



Rui Mário Baleia Liberato

Licenciado em Ciências da Engenharia Química e Bioquímica

Validação do processo de limpeza e desinfeção de superfícies da zona crítica da Secção de Injetáveis

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Química e Bioquímica

Orientador: Dr.^a Carla Palmira Loureiro Rodrigues Lamas,
Supervisora da Garantia de Qualidade,
Laboratórios Vitória, S. A.

Coorientadores: Professor Doutor Mário Fernando José Eusébio,
Professor Auxiliar,
Departamento de Química FCT NOVA

Júri:

Presidente: Professor Doutor Pedro Miguel Calado Simões
Professor Auxiliar com Agregação,
Departamento de Química FCT NOVA

Arguente: Professora Doutora Paula Maria Theriaga Mendes Bernardo Gonçalves,
Professora Associada,
Departamento de Ciências da Vida FCT NOVA

Vogal: Dr.^a Carla Palmira Loureiro Rodrigues Lamas,
Supervisora da Garantia de Qualidade,
Laboratórios Vitória, S. A.



FACULDADE DE
CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA

Setembro, 2019

Validação do processo de limpeza e desinfeção de superfícies da zona crítica da Seção de Injetáveis

Copyright © Rui Mário Baleia Liberato, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade Nova de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

“I have learned all kinds of things from my many mistakes.
The one thing I never learn is to stop making them.”

Joe Abercrombie

Agradecimentos

É nos tempos mais sofridos do percurso académico, como este, que se faz valer a ajuda dos demais que nos rodeiam. Desta forma, gostaria de agradecer a todos aqueles que me acompanharam ao longo desta jornada.

Em primeiro lugar, gostaria de agradecer aos Laboratórios Vitória pela oportunidade de realizar este estágio, pela forma que me acolheram, por todo o apoio que me deram durante a sua duração e por todo o tempo disponibilizado para me integrarem e aconselharem.

Um especial agradecimento à minha orientadora, Dra. Carla Lamas, por ter incentivado o meu espírito crítico e desenvolvimento da minha autonomia profissional.

Quero agradecer também ao meu coorientador, Professor Mário Eusébio, por me ter incentivado, apoiado e ter estado sempre disponível para esclarecer qualquer dúvida, ao longo destes últimos 2 anos.

Não me poderei nunca esquecer de agradecer os meus amigos e colegas de faculdade que me aturaram e lutaram ao meu lado ao longo destes 5 anos. Foi graças a eles que sempre continuei em frente e que defrontei todos os obstáculos no meu caminho. Assim, um agradecimento especial ao Miguel Palminha, à Sophia Xavier, ao João Lopes, ao Pedro Neto, ao David Enock, ao João Silva, ao Manuel Raposo e ao Arthur Margonari. Muito Obrigado por todos os bons tempos passados juntos, por todas adversidades enfrentadas juntas. Que esta amizade se mantenha forte e duradoura.

Aos meus amigos de longa data, cujo contacto mantenho e espero continuar a manter.

Aos mais novos, que apesar da parca diferença de experiência, tentei transmitir o que sabia e apoiar como podia e ao mesmo tempo, aprender e ser apoiado. Ao Bernardo e à Inês, obrigado.

À minha família, aos meus pais, aos meus avós, às minhas tias, um profundo agradecimento pela vossa presença, pela vossa preocupação, pelo vosso carinho, por todo o vosso esforço para garantir que tinha tudo o que precisava durante não só estes últimos 5 anos, mas durante os 22 anos da minha vida. Um agradecimento muito especial ao meu avô José, que me viu começar esta etapa final, mas não a pôde ver terminar. Muito Obrigado avô, sinto a tua falta.

Muito Obrigado a todos!

Resumo

A limpeza e desinfeção das superfícies das salas limpas através do uso de detergentes e desinfetantes, é um importante método de controlo de contaminação, controlado por um protocolo associado, de forma a garantir a mínima contaminação possível nas mesmas.

Assim, o principal objetivo deste trabalho é a requalificação do protocolo de limpeza e desinfeção, atualizando-o e sugerindo melhorias para um melhor funcionamento do mesmo.

Para tal, recorreu-se a uma análise de risco do tipo FMEA ao procedimento de limpeza e desinfeção, a uma análise do histórico de microrganismos, a um estudo da eficácia dos desinfetantes através de testes *in vitro* e *in situ* e a uma avaliação da compatibilidade dos desinfetantes utilizados entre si, com meios de cultura e materiais de sala limpa. No seguimento da análise de risco, foram identificados passos de alto risco, promovendo a diminuição do seu risco através da sugestão da implementação de medidas.

Foi verificado que os desinfetantes são compatíveis com os materiais, utilizáveis em regime de rotação, eficazes na sua função antimicrobiana, e adequados para os microrganismos mais comuns na zona crítica.

Após a requalificação do protocolo, foi sugerido uma substituição do detergente em uso, bem como uma substituição do desinfetante utilizado para fumigação.

Palavras-chave: Contaminação, limpeza e desinfeção de superfícies, análise de risco FMEA

Abstract

The cleaning and disinfection of cleanroom surfaces, through the usage of detergents and disinfectants, is an important contamination control method, controlled by an associated protocol, in order to guarantee its minimum possible contamination.

Therefore, the main objective of this work is the requalification of the cleaning and disinfection protocol, updating and suggesting improvements for a better performance.

To do so, a FMEA risk analysis to the cleaning and disinfection procedure, a microorganism's history analysis, a disinfectant efficacy study, through *in vitro* and *in situ* testes, and the evaluation of the compatibility between disinfectants, between disinfectants and growth mediums, between disinfectants and cleanroom materials were employed. Following the risk analysis, high risk steps were identified, and the implementation of measures to diminish their risk were suggested.

It was established that the disinfectants are compatible with the materials, usable in rotation regimen and effective in their antimicrobial functions, and adequate for the most common microorganisms in this critical zone.

After the protocol requalification, the replacement of the detergent in use was suggested, just as the replacement of the disinfectant used for fumigation.

Keywords: Contamination, cleaning and disinfection of surfaces, FMEA risk analysis

Índice

1.	Introdução	1
1.1.	Enquadramento	1
1.2.	Objetivos.....	3
2.	Limpeza e Desinfecção na Indústria Farmacêutica.....	5
2.1.	Qualidade Farmacêutica	5
2.1.1.	Sistema de Qualidade Farmacêutica	5
2.1.2.	Boas Práticas de Fabrico ou Good Manufacturing Practices (GMP).....	6
2.1.3.	Autoridade Farmacêutica	6
2.2.	Limpeza e Desinfecção.....	7
2.2.1.	Salas limpas	8
2.2.2.	Limpeza	9
2.2.3.	Desinfecção.....	10
2.2.4.	Monitorização	12
2.3.	Mecanismos de Ação de Desinfetantes.....	13
3.	Materiais e Métodos.....	17
3.1.	Fluxograma de Etapas	17
3.1.1.	Apresentação dos Materiais utilizados.....	17
3.1.2.	Apresentação dos Produtos utilizados.....	18
3.1.3.	Fardamento e equipamentos de proteção individual (EPIs)	19
3.1.4.	Utensílios de Limpeza	19
3.2.	Revisão de Procedimento Técnico de Limpeza e Desinfecção.....	20
3.2.1.	Procedimento Geral de Limpeza e Desinfecção.....	21
3.3.	Análise de Risco para escolha de piores casos.....	22
3.4.	Avaliação de Compatibilidades	22
3.5.	Neutralização.....	24
3.6.	Esterilidade Durante Utilização	25
3.7.	Histórico de microrganismos da Secção de Injetáveis.....	25
3.8.	Estudo de Eficácia Antimicrobiana.....	25
3.8.1.	Avaliação <i>in vitro</i>	25
3.8.2.	Avaliação <i>in situ</i>	27
3.9.	Monitorização	28
3.10.	Verificação do Processo de Limpeza e Desinfecção.....	28
3.11.	Análise de Risco e Efeito ao processo de limpeza	29

4.	Apresentação e discussão dos resultados obtidos.....	32
4.1.	Análise de Risco para escolha dos piores casos.....	32
4.1.1.	Seleção dos Pontos de Amostragem.....	32
4.1.2.	Seleção do dia de Amostragem.....	35
4.2.	Avaliação de Compatibilidades.....	37
4.2.1.	Avaliação de Compatibilidades entre Desinfetantes e Materiais.....	37
4.3.	Neutralização.....	42
4.4.	Esterilidade Durante Utilização.....	44
4.5.	Histórico de microrganismos da Secção de Injetáveis.....	46
4.6.	Estudo de Eficácia Antimicrobiana.....	49
4.6.1.	Avaliação <i>in vitro</i>	49
4.6.2.	Avaliação <i>in situ</i>	52
4.7.	Monitorização.....	56
4.7.1.	Monitorização Microbiológica da água PPI.....	56
4.7.2.	Monitorização de Entradas.....	57
4.8.	Verificação do Processo de Limpeza e Desinfecção.....	57
4.9.	Análise de Risco e Efeito ao processo de limpeza.....	64
5.	Conclusões e propostas de trabalho futuras.....	68
	Referências Bibliográficas.....	70
	Anexo A – Histórico de Microrganismos.....	77

