;72:78-89.

Nielsen, KF. Mycotoxin production by indoor molds. *Fun Gen Biol* **2003**; 39: 103-117.

Nir-Paz, R, Elinav, H, Pierard, G E, Walker, D, Maly, A, Shapiro, M, Barton, R C, Polacheck, I Deep Infection by *Trichophyton rubrum* in an Immunocompromised Patient. *J Clin Microbiol* **2003**; 41:5298–5301.

Nucci, M, Anaissie, E. *Fusarium* infections in immunocompromised patients. *Clin Microbiol Rev* **2007**; 20: 695-704.

Nzeako, B. C., et al. Correlation Between Sedimentation Plate and Surface Swab in the Isolation of Fungi from the Hospital Wards. *Int J Microbiol Res* **2011**; 2: 129-134.

Palmisano, A, Benecchi, M, De Filippo, M, Maggiore, U, Buzio, C, Vaglio, A. *Candida* sake as the causative agent of spondylodiscitis in a hemodialysis patient. *The Spine J*, **2011**; 11: e12-e16.

Palomar, M, Rodríguez, P, Nieto, M, Sancho, S. Prevención de la infección nosocomial en pacientes críticos. *Med Int*, **2010**; 34: 523-533.

---

Panagopoulou P, Filioti J, Farmaki E, Maloukou A, Roilides E. Filamentous fungi in a tertiary care hospital: environmental surveillance and susceptibility to antifungal drugs. *Infect Control Hosp Epidemiol* **2007**; 28:60-67.

Pantoja, LDM, Couto, MS, Paixão, GC. Diversidade de Bioaerossóis presentes em ambientes urbanizados e preservados de um Campus universitário. *Biológico*, **2007**; 69: 41-47.

Passos, XS. Caracterização de fungos envolvidos em infecções nosocomiais [Tese de Doutorado] **2007**. Universidade federal de Goiás. Instituto de patologia tropical e saúde pública. Brasil.

Perea S, Ramos MJ, Garau M, Gonzalez A, Noriega AR, del Palacio A. Prevalence and risk factors of tinea pedis in the general population in Spain. *J Clin Microbiol*. 2000;38:3226–30. Perfect JR, Schell WA The new fungal opportunists are coming. *Clin Infect Dis* **1996**; 22 (Suppl. 2):S112–S118.

Pereira, KC; dos Santos, CF. Micotoxinas e seu potencial carcinogênico. *Ensaio e Ciência*, **2011**; 15: 147-165.

Pereira, RS, Ueno, M. Ants as carriers of microorganisms in hospital environments. *Rev. Soc Bras Med Trop* **2008**; 41: 492-495.

Pimentel, T, Horta Lopes, DJ, Cabrera, R, Borges, PAV, da Câmara Machado, A, Mumford, JD, Mexia, A. Problemas fitossanitários e fauna auxiliar das macieiras na ilha Terceira. Edição do Centro de Biotecnologia dos Açores. Angra do Heroísmo. **2009**. 77 pp.

Pina, E, Silva, G, Ferreira, E Relatório Inquérito de Prevalência de Infecção 2010. Programa Nacional de Prevenção e Controlo da Infecção Associada aos Cuidados de Saúde. Ministério da Saúde. Direção Geral de Saúde. **2010**; 16 pp.

Pina, E, Ferreira, E, Marques, A, Matos, B. Infecções associadas aos cuidados de saúde e segurança do doente. *Rev Port Saúde Pública*, **2010**; 10: 27-39.

- 
- Pontius, FW. Water Quality and Treatment: A Handbook of Community Water Supplies. 4th Ed. American Water Works Association. McGraw-Hill, Inc. New York. USA. 1990.
- Raja, NS e Singh, NN. Disseminated invasive aspergillosis in an apparently immunocompetent host. *J Microbiol Immunol Infect* **2006**; 39: 73-77.
- Richardson, M. Opportunistic and pathogenic fungi. *J Antimicrob Chemother* **1991**; 28 (suppl A): 1-11.
- Richardson, M, Lass-Flörl, C. Changing epidemiology of systemic fungal infections. *Clin Microbiol Infect* **2008**; 14: 5-24.
- Rocha, MSM. Pesquisa do antígeno Galactomannan em lavados broncoalveolares na detecção precoce de aspergilose invasiva em doentes imunodeprimidos. [Dissertação de Mestrado] **2012**. Porto. Universidade Católica Portuguesa.
- Roehm, CE, Salazar, JC, Hagstrom, N, Valdez, TA. Phoma and Acremonium invasive fungal rhinosinusitis in congenital acute lymphocytic leukemia and literature review. *Int J Ped Otorhinol*, **2012**.
- Rolka H, Krajewska-Kułak E, Łukaszuk C, Oksiejczuk E, Jakoniuk P, Leszczyńska K, Niczyporuk W, Penar-Zadarko B. Indoor air studies of fungi contamination of social welfare home in Czerewki in north-east part of Poland. *Ann Acad Med Bialostoc* **2005**; Suppl. 50, 26-30.
- Saballs-Radresa, P, Lopez-Colomes, JL, Gimeno-Cobos, J, Knobel, H. Invasive aspergillosis: treatment *Rev Iberoam Micol* **2000**; 17: S93-96.
- Sanguessuga, MSG. Síndrome dos edifícios doentes: estudo da qualidade do ar interior e despiste da eventual existência de SED entre a população do edifício “E” de um estabelecimento de ensino superior. [Dissertação de Mestrado] **2012**. Lisboa: Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa/Instituto Politécnico de Lisboa.

---

Santana, WO; Fortuna, JL. Microbiota de aparelhos de ar condicionado das áreas críticas de hospitais públicos e particulares e sua relação com as infecções hospitalares. *Rev Bioc* **2012**; 18.1.

Saunders, CW, Scheynius, A, Heitman, J. Malassezia Fungi Are Specialized to Live on Skin and Associated with Dandruff, Eczema, and Other Skin Diseases. *PLoS Pathogens*, **2012**; 8: e1002701.

Sautour, M.; Sixt, N.; Dalle, F.; L'Ollivier, C.; Calinon, C.; Fourquenot, V.; Thibaut, C.; Jury, H, Lafon, I, Aho, S, Couillault, G., Vagner, O, Cuisenier, B, Besancenot, JP, Caillot, D, Bonnin, A. Prospective survey of indoor fungal contamination in hospital during a period of building construction. *J Hosp Infect* **2007**; 67: 367-373.

Schirmer WN, Pian LB, Szymanski MSE, Gauer MA. A poluição do ar em ambientes internos e a síndrome dos edifícios doentes. *Ciência & Saúde Coletiva*, **2011**; 16: 3583-3590.

Sifuentes-Osornio, J, Corzo-León, DE, Ponce-de-León, LA. Epidemiology of Invasive Fungal Infections in Latin America. *Curr Fun Infect Rep* **2012**; 1-12.

Simoni M, Jaakkola M S, Carrozzi L, Baldacci S, Di Pede F, Viegi G. Indoor air pollution and respiratory health in the elderly. *Eur Resp J* **2003**; Suppl. 40, 15s–20s.

Siqueira, VM, Oliveira, HMB, Santos, C, Paterson, RRM, Gusmão, NB, Lima, N. Filamentous fungi in drinking water, particularly in relation to biofilm formation *Int J Environ Res Public Health* **2011**; 8: 456-469.

Soares, ICM. Aeromicologia hospitalar. [Dissertação de Mestrado] **2009**. Aveiro. Universidade de Aveiro.

Tan, AL, Wang, GCY, Chiu, YW. *Candida dubliniensis* infection, Singapore. *Emerg. Infect. Dis* **2002**; 8: 445-446.

Torres-Rodríguez JM, Lo´pez-Jodra O. Epidemiology of nail infection due to keratinophilic fungi. *Rev Iberoam Micol.* **2000**;17:1–12.

---

Trofa D, Gácsér A, Nosanchuk JD. *Candida parapsilosis*, an Emerging Fungal Pathogen *Clin Microbiol Ver* **2008**; 21: 606–625.

Valdigen GL, Pereira T, Macedo C, Duarte ML, Oliveira P, Ludovico P, et al. A twenty-year survey of dermatophytosis in Braga, Portugal. *Int J Dermatol* **2006**;45: 822–827.

Varo SD, Martins CHG, Cardoso MJO, Sartori FG, Montanari LB e Pires-Gonçalves, RH Isolamento de fungos filamentosos em água utilizada em uma unidade de hemodiálise. *Rev Soc Bras Med Trop* **2007**; 40: 326-331.

Vasoo, S, Yong, LK, Sultania-Dudani, P, Scorza, ML, Sekosan, M, Beavis, KG, Huhn, GD. Phaeomycotic cysts caused by *Phoma* species. *Diagnostic microbiology and infectious disease* **2011**; 70: 531-533.

Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, Moreno R, Lipman, J, Sakr Y. Reinhard K et al. The extended prevalence of infection in the UCI study: EPIC II. International Advisory Committee. *JAMA*. **2010**; 302:1-49.

Vogeser M, Wanders A, Haas A, Ruckdeschel G. A four-year review of fatal aspergillosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* **1999**;18:42-45.

Vonberg RP, Gastmeier P. Nosocomial aspergillosis in outbreak settings. *J Hosp Infect* **2006**; 63:246-254.

Walsh TJ, Hiemenz JW, Anaissie E. Recent progress and current problems in treatment of invasive fungal infections in neutropenic patients. *Infect Dis Clin North Am* **1996**;10:365-400.

Walsh TJ, Pizzo PA. Nosocomial fungal infections: A classification for hospital-acquired fungal infections and mycoses arising from endogenous flora or reactivation. *Ann Rev Microbiol*, **1988**; 42: 517- 45.

Warnock, DW. Trends in the epidemiology of fungal invasive infections *Jpn J Med Micol* **2007**; 48:1-12.

---

Warris A, Gaustad P, Meis JF, Voss A, Verweij PE, Abrahamsen TG. Recovery of filamentous fungi from water in a paediatric bone marrow transplantation unit. *J Hosp Infect* **2001**; 47:143-148.

Warris A, Voss A, Abrahamsen TG, Verweij PE. Contamination of hospital water with *Aspergillus fumigatus* and other molds. *Clin Infect Dis* **2002**; 34:1159-1160.

Weitzman, I., Summerbell, RC. The dermatophytes. *Clin Microbiol Rev* **1995**;8: 240–259.

World Health Organization (WHO) Guidelines for Indoor Air Quality: Dampness and Mould **2009** <http://www.euro.who.int/pubrequest>. Acedido 14 de Setembro 2010.

Wu, F, Biksey, T, Karol, MH. Can mold contamination of homes be regulated? Lessons learned from radon and lead policies. *Environ Sci & Technol*, **2007**; 41: 4861-4867.

Xu, J, Saunders, CW, Hu, P, Grant, RA, Boekhout, T, Kuramae, EE, Kronstad, JW, De Angelis, YM, Reeder, Johnstone, Leland, M, Fieno, AM, Begley, WM, Sun, Y, Lacey, MP, Chaudhary, T, Keough, T, Chu, L, Sears, R, Yuan, B, Dawson, Jr, TL. Dandruff-associated *Malassezia* genomes reveal convergent and divergent virulence traits shared with plant and human fungal pathogens. *Proc Nat Acad Sci* **2007**; 104: 18730-18735.