Índice de Tabelas

Tabela 2.1 - Classificação das salas limpas a nível de contaminação microbiológica.....	12
Tabela 2.2 – Classificação de salas limpas a nível de contaminação por partículas	12
Tabela 3.1 – Superfícies existentes na Zona Crítica e Materiais constituintes.....	18
Tabela 3.2 – Produtos utilizados e respetivas diluições	18
Tabela 3.3 - Fardamento e equipamentos de proteção individual recomendados e utilizados na Secção de Injetáveis	19
Tabela 3.4 – Utensílios de Limpeza utilizados na Secção de Injetáveis	19
Tabela 3.5 - Programas de limpeza e desinfecção de superfícies em vigor na Secção de Injetáveis	20
Tabela 3.6 – Teste de Avaliação de Compatibilidades entre Desinfetantes e Materiais.....	23
Tabela 3.7 – Químicos neutralizantes para os desinfetantes a testar	25
Tabela 3.8 - Teste de Esterilidade de Desinfetantes	26
Tabela 3.9 Teste de Eficácia <i>In Situ</i> do desinfetante Spor-Klenz.....	27
Tabela 3.10 – Teste de verificação do processo de limpeza e desinfecção	28
Tabela 3.11 – Escala de Avaliação de cada Parâmetro	30
Tabela 3.12 – Cálculo de Números de Prioridade de Risco	31
Tabela 3.13 – Fatores de Risco e Ações correspondentes	31
Tabela 4.1 – Pontos de amostragem, respetivos graus EU GMP e técnica utilizada para amostragem.....	33
Tabela 4.2 – Níveis de grau EU GMP de Sala Limpa e respetivos fatores	33
Tabela 4.3 – Níveis de exposição ao produto e respetivos fatores	34
Tabela 4.4 – Níveis de probabilidade de contaminação e respetivos fatores	34
Tabela 4.5 – Níveis de Risco e respetivos fatores para a análise de risco dos pontos de amostragem.....	34
Tabela 4.6 - Tabela resumo do cálculo do risco potencial e pontos críticos selecionados para amostragem de superfícies	35
Tabela 4.7 – Níveis de períodos de tempo após última fumigação e respetivos fatores	36
Tabela 4.8 – Níveis de existência de possíveis fontes de contaminação e respetivos fatores ..	36
Tabela 4.9 - Níveis de Risco e respetivos fatores para a análise de risco do dia de amostragem	37
Tabela 4.10 - Tabela resumo do cálculo do factor de risco potencial e dia de amostragem selecionado	37
Tabela 4.11 - Compatibilidades dos desinfetantes com os diferentes materiais existentes na Secção de Injetáveis	37
Tabela 4.12 – Tabela Resumo das Compatibilidades entre Materiais e Desinfetantes	38
Tabela 4.13 – Análise de compatibilidades entre os desinfetantes	42
Tabela 4.14 – Constituição das placas de contacto utilizadas na Secção de Injetáveis	43
Tabela 4.15 – Compatibilidade da placa de contacto com os microrganismos de referência....	43
Tabela 4.16 – Resultados do teste de Esterilidade durante Utilização dos Desinfetantes em Uso	44
Tabela 4.17 – Características dos microrganismos identificados no teste de Esterilidade	45
Tabela 4.18 - Tabela resumo de microrganismos mais frequentes na Secção de Injetáveis	48
Tabela 4.19 - Resultados documentais dos desinfetantes em relação às normas	49
Tabela 4.20 – Tabela resumo de resultados de contaminação (Resultados em UFC/25 cm ²)..	53
Tabela 4.21 – Percentagem de amostras com pelo menos 1 UFC	55

Tabela 4.22 - Tabela Resumo dos Microrganismos Identificados nas superfícies críticas dos Injetáveis, com respectivas Fontes de Contaminação e Características	55
Tabela 4.23 – Tabela resumo de resultados de teste de eficácia de Spor-Klenz (Resultados em UFC/25 cm2)	56
Tabela 4.24 – Análise microbiológica de Água PPI (UFC/100ml)	56
Tabela 4.25 – Entradas diárias na Sala Limpa	57
Tabela 4.26 – Resultados da Verificação da Etapa Inicial e da Sala de Filtração do Procedimento Técnico de Limpeza e Desinfecção	58
Tabela 4.27 – Resultados da Verificação da Sala de Enchimento e da Sala de Lavagens do Procedimento Técnico de Limpeza e Desinfecção.....	59
Tabela 4.28 – Resultados da Verificação da Sala de Preparação e do Corredor Interno do Procedimento Técnico de Limpeza e Desinfecção.....	60
Tabela 4.29 – Resultados da Verificação da Sala de Vestiário e da Etapa Final do Procedimento Técnico de Limpeza e Desinfecção	61
Tabela 4.30 - Duração das etapas do programa de desinfecção diário para cada desinfetante em teste	61
Tabela 4.31 – Análise de risco de tipo FMEA para o Procedimento de Limpeza e Desinfecção	64
Tabela A.1 – Incidência Total de Contaminantes no Ar - 1º Semestre 2019.....	77
Tabela A.2 – Incidência Total de Contaminantes no Fardamento - 1º Semestre 2019.....	78
Tabela A.3 – Incidência Total de Contaminantes nas superfícies - 1º Semestre 2019.....	79

Índice de Figuras

Figura 2.1 – Resumo dos mecanismos de ação de desinfetantes	14
Figura 3.1 – Ilustração do progresso das etapas e sub-etapas desenvolvidas	17
Figura 3.2 – Montagem do Carrinho	22
Figura 4.1 – Representação de zona crítica	32
Figura 4.2 - Compatibilidade entre Environ LpH e Materiais: Antes de teste, final de 1ª semana, final de 2ª semana. A – Painel de Sala Limpa; B – Epóxi; C – Inox; D – PVC; E - Vidro.....	39
Figura 4.3 - Compatibilidade entre Spor-klenz e Materiais: Antes de teste, final de 1ª semana, final de 2ª semana. A – Painel de Sala Limpa; B – Epóxi; C – Inox; D – PVC; E - Vidro.....	40
Figura 4.4 - Compatibilidade entre Vesta Syde SQ e Materiais: Antes de teste, final de 1ª semana, final de 2ª semana. A – Painel de Sala Limpa; B – Epóxi; C – Inox; D – PVC; E - Vidro.....	41
Figura 4.5 - Incidência de Contaminantes no Ar - 1º Semestre 2019.....	46
Figura 4.6 - Incidência de Contaminantes no Fardamento - 1º Semestre 2019.....	47
Figura 4.7 - Incidência de Contaminantes nas Superfícies - 1º Semestre 2019	47
Figura 4.8 - Percentagem de Frequência de contaminação acima de Alerta.....	54
Figura 4.9 - Percentagem de Frequência Mensal de Contaminação Acima do Alerta.....	54

Glossário

GMP = *Good Manufacturing Practices*

EMA = *European Medicines Agency*

FDA = *Food and Drug Administration*

ICH = *International Council for Harmonisation*

ISO = *International Organization for Standardization*

AIM = *Autorização de Introdução no Mercado*

HEPA = *High Efficiency Particulate Air*

DSMZ = *Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen*

ATCC = *American Type Culture Collection*

TSA = *Tryptic Soy Agar*

SDA = *Sabouraud Dextrose Agar*

USP = *United States Pharmacopeia*

1. Introdução

1.1. Enquadramento

A Indústria Farmacêutica é a responsável pela produção e distribuição de medicamentos. É uma área vasta, produzindo vários tipos de medicamentos, dos quais se destacam:

- de tipo sólido: comprimidos e cápsulas;
- de tipo líquido: xaropes e pulverizações nasais;
- de tipo semissólido: cremes e pomadas, e;
- de tipo injetável.

A produção de medicamentos contém vários perigos inerentes. A má formulação ou contaminação do produto podem causar danos severos na saúde do paciente, sendo que existem vários tipos de possíveis contaminantes:

- Sólidos, como partículas não viáveis e fibras;
- Químicos, como metais pesados e agente de limpeza;
- Biológicos, como bactérias, vírus e fungos.

Devido a estes perigos, a indústria farmacêutica é controlada através de regulações, como, na Europa, o *EudraLex*, mais especificamente o 1º volume para produtos destinados a uso humano. Essas regulações são então interpretadas e dinamizadas para facilitar a sua aplicação prática a diferentes sectores através de diretrizes, como os restantes volumes do *EudraLex*, ou as normas do ICH ou as normas ISO. A produção de medicamentos está intimamente ligada às diretrizes GMP, ou, Boas Práticas de Fabrico, que descrevem o “padrão mínimo que um fabricante deve atingir no seu processo de produção” [1]. Tais são estabelecidas pelo Volume 4 do *Eudralex*.

Na produção de medicamentos injetáveis, devido aos mesmos terem riscos superiores aos outros tipos de medicamentos, e devido à situação de ultrapassarem várias barreiras físicas do corpo humano e acederem diretamente ao interior do organismo, os regulamentos são mais estritos, logo, o seu controlo, através das diretrizes, é também mais específico.

Um factor importante nesses regulamentos é o controlo de contaminação durante a produção, visto necessitar-se de um sistema de produção asséptico. A principal forma de controlo é a de utilização de uma sala especial, denominada Sala Limpa, uma sala concebida para manter quantidades extremamente pequenas de partículas. Tal é conseguido através de [2]:

- Filtros HEPA, filtros de ar altamente eficientes, com uma capacidade de remover 99,95% de partículas com um tamanho superior a 0,3 µm;
- um controlo contínuo do nível de temperatura e humidade dentro da sala;
- antecâmaras com fluxos de ar, com um diferencial de pressão positivo, da área de grau de limpeza mais alta para a mais baixa;
- superfícies (chão, paredes, teto) lisas e com o mínimo de pontos inacessíveis possível, feitas com um material fácil de limpar e difícil de desgastar.

Para ajudar no controlo da contaminação, é necessário controlar quaisquer possíveis fontes de contaminação, cujas principais são [3]:

- Água;
- Ar;
- Pessoal;
- Superfícies;
- Itens transportados de/para as salas limpas;

Para a água e o ar, a contaminação é reduzida através de purificação e filtração, respetivamente, e com monitorizações regulares, enquanto que para os itens transportados, é reduzida com desinfecções prévias e com o uso de antecâmeras.

A contaminação do pessoal é reduzida através da utilização de fardamento próprio e controlo de movimentos para dentro/fora de salas limpas, no entanto, é impossível impedir toda a libertação de partículas. Estas partículas encontram-se com grandes quantidades de microrganismos, sendo que algumas dessas irão contaminar as superfícies da sala limpa. A contaminação em superfícies pode, em si, ser transferida de volta ao pessoal e ao ambiente por contacto, aumentando o risco de contaminação do produto.

Deste modo, um importante método de controlo de contaminação é a limpeza e desinfecção das superfícies das salas limpas, através do uso de detergentes e desinfetantes, controlado por uma cuidada estratégia de limpeza, de forma a garantir a mínima contaminação possível nas mesmas. A regulação envolvente com a limpeza e desinfecção de salas limpas é dada pelo Anexo 1 do 4º volume da *Eudralex*. Assim, é necessário um protocolo que documente o procedimento e o bom funcionamento desta limpeza e desinfecção, bem como qualquer outro procedimento que influencie o desempenho desta, como a investigação dos microrganismos mais frequentes, que influenciarão a escolha dos desinfetantes necessário, e análises à sua compatibilidade, eficiência e esterilidade.

A pertinência destes e doutros possíveis procedimentos, e de cada passo dos mesmos, é avaliada através da realização de uma análise de risco, do tipo FMEA, obedecendo a normas como as descritas no ICH Q9 e no ISO 31000 ou ISO 31010, com o objetivo de reavaliar e sugerir alternativas para o controlo ou método dos pontos de risco mais elevado.