---

## Legislação

**Diploma** Diretiva do Parlamento Europeu e do Conselho CE Nº 2002/91/CE

**Publicação** Jornal Oficial das Comunidades Europeias, L Série, Nº 001, 2003-01-04

**Diploma** Decreto-Lei Nº 78/2006

**Publicação** Diário da República, I-A Série, Nº 67, 2006-04-04

**Diploma** Decreto-Lei Nº 79/2006

**Publicação** Diário da República, I-A Série, Nº 67, 2006-04-04

**Diploma** Portaria Nº 461/2007

**Publicação** Diário da República, II Série, Nº 108, 2007-06-05

**Diploma** Decreto-Lei Nº 306/2007

**Publicação** Diário da República, I Série, Nº 164, 2007-08-27

**Diploma** Despacho Nº 10250/2008

**Publicação** Diário da República, II Série, Nº 69, 2008-04-08

**Diploma** Decreto Legislativo Regional Nº 16/2009/A

**Publicação** Diário da República, I Série, Nº 198, 2009-10-13

**Diploma** Portaria Nº 132/2009

**Publicação** Diário da República, I Série, Nº 21, 2009-01-30

---

## Anexo 1

### (Ficha de recolha de dados)

---

Estudo de Micologia no Hospital de Angra do Heroísmo  
Fichas de Recolha de Amostras de superfície e Água.  
Ano:2012

**Manhã** \_\_\_\_\_<sup>a</sup>Amostragem ( / /2012)

Serviço:\_\_\_\_\_ Janela Aberta\_\_\_; Janela Fechada \_\_\_.

Recolhas depois dos banhos (higienização dos pacientes)

Local da Amostra	Nº Amostra	Nº Registo	Hora	Cloro	Humidade	Temperatura	Aparelho Hora

Observações:\_\_\_\_\_

**Tarde** \_\_\_\_\_<sup>a</sup>Amostragem ( / /2012)

Serviço:\_\_\_\_\_ Janela Aberta \_\_\_; Janela Fechada\_\_\_.

Recolhas depois da desinfeção (higienização do local de banho)

Local da Amostra	Nº Amostra	Nº Registo	Hora	Cloro	Humidade	Temperatura	Aparelho Hora

Observações:\_\_\_\_\_

---

## Anexo 2

(Resultados do Estudo final)

Quadro 8: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina I (Homens), após higienização de pacientes (manhã de 25/01/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 25/01/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
48 (Chão)	--	1UFC/mL <i>Candida parapsilosis</i>	Negativo	--
49 (Assento Inox)	--	--	Negativo	--
50 (Parede)	4 UFC/mL <i>Ustilago spp.</i> 3 UFC/mL <i>Phoma spp.</i>	--	Negativo	--
51 (Água) (0,2 mg/L)	--	--		

Quadro 9: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina II (Mulheres), após higienização de pacientes (manhã de 25/01/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 25/01/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
52 (Chão)	1 UFC/mL <i>Penicillium spp.</i>	--	Negativo	--
53 Assento de Inox)	--	--	Negativo	--
54 (Parede)	--	--	Negativo	--
55 (Água) (0,1 mg/L)	--	--		

Quadro 10: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina I (Homens), após higienização da zona (tarde de 25/01/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 25/01/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
56 (Chão)	--	--	Negativo	--
57 (Assento de Inox)	--	--	Negativo	--
58 (Parede)	--	--	Negativo	--
59 (Água) (0,2 mg/L)	--	--		

Quadro 11: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina II (Mulheres), após higienização da zona (tarde de 25/01/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 25/01/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
60 (Chão)	--	--	Negativo	--
61 Assento de Inox)	--	--	Negativo	--
62 (Parede)	--	--	Negativo	--
63 (Água) (0,1 mg/L)	--	--	--	--

Quadro 12: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia I (Homens), após higienização de pacientes (manhã de 01/02/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 01/02/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
64 (Chão)	--	1 UFC/mL <i>Candida parapsilosis</i>	Negativo (*)	--
65 Assento Inox)	4 UFC/mL <i>Aspergillus versicolor</i>	--	Negativo (*)	--
66 (Parede)	4 UFC/mL <i>Aspergillus spp.</i>	--	Negativo (*)	--
67 (Água) (0,1 mg/L)	--	Incontável <i>Rhodotorula spp.</i>	---	

(\*) Bactérias em meio de cultura não especificado

Quadro 13: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia II (Mulheres), após higienização de pacientes (manhã de 01/02/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 01/02/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
68 (Chão)	1 UFC/mL <i>Aspergillus spp.</i>	--	Negativo (*)	--
69 (Assento Inox)	--	--	Negativo (*)	--
70 (Parede)	--	--	Negativo (*)	--
71 (Água) (0,2 mg/L)	--	Incontável <i>Rhodotorula spp.</i>		

(\*) Bactérias em meio de cultura não especificado

Quadro 14: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia I (Homens), após higienização da zona (tarde de 01/02/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 01/02/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
72 (Chão)	--	--	Negativo (*)	--
73 (Assento Inox)	--	--	Negativo (*)	--
74 (Parede)	--	--	Negativo (*)	--
75 (Água) (0,1 mg/L)	--	Incontável <i>Rhodotorula spp.</i>		

(\*) Bactérias em meio de cultura não especificado

Quadro 15: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia II (Mulheres), após higienização da zona (tarde de 01/02/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 01/02/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
76 (Chão)	2 UFC/mL <i>Aspergillus spp.</i>	--	Negativo (*)	--
77 (Assento Inox)	--	--	Negativo (*)	--
78 (Parede)	1 UFC/mL <i>Penicillium spp.</i> 1 UFC/mL <i>Aspergillus flavus</i> 3 UFC/mL <i>Aspergillus spp.</i> 39 UFC/mL <i>Aspergillus candidus</i>	--	Negativo (*)	--
79 (Água) (0,2 mg/L)	--	Incontável <i>Rhodotorula spp.</i>		