Este protocolo é submetido a uma requalificação sempre que necessário, como após grandes e sistemáticas falhas no bom funcionamento do mesmo, ou após a revisão e alteração de uma regulamentação pertinente, de forma a manter-se atualizado em relação às mesmas, garantindo uma melhoria constante.

1.2. Objetivos

O principal objetivo deste trabalho é a requalificação do protocolo de limpeza e desinfeção, atualizando-o para os atuais desinfetantes em uso e sugerindo melhorias para um melhor funcionamento do mesmo.

As etapas deste trabalho são:

- Duas análises de risco, para identificar as superfícies e dias da semana pior caso, para descobrir os pontos e dias mais críticos para testes;
- Uma avaliação da compatibilidade entre os desinfetantes e os materiais das superfícies, os meios de cultura, e entre desinfetantes;
- Uma análise aos neutralizantes dos desinfetantes, e meios de cultura que os contenham, de forma a possibilitar a recolha de amostras de microrganismos após a utilização dos mesmos;
- Testes à esterilidade dos desinfetantes, durante a sua utilização, de forma a garantir a sua vida útil;
- Identificação de microrganismos mais comuns e as suas características na Zona Crítica, de forma a avaliar a necessidade do tipo de desinfetante;
- Estudo bibliográfico de eficácia antimicrobiana *in vitro*, observando a eficácia dos desinfetantes contra microrganismos de normas padrão;
- Análise de dados e estudo de eficácia antimicrobiana *in situ*, de forma a verificar se os desinfetantes são eficientes na sua função antimicrobiana;
- Uma análise de risco, do género FMEA, ao procedimento e métodos de limpeza e subsequente atualização do Procedimento Técnico de Limpeza e Desinfeção;

2. Limpeza e Desinfecção na Indústria Farmacêutica

2.1. Qualidade Farmacêutica

A qualidade é uma preocupação permanente na indústria farmacêutica, sendo de extrema importância manter elevados padrões de Gestão de Qualidade no desenvolvimento, fabrico e controlo de medicamentos.

Com essa finalidade, foi estabelecido um sistema de autorização de introdução no mercado (AIM) para assegurar que todos os medicamentos são analisados, e um sistema de autorização de fabrico para assegurar que todos os produtos aceites no mercado Europeu são provenientes de fabricantes autorizados, sejam produzidos localmente ou importados. Estas autorizações de fabrico são necessárias para qualquer fabricante farmacêutico na União Europeia, sejam os seus produtos vendidos localmente ou exportados.

Todos os medicamentos, bem como a sua produção, devem ser regularmente inspecionados e analisados por autoridades competentes, usando princípios de Gestão de Risco de Qualidade, devendo-se certificar que todos os produtos estão em conformidade com normas de segurança, qualidade e eficácia estabelecidas internacionalmente [4].

Por sua vez, fabricantes devem implementar um Sistema de Qualidade Farmacêutica, incorporando Boas Práticas de Fabrico, de forma a complementar esses princípios e assegurar que os mesmos são seguidos [5].

2.1.1. Sistema de Qualidade Farmacêutica

O Sistema de Qualidade Farmacêutica é composto por uma série de diretrizes focadas numa gestão de qualidade eficiente numa Indústria Farmacêutica.

Um Sistema de Qualidade Farmacêutica apropriado para o fabrico de medicamentos deve certificar-se que [6]:

- Todos os medicamentos são produzidos e controlados, obedecendo aos requisitos das Boas Práticas de Fabrico;
- Um estado de controlo é estabelecido e mantido por um sistema de monitorização e controlo eficiente, dedicado à qualidade do produto e ao desempenho do processo;
- O armazenamento, distribuição e manuseamento dos produtos satisfazem as necessidades para que a sua qualidade seja mantida durante a sua vida útil.
- Nenhum medicamento é vendido ou fornecido antes de se ser certificado que o lote foi produzido e controlado de acordo com os requisitos dos sistemas de autorização.
- Análises de Causa devem ser realizadas durante a investigação de anomalias, suspeita de defeitos e outros problemas, utilizando princípios de Gestão de Risco de Qualidade. Ações corretivas e/ou preventivas devem ser identificadas e tomadas em consideração, devendo as mesmas ser monitorizadas e avaliadas.

O Sistema deve ser revisto periodicamente, de forma a identificar oportunidades de melhoria dos produtos, dos processos ou do próprio sistema, e definido e documentado, estabelecendo-se um Manual de Qualidade [6].

2.1.2. Boas Práticas de Fabrico ou Good Manufacturing Practices (GMP)

Na União Europeia, as regras e regulações que governam os medicamentos e a sua produção estão reunidas no *Eudralex*. O *Eudralex* contém 10 volumes, sendo o 4º dedicado às GMP.

As Boas Práticas de Fabrico asseguram que os produtos sejam produzidos e controlados de forma consistente com os padrões de qualidade impostos pelas autoridades competentes.

As GMPs contêm requerimentos básicos, sendo eles [6]:

- Todos os processos de fabrico devem ser escritos e definidos de forma clara e revistos metodicamente, mostrando-se consistentemente capazes de produzir medicamentos com qualidade e especificação exigidas;
- Todos os passos críticos do processo de fabrico e quaisquer mudanças significativas ao mesmo devem ser validados;
- Durante o fabrico, devem ser registados todos os passos e instruções seguidos, bem como qualquer anomalia significativa, de forma a ser posteriormente investigada, e conservados num formato acessível;
- A distribuição dos produtos deve minimizar qualquer risco à sua qualidade;
- Reclamações sobre produtos devem ser examinadas, causas de defeitos na sua qualidade investigadas, e ações apropriadas tomadas, de modo a prevenir reincidências futuras.
- Todas as instalações abrangidas pelas GMPs devem ter:
 - Pessoal treinado e qualificado;
 - Espaço adequado;
 - Serviços e equipamento apropriados;
 - Materiais, contentores e rótulos corretos;
 - Transporte e armazenamento apropriados;

2.1.3. Autoridade Farmacêutica

A autoridade responsável pela certificação das normas dentro da União Europeia é a EMA, enquanto que em Portugal, é o Infarmed que regula e supervisiona os sectores dos medicamentos de uso humano e produtos de saúde, assegurando que os mesmos se integram com os padrões da EMA [7].

A competência do Infarmed é garantir o acesso dos profissionais da saúde e dos cidadãos a medicamentos e produtos de saúde, sendo algumas das suas atribuições [7]:

- A definição e execução de políticas dos medicamentos de uso humano e dos produtos de saúde;
- Regulamentar, avaliar, autorizar, disciplinar, fiscalizar, verificar analiticamente e assegurar a vigilância e controlo da investigação, produção, distribuição, comercialização e utilização dos medicamentos de uso humano e dos produtos de saúde;
- Assegurar a regulação e a supervisão das atividades de investigação, produção, distribuição, comercialização e utilização de medicamentos de uso humano e dos produtos de saúde;

- Garantir a qualidade, segurança, eficácia e custo-efetividade dos medicamentos de uso humano e dos produtos de saúde;
- Assegurar a adequada integração e participação no âmbito do sistema da União Europeia relativo à avaliação e supervisão de medicamentos de uso humano, incluindo a articulação com a Agência Europeia de Medicamentos, a Comissão Europeia e demais instituições europeias.

Para além da EMA e das autoridades nacionais reguladoras europeias, como o Infarmed, que visam trabalhar em conjunto com o mesmo, existem outras organizações responsáveis pela regulação e supervisão dos medicamentos no resto do mundo, como o FDA, autoridade responsável pelos Estados Unidos da América.

Criado com o propósito inicial de reunir as autoridades reguladoras e as indústrias farmacêuticas para discutir aspetos técnicos e científicos sobre o registo de medicamentos, o ICH, tem a missão de obter uma harmonização mundial nas regulamentações, de forma a assegurar que medicamentos seguros, eficazes e de alta qualidade são desenvolvidos e registados da forma mais eficiente.

Esta harmonização é obtida através do desenvolvimento de *ICH Guidelines*, diretrizes sobre Qualidade, Segurança, Eficácia e outros.

Algumas das atribuições da sua missão são [8]:

- Fazer recomendações para a interpretação e aplicação de diretrizes técnicas e requerimentos para o registo de produtos farmacêuticos e a manutenção de tais registos;
- Manter um “fórum” para diálogo científico sobre temas científicos entre autoridades reguladoras e a indústria farmacêutica;
- Contribuir para a proteção da saúde pública no âmbito dos pacientes, numa perspetiva internacional;
- Evitar requerimentos futuros divergentes através da harmonização de tópicos resultantes de avanços terapêuticos e do desenvolvimento de novas tecnologias, em relação à produção de produtos médicos;
- Facilitar a adoção de novas ou melhoradas abordagens de investigação e desenvolvimento técnicas que atualizam ou substituem práticas correntes;
- Encorajar a implementação e integração de padrões comuns através da disseminação de diretrizes atualizadas.

2.2. Limpeza e Desinfecção

Práticas de limpeza e desinfecção são uma parte essencial do controlo de contaminações na indústria farmacêutica, especialmente em relação ao controlo microbiológico de salas limpas. Um passo importante para o controlo microbiano dentro de uma sala limpa é o uso de técnicas de limpeza cuja eficiência se encontra já estabelecida, juntamente com a aplicação de detergentes e desinfetantes. O objetivo de limpeza e desinfecção é a obtenção de um nível de limpeza adequado, durante um espaço de tempo necessário [9].

No 4º volume da *Eudralex*, o documento Anexo 1 contém as diretrizes necessárias para o fabrico de medicamentos estéreis, sendo uma parte importante do mesmo, os pontos dedicados à limpeza e desinfecção.

O Anexo fornece uma orientação geral que deve ser utilizada para toda a produção de medicamentos e substâncias ativas estéreis, utilizando os princípios da Gestão de Risco de Qualidade, para assegurar que qualquer contaminação, microbiológica, de partículas ou pirogénica, é evitada no produto final.

Uma estratégia de controlo de contaminação formal e holística é um dos melhores métodos para assegurar que a legislação é seguida, sendo uma possibilidade a criação de um *dossier* que descreva a estratégia global para minimizar contaminação, com secções específicas para a limpeza e desinfeção e para uma descrição de como as mesmas vão influenciar o equipamento, instalações e pessoal.

2.2.1. Salas limpas

Salas limpas são instalações fortemente controladas para um determinado uso especializado, concebidas para minimizar e controlar contaminação.

O fabrico de produtos estéreis deve ser feito em salas limpas, mantidas num estado de limpeza apropriado e fornecidos com ar que tenha passado por filtros de eficiência apropriada. Para o fabrico de medicamentos estéreis, existem 4 graus de salas limpas:

- Grau A: As zonas correspondentes a operações de alto risco, como a zona de enchimento, ou zonas com ampolas e frascos abertos. Normalmente, tais condições são providenciadas por uma proteção de fluxo de ar localizado, como câmaras de fluxo laminar. A entrada por operadores em áreas de grau A deve ser mínima;
- Grau B: Para preparações e enchimento assépticos, este grau deve ser o ambiente circundante de zonas de grau A. Em geral, apenas salas limpas de grau C devem interagir com as áreas de processo asséptico de grau B;
- Graus C e D: Áreas limpas onde ocorrem operações menos críticas no fabrico de produtos estéreis;

Neste trabalho, o conjunto de áreas e divisões cujo grau é igual ou superior a C foi denominado de Zona Crítica.

Salas Limpas são concebidas com filtros de ar HEPA, de forma a produzir “ar limpo”, ar ao qual foi retirado pelo menos 99.95% de todas as partículas de tamanho superior a 0.3 μm [10]. As salas contêm diferenciais de pressão positivas para com zonas de grau não crítico, para prevenir a entrada de ar “menos limpo”, bem como requerimentos de passagem e vestuário estritos.

As mais comuns fontes de contaminação em Salas Limpas são o Pessoal, seguidos de equipamento/consumíveis transportados para dentro de zonas críticas, sendo que os microrganismos que transportam são facilmente transferidos para as superfícies. Assim, a limpeza e desinfeção das mesmas são de grande importância [11].

Pessoal transportam muitos tipos de microrganismos na pele, e tais microrganismos podem ser transferidos de pessoa em pessoa, ou de pessoa para equipamento/superfícies. Microrganismos na pele podem ser de dois tipos:

- flora transiente, microrganismos que temporariamente ocupam a pele, devido a contacto com uma superfície/objeto ou organismo;

- flora residencial, microrganismos que habitam a pele e multiplicam-se, sendo libertados pela mesma.

Em ambientes estéreis, alguma proteção é obtida através da utilização de luvas. No entanto, luvas não são adequadas para todo o tipo de atividades e, se não forem regularmente desinfetadas, ou se forem de material não adequado, poderão também transferir contaminação.

A construção de salas limpas deve ser cuidada, pois todas as suas superfícies expostas devem ser lisas, impermeáveis e intactas, de forma a minimizar a descamação do material ou a acumulação de partículas ou microrganismos, permitindo a aplicação repetida de agentes de limpeza e desinfetantes;

Também devem ser evitados recantos impossíveis de limpar, bem como existirem apenas o mínimo de superfícies necessárias, de forma a reduzir a acumulação de pó e para facilitar a limpeza.

Salas Limpas devem ser limpas e desinfetadas regularmente, num processo normalmente feito em 4 passos: Limpeza com detergente, enxaguamento, desinfecção e remoção do excesso.

O equipamento de limpeza utilizado deve estar preparado para o Grau da sala, devendo ser esterilizado antes da sua introdução em salas de zona Crítica.

Qualquer material capaz de gerar fibras não deve ser permitido em áreas limpas.

A limpeza e desinfecção deve também ser feita seguindo um procedimento rigoroso, que, por sua vez, deverá ser elaborado em função de um programa escrito. A frequência da limpeza e desinfecção necessária deve ser estabelecida através de uma avaliação de risco.

2.2.2. Limpeza

A limpeza é um processo que consiste na remoção de resíduos e sujidade de superfícies. É normalmente necessário o uso de um detergente para uma limpeza eficiente, visto facilitarem a remoção da sujidade ao penetrarem na mesma e reduzindo a sua tensão superficial, reduzindo a sua aderência à superfície [12-13].

Uma limpeza rigorosa é essencial antes de desinfecções e esterilizações, porque materiais orgânicos e inorgânicos que permaneçam na superfície, limitam o contacto entre o desinfetante e os microrganismos, interferindo com a eficiência desses processos.

Existem algumas considerações-chave para a escolha de detergentes [9]:

- A sua composição química, sendo que os detergentes devem ser soluções neutras e não-iónicas, sendo preferível que causem pouca ou nenhuma formação de espuma;
- A sua compatibilidade com os desinfetantes, pois existe a possibilidade de os detergentes libertarem resíduos e, dependendo da composição do detergente utilizado, podem neutralizar a substância ativa do desinfetante, reduzindo as suas propriedades antimicrobianas.

2.2.3. Desinfecção

A desinfecção descreve um processo essencialmente químico que elimina muitos ou todos os microrganismos existentes, com exceção de esporos, em superfícies.

O processo de desinfecção envolve a saturação da parede celular bacteriana por um agente químico, um desinfetante, e requer que o organismo permaneça em contacto, por um período de tempo definido, com um agente químico com capacidade de destruir o organismo em questão.

Os desinfetantes são antimicrobianos usados em objetos inanimados, em contraste com os antissépticos, que são utilizados em tecido vivo. Desinfetantes variam no seu espectro de atividade, modos de ação e eficácia. Alguns são bacteriostáticos, ou seja, impedem a população bacteriana de crescer. Estes desinfetantes podem causar mudanças seletivas e reversíveis às células ao interagir com os ácidos nucleicos, inibindo enzimas ou permeando a parede celular.

Outros desinfetantes são bactericidas, destruindo células bacteriais através de mecanismos diferentes, incluindo causando dano estrutural à célula, autólise, lise celular e a fuga ou coagulação de citoplasma. Dentro destes grupos, o espectro de atividade varia, com alguns desinfetantes sendo eficientes contra microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos, enquanto outros são eficientes contra fungos. Alguns desinfetantes são esporicidas, ou seja, podem destruir bactéria formadora de endósporos (a forma de microrganismos mais difícil de eliminar de superfícies de salas limpas) [11].

São normalmente divididos em três tipos [14]:

- Desinfetantes de baixo nível: matam a maior parte das bactérias vegetativas e alguns fungos, bem como alguns vírus lipídicos, num período de tempo prático (≤ 10 minutos);
- Desinfetantes de nível intermédio: matam bactérias vegetativas, a maior parte dos vírus e a maior parte dos fungos, mas não esporos bacteriais resistentes;
- Desinfetantes de alto nível: destroem bactérias vegetativas, micobactérias, fungos e vírus, mas não necessariamente esporos bacteriais.

Existem várias considerações-chave para a escolha de desinfetantes [9,13]:

- A gama de concentrações onde são mais eficazes, isto sendo indicado pelo fabricante ou validados posteriormente, sendo de grande importância determinar a sua Concentração Inibitória Mínima (CIM), a concentração mínima de desinfetante que se mostra microbiostática;
- O seu tempo de contacto necessário com uma superfície de forma a garantir eficácia, que depende da concentração do desinfetante, bem como de outras características físico-químicas do mesmo e dos microrganismos alvo e da superfície onde é aplicado;
- O seu tempo de deterioração, o tempo necessário para que uma solução de desinfetante se torne ineficaz na desinfecção. É normalmente validado pelo fabricante e designado através de uma data de validade;
- A sua gama de temperatura e pH ótimos, visto a temperatura influenciar a velocidade da reação dos desinfetantes, e o pH influenciar as ligações moleculares entre o desinfetante e os microrganismos. O uso do desinfetante fora dessa gama prejudica a sua eficácia;
- A sua gama de atividade, a gama de microrganismos que o desinfetante é eficaz contra. Em salas limpas, os desinfetantes devem ser, no mínimo, bactericidas;

- A sua segurança, devendo ser seguros de manusear pelos operadores e obedecerem às leis locais de saúde e segurança;
- A aplicação de desinfetantes em matérias não compatíveis, ou caso o desinfetante seja corrosivo, pode conduzir ao desgaste e degradação do material, causando uma contaminação por não-viáveis, ou a criação de fendas no material, onde poderia ocorrer a alojação de microrganismos.
- O seu custo, contando-se com não só o preço do desinfetante, mas também o tempo necessário para preparar e aplicar o mesmo, e também custos extra como vestuário de proteção.

É importante também ter em conta os microrganismos alvo e as suas propriedades, como [9-13]:

- A sua população, visto que um desinfetante será mais eficiente quando aplicado contra uma população menor ou de menor densidade celular. Também será mais eficiente se a população for pura, invés de mista;
- O seu tipo, visto diferentes tipos de microrganismos terem diferentes níveis de resistência contra desinfetantes;

Para a limpeza de salas limpas, é importante a utilização de mais do que um tipo de agente desinfetante, incluindo um uso periódico de agente esporicida. Os desinfetantes devem ser alternados durante prazos definidos, de forma a prevenir a acumulação de resíduos, pois podem levar à criação de estirpes resistentes. Outra medida de prevenção contra a acumulação de resíduos é a execução de um enxaguamento após o uso de desinfetante.

Desinfetantes podem ser utilizados sozinhos ou em combinação com outro desinfetante, como peróxido de hidrogénio e ácido peracético. Na maior parte dos casos, produtos desinfetantes são criados para um propósito específico. Assim, rótulos devem ser lidos com cuidado de forma a garantir que o produto escolhido é utilizado eficientemente e da forma pretendida.

Concentrações incorretas ou desinfetantes inapropriados podem causar grandes custos. Precauções, como o uso de luvas e ventilação adequada devem ser utilizados para minimizar a exposição dos trabalhadores aos desinfetantes, de forma a impedir riscos de saúde[12].

Uma fumigação ou desinfeção por vapor pode também ser utilizada, também de forma periódica, para reduzir contaminação microbiana in locais inacessíveis.

Os desinfetantes podem ser fabricados como soluções “pronto-a-usar” ou como concentrados. Os concentrados devem ser usados para preparar uma solução de desinfetante, seguindo a validação dos fabricantes. As soluções de desinfetante devem ser preparadas utilizando, quando usadas em salas limpas de grau alto, água para preparação injetáveis (PPI), e esterilizadas se usadas em Grau A e B. Devem também ser mantidos em recipientes previamente limpos e armazenados apenas durante tempos definidos, para prevenir perdas de eficácia [15].