(\*) Bactérias em meio de cultura não especificado

Quadro 16: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Pediatria, após higienização de pacientes (manhã de 08/02/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 08/02/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
80 (Chão)	--	--	Negativo (*)	--
81 (Base Banheira)	--	1 UFC/mL <i>Candida famata</i>	Negativo (*)	--
82 Parede)	--	--	Negativo (*)	--
83 (Água) (Vestígios mg/L)	--	--		

(\*) Bactérias em meio de cultura não especificado

Quadro 17: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina III, após higienização de pacientes (manhã de 08/02/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 08/02/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
84 (Chão)	--	--	Negativo	--
85 (Base Duche)	--	--	Negativo	--
86 (Parede)	1 UFC/mL <i>Penicillium spp.</i>	--	Negativo	--
87 (Extrator)	1 UFC/mL <i>Penicillium spp.</i>	--	Negativo	--
88 (Água) (Vestígios mg/L)	--	--	--	

Quadro 18: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Pediatria, após higienização da zona (tarde de 08/02/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 08/02/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
89 (Chão)	--	--	Negativo	--
90 (Base Banheira)	--	--	Negativo	--
91 (Parede)	--	--	Negativo	--
92 (Água) (Vestígios mg/L)	--	--		

Quadro 19: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina III, após higienização da zona (tarde de 08/02/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 08/02/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
93 (Chão)	--	--	Negativo	--
94 (Base Duche)	9 UFC/mL <i>Penicillium</i> spp.	--	Negativo	--
95 (Parede)	1UFC/mL <i>Cladosporium</i> spp.	--	Negativo	--
96 (Extrator)	--	--	Negativo	--
97 (Água) (Vestígios mg/L)	1 UFC/500mL micélio estéril (**)	--		

(\*) Bactérias em meio de cultura não especificado

(\*\*) sem identificação

Quadro 20: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina I (Homens), após higienização dos pacientes (manhã de 15/02/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 15/02/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
98 (Chão)	--	3 UFC/mL <i>Candida albicans</i>	Negativo	--
99 (Assento Inox)	--	--	Negativo	--
100 (Parede)	....	--	Negativo	--
101 (Água) (0,2 mg/L)	--	--		

Quadro 21: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina II (Mulheres), após higienização dos pacientes (manhã de 15/02/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 15/02/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
102 (Chão)	138 UFC/mL <i>Penicillium spp.</i>	--	Negativo	--
103 (Assento Inox)	1 UFC/mL <i>Penicillium spp.</i>	7 UFC/mL <i>Candida glabrata</i>	Negativo	--
104 (Parede)	4 UFC/mL <i>Penicillium spp.</i>	--	Negativo	--
105 (Água) (0,4 mg/L)	--	--		

Quadro 22: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina I (Homens), após higienização da zona (tarde de 15/02/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 15/02/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
106 (Chão)	--	--	Negativo	--
107 (Assento Inox)	--	--	Negativo	--
108 (Parede)	--	--	Negativo	--
109 (Água) (Vestígios mg/L )	--	--		

Quadro 23: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina II (Mulheres), após higienização da zona (tarde de 15/02/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 15/02/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
110 (Chão)	22 UFC/mL <i>Penicillium</i> spp.	--	Negativo	--
111 (Assento Inox)	43 UFC/mL <i>Penicillium</i> spp.	--	Negativo	--
112 (Parede)	3 UFC/mL <i>Penicillium</i> spp.	--	Negativo	--
113 (Água) (0,4 mg/L)	--	--		

(\*) bactérias em meio de cultura não especificado

Quadro 24: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia I (Homens), após higienização dos pacientes (manhã 01/03/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 01/03/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
114 (Chão)	25 UFC/mL <i>Fusarium</i> spp.	2 UFC/mL <i>Candida parapsilosis</i> 3UFC/ml <i>Rhodotorula</i> spp.	Negativo (*)	--
115 (Assento Inox)	1 UFC/mL <i>Penicillium</i> spp.	3 UFC/ml <i>Candida parapsilosis</i>	Negativo (*)	11 UFC/cm <sup>2</sup> <i>Malassezia</i> spp.
116 (Parede)	244 UFC/mL <i>Phoma</i> spp.	--	Negativo (*)	--
117 (Água) (0,2 mg/L)	--	--		

(\*) Bactérias em meio de cultura não especificado

Quadro 25: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia II (Mulheres), após higienização dos pacientes (manhã 01/03/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 01/03/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
118 (Chão)	10 UFC/mL <i>Penicillium</i> spp.	--	Negativo (*)	--
119 (Assento Inox)	7 UFC/mL <i>Penicillium</i> spp.	--	Negativo (*)	--
120 (Parede)	9 UFC/mL <i>Phoma</i> spp.	--	Negativo (*)	--
121 (Água) (0,2 mg/L)	--	--		

(\*) Bactérias em meio de cultura não especificado

Quadro 26: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia I (Homens), após higienização da zona (tarde 01/03/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 01/03/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
122 (Chão)	371 UFC/mL <i>Fusarium</i> spp.	--	Negativo (*)	<i>Candida sake</i>
123 (Assento Inox)	6 UFC/mL <i>Penicillium</i> spp.	--	Negativo (*)	--
124 (Parede)	3 UFC/mL <i>Penicillium</i> spp. 2UFC/mL <i>Fusarium</i> spp.	--	Negativo (*)	--
125 (Água) (0,2 mg/L)	--	--		