A realização de uma diluição adequada para os desinfetantes é extremamente importante para o processo de desinfetante, visto a sua eficácia estar apenas validada para concentrações específicas. Uma concentração de desinfetante menor que a validada poderá resultar na ineficiência da desinfeção, enquanto uma concentração de desinfetante maior poderá resultar em excesso de resíduos de desinfetante.

A preparação de solução de desinfetante deve ser realizada com a adição de concentrado à água, e não o inverso, a uma água de temperatura abaixo dos 24°C, de forma a prevenir a formação de espuma e uma mais rápida degradação do ingrediente ativo.

2.2.4. Monitorização

A eficácia da limpeza de uma sala limpa é avaliada através de um regime de monitorização ambiental, um programa que examina o número e ocorrências de microrganismos viáveis e partículas “não-viáveis” (partículas que não contém microrganismos).

São necessárias monitorizações regularmente, cuja regularidade é definida através de análises de risco, para certificar a eficácia do programa de limpeza e para detetar desenvolvimento de estirpes resistentes ou formadoras de esporos;

As monitorizações devem ser realizadas fora de operações de produção, após a validação de sistemas, limpeza ou desinfeção, e microrganismos em ambientes de Grau A ou Grau B devem ser identificados até à espécie, com o impacto desta identificação no estado de controlo avaliado [2].

Através de uma análise de tendências, a monitorização indica se a sala limpa está a ficar fora de controlo [16]. Se fora de controlo, deve ser realizada uma investigação para encontrar a causa, bem como uma revisão ao procedimento, e, caso necessário, medidas corretivas. Nas Tabela 2.1 e Tabela 2.2 encontram-se os valores de limite recomendados para cada grau de salas limpas.

A monitorização de partículas viáveis, deteta níveis de bactérias e fungos presentes através de amostras, retiradas de várias potenciais superfícies, pessoal e ar, as potenciais fontes de contaminação.

Tabela 2.1 - Classificação das salas limpas a nível de contaminação microbiológica [2]

Grau	Limites recomendados de contaminação microbiológica			
	Amostra de ar ufc/m ³	Placas de exposição UFC/4h	Placas de contacto ufc/placa	Impressão digital 5 dedos / luva ufc
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

A monitorização de partículas não-viáveis deteta níveis de partículas que, apesar de não conterem microrganismos, podem servir de transporte para partículas que contenham.

Tabela 2.2 – Classificação de salas limpas a nível de contaminação por partículas [12]

Grau	Limite máximo recomendado para partículas			
	>= 0,5 µm/m ³		>= 5 µm/m ³	
	Em Operação	Em Descanso	Em Operação	Em Descanso
A	3.520	3.520	20	20
B	352.000	3.520	2.900	29
C	3.520.000	352.000	29.000	2.900
D	Definir Limite*	3.520.000	Definir Limite*	29.000

*Limite deve ser definido por uma análise de risco

Validação

As agências reguladoras esperam que um fabricante de medicamentos tenha avaliado a eficácia dos seus desinfetantes. A qualificação de um desinfetante é demonstrada através de um teste do seu desempenho, sendo necessário assegurar que se [16]:

- Consegue remover todos os resíduos que poderiam posteriormente criar uma barreira entre o agente desinfetante e a superfície do equipamento;
- Evita a contaminação de químicos ou partículas durante o processo e antes da desinfecção.

Testes de desempenho podem envolver testes de suspensão ou testes de superfície.

Testes de suspensão envolvem a introdução de uma série de microrganismos de teste numa solução do produto desinfetante, sendo os microrganismos sobreviventes recuperados após um tempo de contacto determinado e então neutralizados.

Testes de superfície utilizam amostras de superfícies, tomando em consideração cenários de pior-caso, que são também inoculadas, sendo em seguida aplicado o desinfetante a ser testado, exposto durante um tempo de contacto determinado, e os microrganismos sobreviventes recuperados através de um método validado, como por esfregaço ou através de uma placa de contacto, e aplicado um caldo neutralizante.

O número de microrganismos de teste recuperados é então comparado ao número de microrganismos de uma amostra de controlo, não exposta ao desinfetante. Esta validação qualifica o desinfetante e providencia provas de que é eficaz a controlar contaminação microbiana, à concentração estudada [16]. Para demonstrar a eficácia do desinfetante de forma coerente, os microrganismos testes devem refletir a microflora natural das instalações.

2.3. Mecanismos de Ação de Desinfetantes

Os desinfetantes químicos podem apresentar diferentes tipos de mecanismos de ação, representados na Figura 2.1, nomeadamente:

Compostos de Amónio Quaternário (CAQs)

Os CAQs são surfactantes, classificados como agentes catiónicos ou detergentes catiónicos. Estes compostos apresentam maior eficácia antimicrobiana a pH neutro ou ligeiramente alcalino, sendo inativados para valores de pH inferiores a 3,5 [17].

São eficazes contra bactérias vegetativas (Gram+ e Gram-), e alguns fungos e vírus encapsulados, mas não contra esporos bacterianos e micobactérias [17].

O mecanismo de ação principal dos CAQs envolve a rutura da membrana celular bacteriana, reagindo com os componentes fosfolípidos na membrana citoplasmática, resultando numa distorção membranar que leva à sua lise, mas também lhes é atribuída a inativação de enzimas produtoras de energia e à desnaturação de proteínas celulares essenciais [12].

Foi proposto que o mecanismo de ação de um composto de amónio quaternário decorre da seguinte forma [17]:

- (i) Adsorção na superfície celular e penetração do agente na parede celular;
- (ii) reação com a membrana citoplasmática (bicamada fosfolipídica ou proteínas) seguido de desorganização membranar;
- (iii) fuga de material intracelular de baixo peso molecular;
- (iv) degradação de proteínas e ácidos nucleicos;
- (v) lise da parede causada por enzimas autolíticas.

Existe então uma perda na organização e integridade estrutural da membrana citoplasmática na bactéria, juntamente com outros efeitos prejudiciais à célula bacteriana.

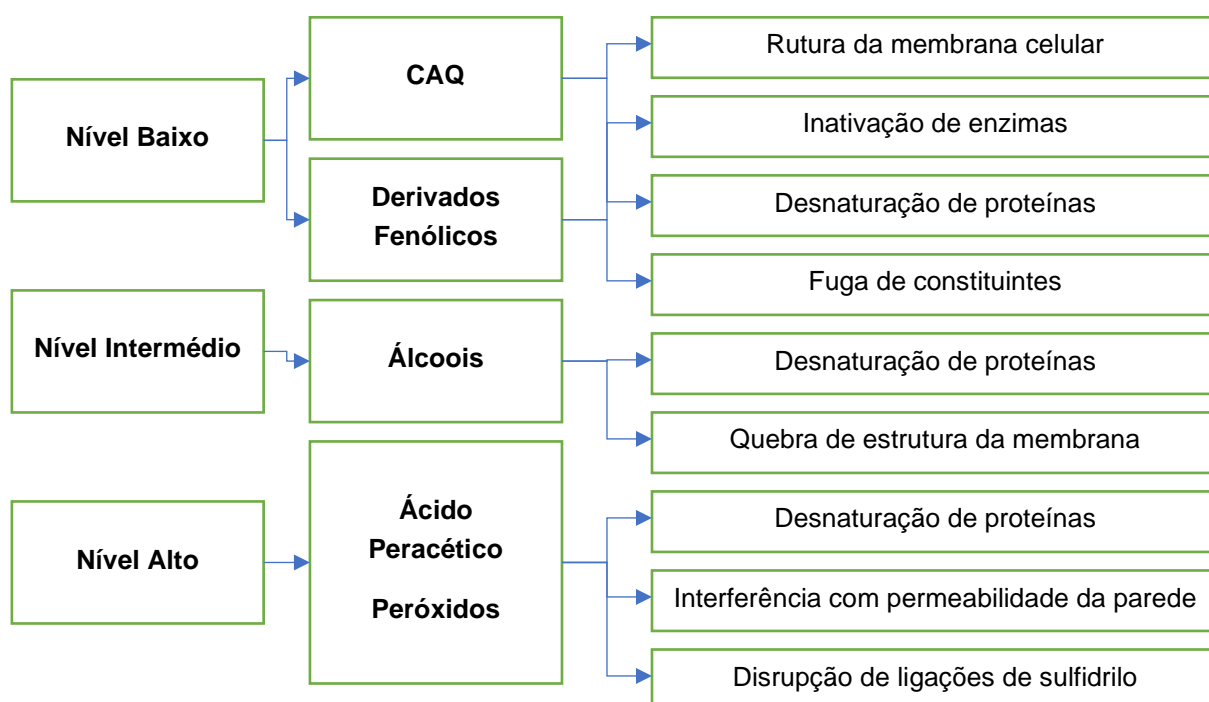


Figura 2.1 – Resumo dos mecanismos de ação de desinfetantes

Derivados Fenólicos

Os derivados fenólicos são efetivos contra bactérias (especialmente bactérias Gram+) e vírus com envelope. Agem especificamente na membrana celular e inativam enzimas intracitoplasmáticas ao formar complexos instáveis. As moléculas lipofílicas são encurraladas pelos fosfolípidos membranares [18].

Os derivados fenólicos ligam-se à membrana celular, interferindo com as funções associadas à membrana, visto inibirem as permeases, causando então a desnaturalização das proteínas bacteriais e a lise da membrana celular. Por outro lado, estes compostos provocam também alterações a nível da permeabilidade da membrana, causando a libertação dos constituintes celulares (ácidos nucleicos, ácido glutâmico) no meio externo [18].

Álcoois

Os álcoois, nomeadamente o álcool isopropílico e o álcool etílico, são bastante utilizados como desinfetantes a nível das salas limpas.

São compostos que apresentam baixos níveis de resíduos e de toxicidade, e uma larga gama de atividade antimicrobiana, apesar de não apresentarem atividade esporicida. No entanto, são desinfetantes cuja evaporação é rápida, o que os torna inadequados para grandes superfícies [19].

Geralmente, a atividade antimicrobiana de álcoois é ótima na gama de 60% a 90% (volume/volume) [17].

Os álcoois atuam por desnaturação de proteínas e quebra da estrutura dos lípidos da membrana, resultando em perda de permeabilidade da membrana celular bacteriana.

Álcoois são inflamáveis, e conseqüentemente devem ser guardados em áreas frescas e bem ventiladas. Também evaporam rapidamente, fazendo com que seja difícil prolongar tempos de exposição, a não ser que o item esteja imerso [12].

O etanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) é muito utilizado como desinfetante e antisséptico. A presença de água é essencial para a atividade antimicrobiana deste álcool, pelo que o etanol a 100% é praticamente ineficaz.

As concentrações ideais para atividade bactericida situam-se entre os 60% e 95%.

O álcool etílico apresenta atividade viricida contra a maioria dos vírus.

O álcool isopropílico ($\text{CH}_3\text{CHOH.CH}_3$) apresenta uma atividade bactericida superior à do álcool etílico, apresentando também uma toxicidade superior.

A nível da atividade viricida, o álcool isopropílico apresenta uma atividade menor relativamente ao álcool etílico, particularmente a nível de vírus sem envelope, sendo classificado como tendo um espectro viricida limitado.

Peróxidos

Os Peróxidos têm um papel importante na degradação da célula bacteriana. H_2O_2 é considerado ecológico, porque pode degradar-se rapidamente em produtos inócuos (água e oxigénio). Demonstra uma ampla gama de eficácia contra vírus, bactérias, leveduras e esporos bacteriais. Em geral, maior atividade é vista contra bactérias gram-positivas que contra bactérias gram-negativas.

Concentrações de H_2O_2 entre 10 a 30% e tempos de contacto longos são necessários para atividade esporicida.

O peróxido de hidrogénio age como um oxidante ao produzir radicais livres de hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) que atacam e desnaturam componentes celulares essenciais, incluindo lípidos membranares, proteínas e ADN, sendo os principais alvos grupos sulfidrilos ($-\text{SH}$) em grupos tiol [17,18].

A catalase, produzida por organismos aeróbios e anaeróbicos facultativos que possuem sistemas de citocromo, podem proteger células de peróxido de hidrogénio metabolicamente produzido, degradando-o em água e oxigénio. No entanto, esta defesa é desprezável, devido às elevadas concentrações utilizadas na desinfeção.

Em condições normais, o peróxido de hidrogénio é extremamente estável quando adequadamente armazenado. A decomposição em pequenos contentores é de menos de 2% por ano a temperatura ambiente [12].

Peróxido de Hidrogénio é também misturado com Ácido Peracético em concentrações altas para ser usado com um desinfetante de alto nível [14].

Ácido Peracético (PAA)

Ácido Peracético/Peroxiacético (CH_3COOOH) é considerado um biocida mais potente que o Peróxido de Hidrogénio, sendo esporicida, bactericida, viricida e fungicida a baixas concentrações (<0.3%).

É caracterizado por ter uma rápida ação contra todos os microrganismos. Vantagens especiais do mesmo são a decomposição em produtos secundários seguros, como o ácido acético e oxigénio, o melhorar a remoção de material orgânico, e o não largar resíduos.

O Ácido Peracético funciona de forma semelhante a outros agentes oxidantes, ou seja, desnatura proteínas e interfere com a permeabilidade da parede celular ligações de sulfidrilo (-SH) em grupos tiol nas proteínas, enzimas e outros metabólitos [12,17].

O Ácido Peracético pode corroer cobre, latão, bronze, aço plano e ferro galvanizado, mas estes efeitos podem ser reduzidos com aditivos e modificações de pH. É considerado instável, particularmente quando diluído: por exemplo, 1% de solução perde metade da sua força através de hidrólise em 6 dias, enquanto 40% de Ácido Peracético perde 1-2% dos seus ingredientes ativos por mês [12].

3. Materiais e Métodos

3.1. Fluxograma de Etapas

As etapas realizadas para este trabalho encontram-se representadas na Figura 3.1, demonstrando a sua ordem de realização, bem como sub-etapas realizadas.

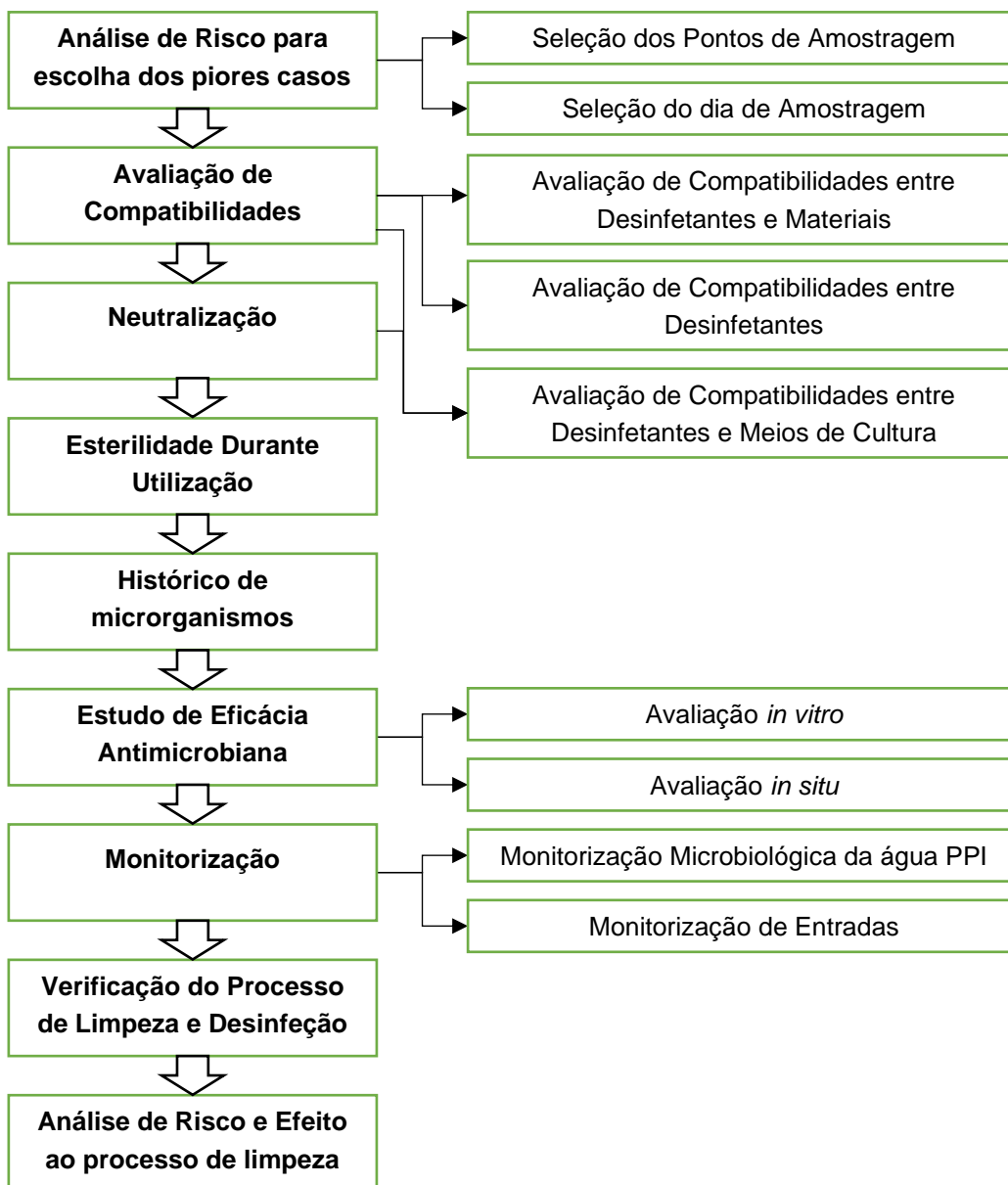


Figura 3.1 – Ilustração do progresso das etapas e sub-etapas desenvolvidas

3.1.1. Apresentação dos Materiais utilizados

Os materiais utilizados na zona crítica da Secção de Injetáveis, bem como as respetivas superfícies, encontram-se demonstrados na Tabela 3.1:

Tabela 3.1 – Superfícies existentes na Zona Crítica e Materiais constituintes

Materiais	Respectivas Superfícies
PVC	Cantos das paredes, rodapés, lamelas
Alumínio	Grelhas para insuflação de ar
Epóxi	Chão (Resina)
Vidro	Janelas
Aço Inox	Paredes (acrescento), bancos, maçanetas, grelhas de extração de ar
Painel (Chapa de Aço Pintada)	Painéis dos tetos e paredes

Outras superfícies existentes na secção de injetáveis, como carros de trabalho, mesas, bancadas e bancos, bem como o próprio equipamento de produção. Tais superfícies foram excluídas destes testes, visto serem desinfetadas com Álcool Isopropílico a 70%, sendo excluídas deste teste, com a única exceção de carros de trabalho e mesas, visto serem desinfetados com Spor-Klenz quando provenientes da zona não-crítica para a zona crítica.

Dos materiais listados, não foi possível utilizar o material Alumínio para testes específicos de material, devido a não haver amostras disponíveis.

3.1.2. Apresentação dos Produtos utilizados

Os produtos desinfetantes utilizados na zona crítica da Secção de Injetáveis, encontram-se demonstrados na Tabela 3.2, bem como as suas respectivas diluições.

Tabela 3.2 – Produtos utilizados e respectivas diluições [20-27]

Nome do produto	Classificação	Composição Química	Composição Quantitativa Real	Grupos Funcionais	Diluição	Tempo de Contacto	Fabricante
Novaclean	Detergente alcalino				1:128 (0,78%) para paredes e teto; 2:128 (1,5%) para chão		Micronova
Environ LpH	Desinfetante Fenólico	2-Fenilfenol	7,7%	Fenol (OH-)	1:128(0,78%) por volume	10 minutos	Steris
		o-Benzil p-clorofenol	7,7%				
Vesta Syde SQ	Desinfetante de Composto Amónio Quaternário	Cloreto de didecildimetilamónio	10,5%	Catião Amónio Quaternário (NR4+)	1:128(0,78%) por volume	10 minutos	Steris
Minncare	Desinfetante e Esporicida	Peróxido de Hidrogénio	22%	Ácido Carboxílico / Peróxido	1:9(10%) por volume	36 minutos	Cantel
		Ácido Peroxiacético	4,5%				
Spor-klenz	Desinfetante e Esporicida	Peróxido de Hidrogénio	1%	Ácido Carboxílico / Peróxido	Pronto a usar	30 segundos como germicida, 30 minutos como esporicida	Steris
		Ácido Peroxiacético	0,08%				

O uso do desinfetante Minncare, utilizado para Fumigação, foi descontinuado durante a decorrência de alguns dos testes, sendo os mesmos em que fosse envolvente terminados. Na conclusão deste trabalho, será sugerido uma alternativa para o mesmo.