(\*) Bactérias em meio de cultura não especificado

Quadro 27: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Cirurgia II (Mulheres), após higienização da zona (tarde 01/03/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 01/03/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
126 (Chão)	--	--	Negativo (*)	--
127 (Assento Inox)	4 UFC/mL <i>Penicillium</i> spp.	--	Negativo (*)	--
128 (Parede)	2 UFC/mL <i>Penicillium</i> spp.	--	Negativo (*)	--
129 (Água) (0,1 mg/L)	--	--		

(\*) bactérias em meio de cultura não especificado

Quadro 28: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Pediatria, após higienização dos pacientes (manhã 09/03/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 09/03/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
130 (Chão)	--	--	Negativo (*)	--
131 (Base Banheira)	--	--	Negativo	--
132 (Parede)	--	--	Negativo	--
133 (Água) (0,4 mg/L)	--	--		

(\*) Bactérias em meio de cultura não especificado

Quadro 29: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina III, após higienização dos pacientes (manhã 09/03/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 09/03/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
134 (Chão)	1 UFC/mL <i>Penicillium spp.</i>	--	Negativo (*)	--
135 (Base Duche)	--	--	Negativo (*)	--
136 (Parede)	1 UFC/ml <i>Penicillium spp.</i>	--	Negativo (*)	--
137 (Extrator)	--	--	Negativo	--
138 (Água) (0,0 mg/L)	--	--		

(\*) Bactérias em meio de cultura não especificado

Quadro 30: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Pediatria, após higienização da zona (tarde 09/03/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 09/03/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
139 (Chão)	--	--	Negativo	--
140 (Base Banheira)	--	--	Negativo (*)	--
141 (Parede)	--	--	Negativo	--
142 (Água) (0,4 mg/L)	--	--		

(\*) Bactérias em meio de cultura não especificado

Quadro 31: Número de UFC/mL para fungos filamentosos, leveduras e dermatófitos encontrados na zona de banho da Medicina III, após higienização da zona (tarde 09/03/2012).

<b>AMOSTRAGEM DIA 09/03/2012</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 5 dias (MEA)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>	<b>Incubação 25°C 15 dias (D+S)</b>
Amostra	Fungos Filamentosos	Leveduras	Dermatófitos	Leveduras
143 (Chão)	--	--	Negativo	--
144 (Base Duche)	--	--	Negativo	--
145 (Parede)	--	--	Negativo (*)	--
146 (Extrator)	--	--	Negativo	--
147 (Água) (0,0 mg/L)	--	--		

(\*) bactérias em meio de cultura não especificado

## Anexo 3

(Análise de SPSS)

### Análise de SPSS

Dados

	Antes da higienização	Depois da higienização
Medicina I	11	0
Medicina II	151	68
Medicina III	4	10
Cirurgia I	299	383
Cirurgia II	27	50
Pediatria	1	0

### Teste de Wilcoxon para amostras emparelhadas

A hipótese nula neste caso é que as medianas dos dois grupos de amostras emparelhadas (antes e depois de higienização) são iguais, ou seja a diferença entre a mediana do grupo 1 (antes) e 2 (depois) é igual a zero.

### Hypothesis Test Summary

	Null Hypothesis	Test	Sig.	Decision
1	The median of differences between antes_hyg and depois_hyg equals 0.	Related-Samples Wilcoxon Signed Rank Test	,753	Retain the null hypothesis.

Asymptotic significances are displayed. The significance level is ,05.

P=0,753

Como  $0,753 > 0,05$  então mantém-se a hipótese nula. Não existem diferenças significativas entre os resultados antes/depois da higienização nos diversos serviços.

## Anexo 4

(Localização do Arquipélago dos Açores e da Ilha Terceira)



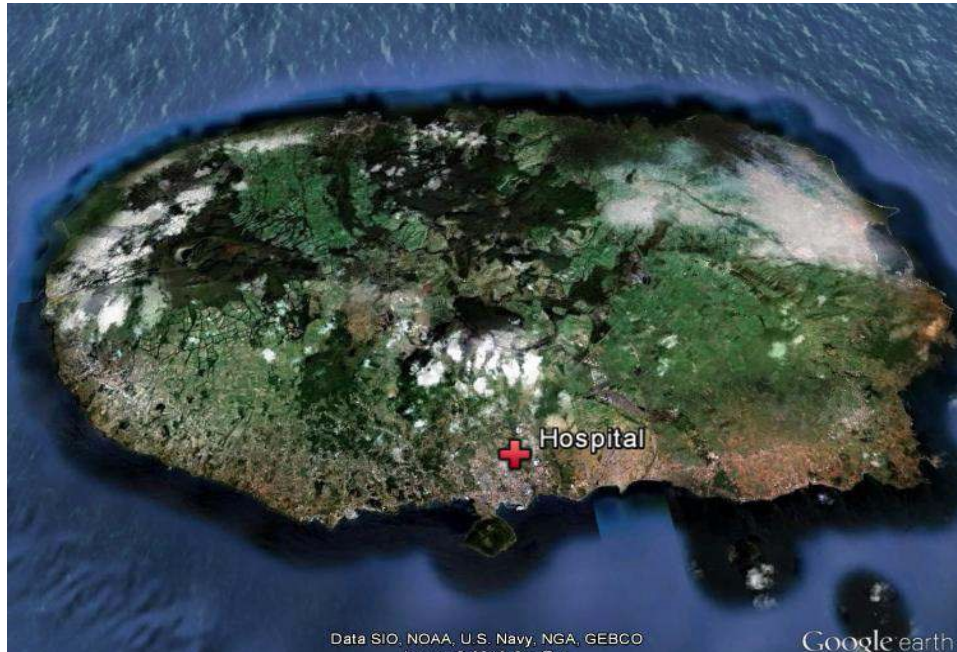
<http://www.guiageo-portugal.com/acoes-mapa.htm>



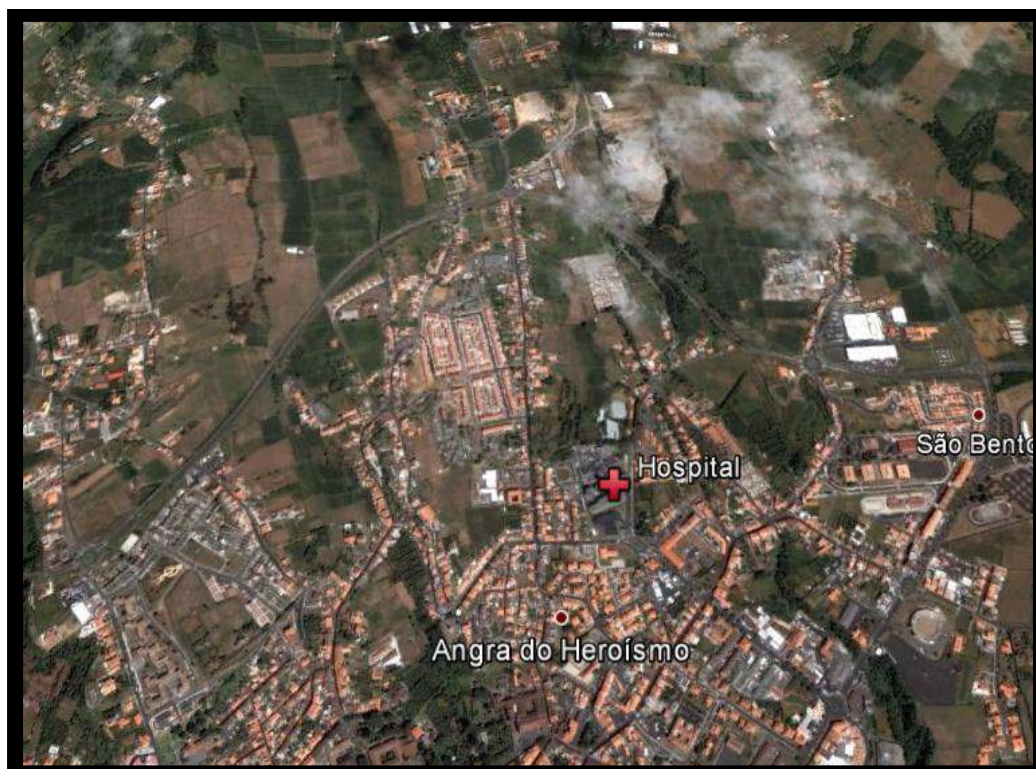
<http://borbitsmylife.blogspot.pt/2010/10/ilha-terceira-acoes.html>

## Anexo 5

(Localização do Hospital na Ilha Terceira)



Ilha Terceira do Aquipélago dos Açores

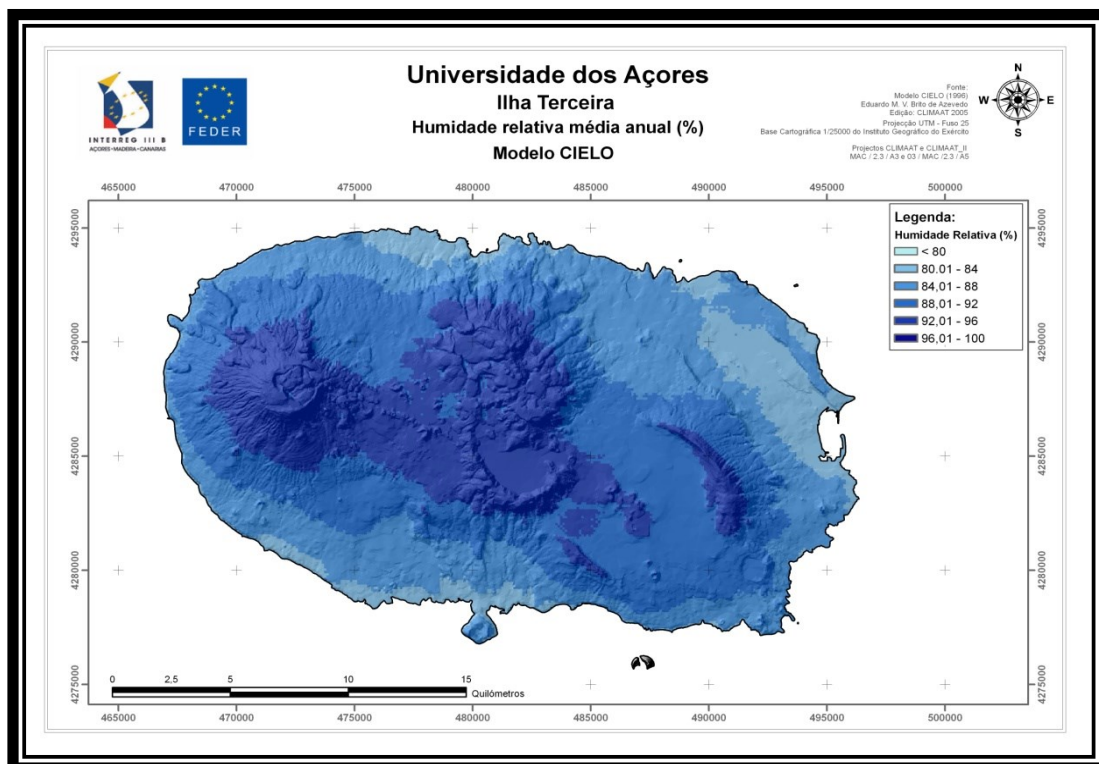
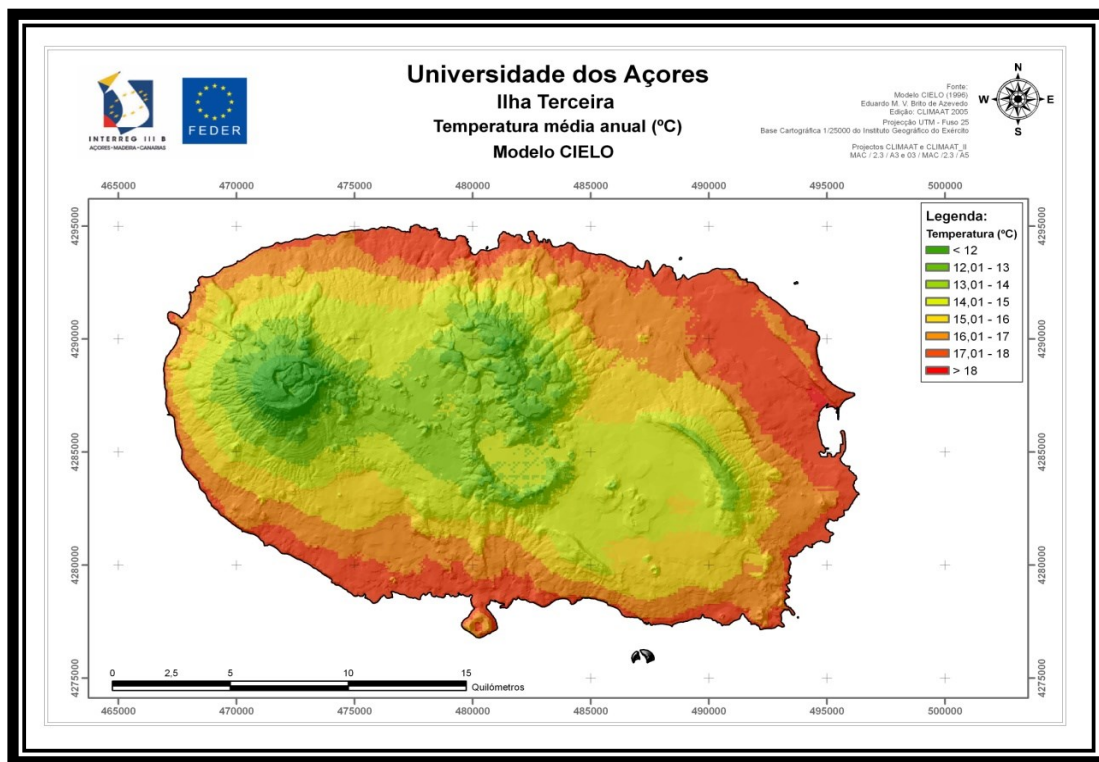