3.1.3. Fardamento e equipamentos de proteção individual (EPIs)

O procedimento de limpeza e desinfecção deverá ser realizado pelo operador de limpeza da Secção de Injetáveis. Os equipamentos de proteção individual recomendados para cada desinfetante estão descritos nas respetivas fichas de segurança de cada desinfetante (MSDS).

A Tabela 3.3 resume os equipamentos de proteção individuais recomendados pelos fabricantes para os diferentes desinfetantes, bem como a descrição do fardamento utilizado pelo pessoal envolvido no processo de limpeza e desinfecção.

Tabela 3.3 - Fardamento e equipamentos de proteção individual recomendados e utilizados na Secção de Injetáveis [20, 22, 24, 27]

Produto de Limpeza	EPIs recomendados pelos fabricantes		Fardamento pessoal envolvido na limpeza
	Luvas	Máscara	
Novaclean	Luvas impermeáveis resistentes a químicos	Não necessário	Máscara cirúrgica de polipropileno Luvas de Latex esterilizadas
Environ LpH	Luvas de borracha	Se em zona não ventilada, usar máscara	Bata de fio poliéster contínuo esterilizada
Vesta Syde SQ	Luvas de borracha	Se em zona não ventilada, usar máscara	Touca esterilizada de polipropileno
Minnicare	Luvas resistentes a químicos	Se em zona não ventilada, usar máscara	Cobre-sapatos de polietileno
Spor-Klenz	Luvas de borracha	Se em zona não ventilada, usar máscara	Calças de fio poliéster contínuo esterilizadas

Os fardamentos utilizados encontram-se constituídos por polipropileno, polietileno, latex e fio poliéster contínuo, materiais cuja libertação de fibras e partículas é pequena, sendo a mesma minimizada por lavagens no caso de fardamento reutilizável, como calças e batas [28].

3.1.4. Utensílios de Limpeza

Na Tabela 3.4 estão representados os utensílios utilizados no processo de limpeza e desinfecção:

Tabela 3.4 – Utensílios de Limpeza utilizados na Secção de Injetáveis

Material	Composição	Utilização	Fabricantes
Pano Polyfoam Wipe	Espuma de poliuretano	Limpeza de paredes e teto	Vestilab
Esfregona Vestimop	100% fio poliéster contínuo	Limpeza de chão	Vestilab
Mopa Pharma Mop	100% Poliéster	Desinfecção de chão, paredes e teto	Vestilab
Baldes	Polipropileno	Transporte de solução de detergente ou desinfetante	Vestilab
Carros de 2 Baldes	Aço Inoxidável	Limpeza com detergente ou desinfecção de chão, paredes e tetos	Vestilab

Tal como o fardamento, os utensílios encontram-se constituídos por materiais de pouca libertação de fibras, provenientes de fabricantes especializados em utensílios para salas limpas.

Estes são desinfetados com álcool isopropílico a 70% após cada utilização. Após a limpeza e desinfecção dos mesmos, os utensílios são colocados em sacos de polietileno fechados com atilho e identificados com uma etiqueta, descrevendo-os como utensílios limpos. Os utensílios são armazenados na sala de armazenagem da Secção de Injetáveis.

3.2. Revisão de Procedimento Técnico de Limpeza e Desinfecção

O procedimento de limpeza e desinfecção utilizado na Secção de Injetáveis contém 3 programas:

1. Limpeza e desinfecção diária

Este programa envolve a limpeza e desinfecção de apenas o chão. É efetuado diariamente, no final do dia de trabalho, sempre que exista preparação ou enchimento.

2. Limpeza e desinfecção semanal

Este programa envolve a limpeza e desinfecção do chão, paredes e teto. É efetuado no final do dia de trabalho, durante a produção de produtos assépticos. É também realizada após intervenções efetuadas pela manutenção.

3. Limpeza e desinfecção semestral

Este programa de desinfecção, realizado semestralmente, inclui a limpeza e desinfecção de todas as superfícies. Devido ao tempo em que se decorreu a realização deste trabalho, o programa de limpeza e desinfecção não foi contabilizado para testes.

4. Fumigação semanal

Este programa envolve a realização de uma Fumigação em toda a Zona Crítica da Secção dos Injetáveis. É efetuado aos Domingos, dia onde não ocorre trabalho.

A Tabela 3.5 resume as características de cada um dos programas de desinfecção em vigor na Secção de Injetáveis:

Tabela 3.5 - Programas de limpeza e desinfecção de superfícies em vigor na Secção de Injetáveis

	Diário	Semanal	Semestral
Bancadas	Limpeza; Desinfecção com IPA a 70%	Limpeza; Desinfecção com IPA a 70%	Limpeza; Desinfecção com IPA a 70%
Chão	Limpeza; Desinfecção	Limpeza; Desinfecção	Limpeza; Desinfecção
Paredes		Limpeza; Desinfecção	Limpeza; Desinfecção
Teto		Limpeza; Desinfecção	Limpeza; Desinfecção
Equipamento e material auxiliar		Partes móveis, rodas	Carros autoclave + formas
			Partes móveis, rodas
		Lamelas PVC e respetivos suportes aço-inox do fluxo laminar – filtração	Lamelas PVC e respetivos suportes aço-inox do fluxo laminar – filtração
			Suporte dos filtros de entrada da câmara de fluxo do ar laminar vertical

3.2.1. Procedimento Geral de Limpeza e Desinfecção

Um dos fatores importantes no processo de limpeza e desinfecção é o método de aplicação do detergente/desinfetante nas superfícies. As operações de limpeza e desinfecção devem ser sempre efetuadas da zona de menor contaminação para a zona de maior contaminação, sendo a ordem a seguinte:

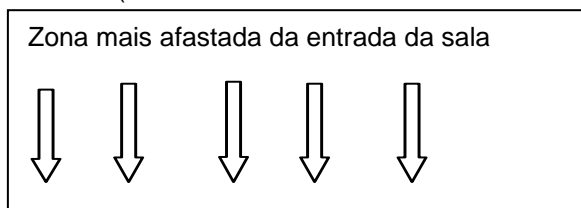
- 1.º - Sala de filtração;
- 2.º - Sala de enchimento;
- 3.º - Sala de lavagens;
- 4.º - Sala de preparação;
- 5.º - Corredor Interno;
- 6.º - Vestiário;

A aplicação em todas as superfícies deve ser efetuada com movimentos únicos unidirecionais, em que cada passagem deve sobrepor-se à anterior em cerca de 10% a 25%.

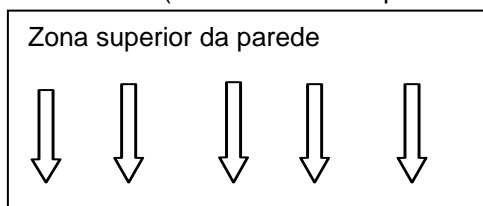
Procedimento geral

- Retirar previamente e com todo o cuidado a sujidade maior para evitar a suspensão de partículas no ar.
- A sequência de limpeza deve ser sempre cumprida: em primeiro lugar o teto, depois as paredes, e só no final o chão:

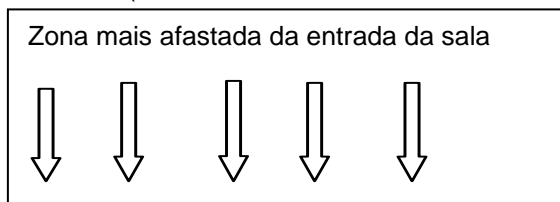
1. Teto (**sentido:** zona mais afastada da entrada até à entrada da sala)



2. Paredes (**sentido:** de cima para baixo);



3. Chão (**sentido:** zona da sala mais afastada da entrada até à entrada da sala).



- Limpar sempre as superfícies exteriores dos equipamentos, à sua volta e por baixo, não esquecendo as rodas.

- As águas de lavagem devem ser substituídas sempre que, por inspeção visual, se verifique que se apresentam sujas, bem como no final da limpeza de uma sala.
- Após a limpeza, executar um enxaguamento para evitar a formação de resíduos de detergente.
- Proceder à desinfecção das superfícies:
 1. Aplicar solução de uso na superfície a desinfetar com uma esponja/pano/mopa através da sequência de limpeza acima descrita.
 2. Permitir que as superfícies tratadas permaneçam molhadas por 15 minutos de modo a permitir a eficácia bactericida e fungicida desejadas.
 3. Remover o excesso de solução desinfetante com um aplicador.
- É obrigatória a placa de sinalização de segurança: “Limpeza em curso”.

A limpeza e desinfecção deve ser feita utilizando um sistema de balde duplo, que se encontra representado na Figura 3.2, cuja correta utilização descreve-se como:

1. Balde vermelho: colocar água limpa para enxaguamento da esfregona. Encher até 1/3 da capacidade.
2. Balde azul: deve conter água fria e detergente/desinfetante. Encher até 2/3 da capacidade.
3. Montar o balde duplo de acordo com a figura 1.
4. Colocar a esfregona/esponja/mopa no balde azul.
5. Espremer.
6. Limpar ou desinfetar.
7. Balde vermelho para retirar a sujidade.
8. Espremedor.
9. Colocar novamente a esponja/pano/mopa no balde azul.



Figura 3.2 – Montagem do Carrinho

3.3. Análise de Risco para escolha de piores casos

Para a escolha de piores casos, foram elaboradas análises de risco para dois fatores considerados de maior importância: A localização dos pontos de amostragem, e a decisão do dia de amostragem.

Seleção dos Pontos de Amostragem

A seleção dos pontos de amostragem foi realizada através de uma análise de risco feita a pontos previamente utilizados para recolha de amostras.

Seleção do dia de Amostragem

A seleção do dia de amostragem foi realizada através de uma análise de risco feito aos dias de uma semana normal de trabalho.

3.4. Avaliação de Compatibilidades

Para garantir que os desinfetantes a testar são adequados para o seu uso e, de forma a reduzir a possibilidade de criação de resíduos durante a limpeza e desinfecção, bem como garantir que não existem erros durante testes, deve ser analisada a compatibilidade dos desinfetantes com os materiais e superfícies onde são aplicados, com os meios de cultura onde são colonizados e até entre si.

A aplicação de desinfetantes em matérias não compatíveis, ou caso o desinfetante seja corrosivo, pode conduzir ao desgaste e degradação do material, causando uma contaminação por não-viáveis, ou a criação de fendas no material, onde poderia ocorrer a alojação de microrganismos [9].