Cidade de Angra do Heroísmo na Ilha Terceira

Fonte: (Google earth)

## Anexo 6

(Temperatura e Humidade Relativa, média anual na Ilha Terceira/Açores)



(<http://www.climat.angra.uac.pt>)

## Anexo 7

(Autorização da Administração do Hospital)



REGIÃO AUTÓNOMA DOS AÇORES  
Secretaria Regional da Saúde  
Direcção Regional da Saúde  
HOSPITAL DE SANTO ESPÍRITO DE ANGRA DO HEROÍSMO, EPE

Exmo Senhor  
Marco António Linhares Rosa  
Rua Padre Sabino, nº 20  
9700-719 Angra do Heroísmo

Vossa referência  
Nº:  
Proc.:

Vossa comunicação de

Nossa referência  
Nº.: SAI-HSEAH/2011/625  
Proc.:

Angra do Heroísmo,  
18-04-2011

**Assunto:** Utilização de instalações para um estudo na área de micologia inserido na dissertação do mestrado em Eng. do Ambiente da UAç - mestrando: Marco António Linhares Rosa

Serve o presente para informar Vossa Exa. que o Conselho de Administração em reunião de 14-04-2011 autorizou o pedido acima mencionado.

Mais se informa que os Serviços de Medicina, Pediatria e Cirurgia devem ser informados com a devida antecedência dos dias e métodos de trabalho a serem aplicados

Com os melhores cumprimentos,

*Vogal do Conselho de Administração*

/ct

CONTRIBUNTE N.º 512 105 030  
Canada do Barreiro, 9700-856 Angra do Heroísmo  
E-mail: secretariado@hseah.org

Tel. Geral - 295 403 200 Secretariado 2954 03 215  
Fax Geral - 295 403 271 Secretariado 295 628 924

## Anexo 8

(Imagens de equipamento utilizado no estudo)



Foto: Marco Rosa

(24) Figura da estufa de Incubação das amostras do estudo final, na Universidade dos Açores.

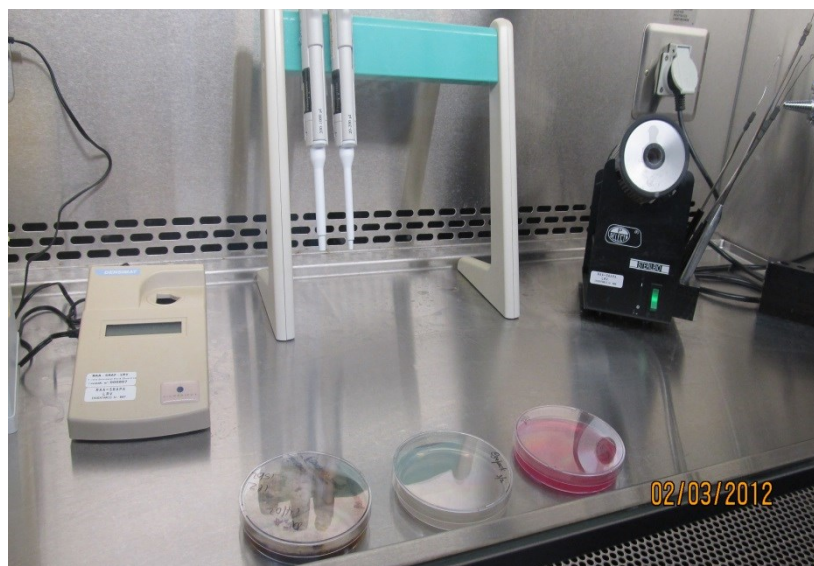


Foto: Marco Rosa

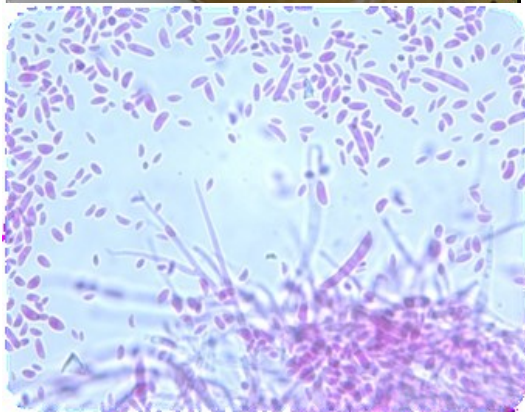
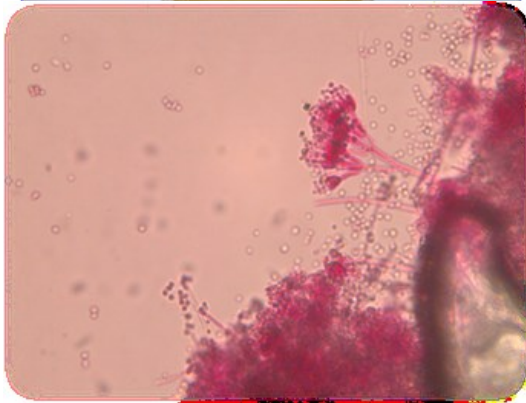
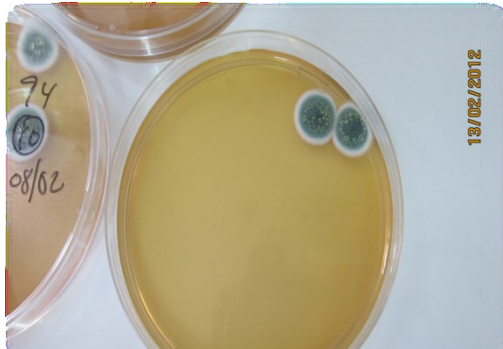
(25) Figura do Interior da câmara de fluxo laminar, utilizada para a repicagem, preparações e Api das amostras.

No Laboratório de Micologia do Laboratório Regional de Veterinária dos Açores

## Anexo 9

(Características macroscópicas e microscópicas de alguns fungos filamentosos identificados):

Fotos: Marco Rosa



### *Penicillium* spp.

**Características macroscópicas:**  
Colonias pulverulentas, cerebriformes, de cor esverdeado. Reverso de cor creme a castanho. Colónias circulares com borda regular e superfície lisa.

### **Características microscópicas:**

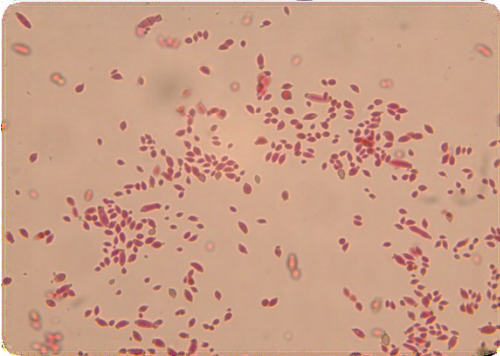
Hifas terminam em conióforos ramificados. Conidióforo verticilado, com formação de fiáides

### *Fusarium* spp.

**Características macroscópicas:**  
Colonias com vários tons de rosa, Forma circular, elevação convexa e textura felpuda.

### **Características microscópicas:**

Presença de microconídio em forma de barco e de macroconídios em forma de banana.



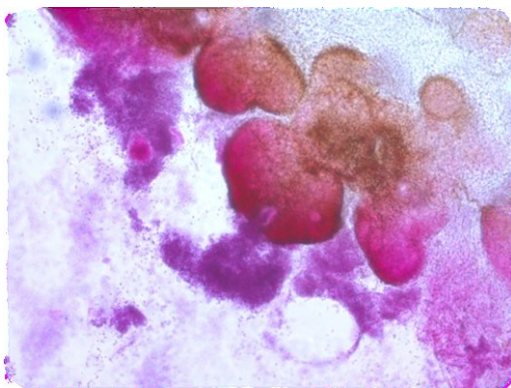
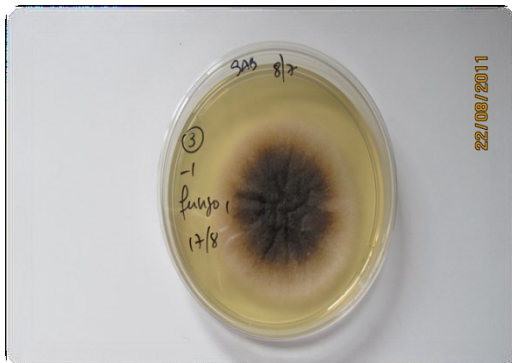
### *Cladosporium* spp.

#### **Características macroscópicas:**

Colônias rugosas castanhas ou negras com cinza, aveludado, tornando-se amontoados e ligeiramente dobradas. Reverso é preto.

#### **Características microscópicas:**

Conídios em cadeia



### *Phoma* spp.

#### **Características macroscópicas:**

Colônias pulverulentas ou aveludado, castanho acinzentado reverso é preto. Existe um pigmento avermelhado ao castanho que difunde em algumas espécies

#### **Características microscópicas:**

Conidióforo em forma de picnídio, estrutura arredondada com ostíolo - abertura para liberação de conídios.