A utilização de desinfetantes não compatíveis entre si pode conduzir à formação de resíduos nas superfícies ou redução da sua atividade antimicrobiana, sendo por isso necessário avaliar a compatibilidade entre os diferentes desinfetantes em teste, de forma a considerar os seus regimes rotacionais.

Outro parâmetro importante a avaliar é a compatibilidade dos desinfetantes com os meios de cultura utilizados. Esta avaliação de compatibilidade é necessária para certificar que os comportamentos dos desinfetantes e dos meios de cultura são consistentes com os esperados.

Avaliação de Compatibilidades entre Desinfetantes e Materiais

A avaliação da compatibilidade dos desinfetantes em teste com os materiais em uso na zona crítica foi feita através da análise da documentação dos desinfetantes, seguido dum teste de compatibilidade entre os desinfetantes e amostras dos mesmos. Todo o procedimento e metodologia do teste encontra-se exposto na Tabela 3.6.

O desinfetante Minncare não foi testado, devido a ter sido descontinuado.

Tabela 3.6 – Teste de Avaliação de Compatibilidades entre Desinfetantes e Materiais

Objetivo			
Verificar a compatibilidade dos desinfetantes a testar com os materiais de superfícies da Secção dos Injetáveis.			
Materiais			
Material	Quantidade	Tamanho	
Amostra de Inox	4	10 x 10 (100 cm ²)	
Amostra de Alumínio	4	10 x 10 (100 cm ²)	
Amostra de PVC	4	10 x 10 (100 cm ²)	
Amostra de Epóxi	4	10 x 10 (100 cm ²)	
Amostra de Vidro	4	10 x 10 (100 cm ²)	
Amostra de Pannel	4	10 x 10 (100 cm ²)	
1) Os desinfetantes a testar e as suas características estão representadas na tabela:			
Nome do produto	Classificação	Grupos Funcionais	Diluição
Environ Lph	Desinfetante Fenólico Estérel	Fenol	1:128(0,78%) por volume
Vesta Syde SQ	Desinfetante de Composto Amónio Quaternário	Catião Amónio Quaternário	1:128(0,78%) por volume
Minncare	Desinfetante e Esporicida	Ácido Carboxílico / Peróxido	1:9 (10%) por volume
Spor-klenz	Desinfetante e Esporicida		Pronto a usar

Tabela 3.6 – Teste de Avaliação de Compatibilidades entre Desinfetantes e Materiais (cont.)

Metodologia

- 1) Aplicar a solução de desinfetante*, preparado de acordo com a sua especificação, com uma esponja, com movimentos únicos unidirecionais, começando num canto e acabando no canto diagonal oposto, simulando as técnicas de limpeza utilizadas no Procedimento Técnico de Limpeza e Desinfecção nas amostras de material.
- 2) Repetir aplicação diariamente, durante 2 semanas.
- 3) No final da fase de testes de cada desinfetante dever-se-á verificar, por inspeção visual, a existência de alterações nas superfícies desinfetadas e sinais de corrosão dos materiais, quando aplicável.

*Para testar o desinfetante Minncare, colocar as amostras de materiais na secção durante a Fumigação, tal ocorrendo semanalmente.

Crítérios de Aceitação

Considera-se cada desinfetante diluído compatível com os materiais da Secção se, após duas semanas de utilização, não ocorrerem alterações visíveis nas superfícies desinfetadas.

Avaliação de Compatibilidades entre Desinfetantes

Foi realizada uma avaliação documental, com base nos grupos funcionais e características físico-químicas dos desinfetantes, como o seu valor de pH, procurando a existência de possíveis incompatibilidades entre os diferentes desinfetantes.

Avaliação de Compatibilidades entre Desinfetantes e Meios de Cultura

Foi realizada uma avaliação documental, com base em dados bibliográficos, a nível da composição dos meios de cultura e desinfetantes, procurando a existência de ingredientes que influenciassem de alguma forma o funcionamento dos desinfetantes, ou que fossem em si afetados ou alterados pela ação dos desinfetantes.

Visto o meio de cultura com contacto direto com os desinfetantes serem as placas de contacto, e o principal comportamento dos mesmos com o contacto com os desinfetantes ser o da sua neutralização, estes resultados foram incorporados à avaliação de Neutralização (Capítulo 3.5).

3.5. Neutralização

A neutralização de um desinfetante é um parâmetro importante na avaliação da sua eficiência como microbicida, consistindo na inibição da atividade antimicrobiana do desinfetante após um determinado tempo de contacto com um agente químico neutralizante, de forma a permitir a análise e contagem de microrganismos do local aplicado.

A neutralização completa dos desinfetantes durante testes é importante, pois garante que análises de atividade biocida são rigorosas, visto que resíduos de produtos biocidas existentes em amostras causariam uma inibição de crescimento microbiano, o que poderia resultar em resultados demasiado baixos nas contagens [29].

Para um neutralizante ser considerado adequado para uso num desinfetante, é necessário que obedeça a 2 parâmetros:

- Ser eficaz na neutralização da atividade antimicrobiana do desinfetante;
- Ser, inerentemente, não-tóxico em relação aos microrganismos-teste;

A Tabela 3.7 contém os químicos mais comuns que neutralizam os desinfetantes a testar.

Tabela 3.7 – Químicos neutralizantes para os desinfetantes a testar [30-37]

Desinfetante	Neutralizante
Vesta Syde SQ	Polissorbato 80 e Lecitina
Environ LpH	Diluição, Polissorbato 80 e Lecitina
Minnicare	Tiosulfato de Sódio
Spor-klenz	Tiosulfato de Sódio

3.6. Esterilidade Durante Utilização

Na duração da realização deste trabalho, os desinfetantes utilizados são provenientes de embalagens de grande volume com o seu produto concentrado, não sendo utilizadas embalagens de utilização única.

Para garantir que os desinfetantes armazenados para futura diluição não são vulneráveis a contaminações microbiológicas ao longo do seu mês de utilização, é necessário testar o seu nível de esterilidade ao longo desse período de tempo. Não foi testado o armazenamento de desinfetante diluído, devido ao facto que o volume de solução de desinfetante preparado ser apenas o necessário para cada utilização. Todo o procedimento e metodologia do teste encontra-se exposto na Tabela 3.8.

3.7. Histórico de microrganismos da Secção de Injetáveis

É importante avaliar os microrganismos isolados da Secção de Injetáveis, de acordo com a sua incidência, e analisando as suas espécies e origens, de forma a analisar se os desinfetantes utilizados são os mais apropriados e eficazes para com os mesmos, bem como determinar quais as mais prováveis fontes de contaminação, de forma a possibilitar a sua redução ou eliminação.

A análise do histórico de microrganismos foi realizada através da análise dos microrganismos recolhidos e identificados de fardamento, superfícies e ar no 1º Semestre do 2019.

3.8. Estudo de Eficácia Antimicrobiana

3.8.1. Avaliação *in vitro*

Uma forma de avaliar a eficácia de desinfetantes é através de testes *in vitro*, contra microrganismos de referência, para umas determinadas condições, como tempo de contacto ou temperatura.

3.9. Monitorização

Para assegurar que o programa de limpeza e desinfeção é eficiente, é necessária uma monitorização constante de não só o controlo microbiológico do ar, superfícies e fardamento das salas limpas, mas também da água PPI introduzida nas mesmas, a sua temperatura e humidade, diferenciais de pressão entre salas de diferentes graus e o registo de entradas na sua zona crítica. Estas monitorizações servem para garantir que a sala limpa se mantém nas condições necessárias para minimizar o risco de contaminação e desenvolvimento de bactérias.

Neste trabalho, não se encontram representados a monitorização de temperatura, humidade e diferenciais de pressão devido a um erro no sistema informático, que impossibilitou a recolha de dados.

Monitorização Microbiológica da água PPI

A monitorização da água PPI foi realizada através da análise de dados do 1º Semestre de 2019 de análises microbiológicas, realizadas sempre que era produzido um novo lote.

Monitorização de Entradas

A monitorização de entradas foi realizada através da análise de dados do 1º Semestre de 2019 de registos no *logbook*.

3.10. Verificação do Processo de Limpeza e Desinfeção

De forma a preparar uma possível melhoria do processo de Limpeza e Desinfeção, através de uma análise de risco, é necessária uma avaliação do desempenho dos operadores na sua realização, com o intuito de perceber quais os passos da mesmo que necessitam de melhoria. Assim, foi desenvolvida uma *checklist*, cujo procedimento para a sua elaboração se encontra na Tabela 3.10.

Tabela 3.10 – Teste de verificação do processo de limpeza e desinfeção

Objetivo Verificação do processo de limpeza e desinfeção de superfícies, incluindo os passos de preparação.
Material Tabela 3.3 - Fardamento e equipamentos de proteção individual recomendados e utilizados na Secção de Injetáveis Tabela 3.4 – Utensílios de Limpeza utilizados na Secção de Injetáveis
Metodologia Antes do começo do processo de limpeza e desinfeção, verificar os seguintes aspetos: <ul style="list-style-type: none">• Verificação das validades dos produtos de limpeza;• Verificação do desinfetante a utilizar. Antes do processo de diluição do detergente/desinfetante, verificar os seguintes aspetos: <ul style="list-style-type: none">• Verificação visual da contaminação das superfícies;• Verificação do material de limpeza.

Tabela 3.10 – Teste de verificação do processo de limpeza e desinfecção (cont.)

<p>No processo de diluição do detergente/desinfetante, verificar os seguintes aspetos:</p> <ul style="list-style-type: none">• Verificação do volume de água e produto utilizados;• Verificação da temperatura da água;• Verificação da ordem de adição do desinfetante e água. <p>No processo de aplicação do detergente/desinfetante nas superfícies, verificar os seguintes aspetos:</p> <p>Verificação da aplicação:</p> <ul style="list-style-type: none">• Efetuada com movimentos unidireccionais, com sobreposição;• Efetuada da zona de menor contaminação para a de maior contaminação;• Ordem de salas e superfícies;• Conformidade de passos sequenciais do processo: Tabela de folhas de resultados;• Fecho de cada sala após limpeza e desinfecção. <p>Outros parâmetros:</p> <ul style="list-style-type: none">• Duração (Início e fim do processo);• Despejo de água contaminada;• Limpeza do material utilizado;• Armazenamento do material utilizado;• Preenchimento do <i>logbook</i> com a duração do processo.
<p>Critério de Aceitação</p> <p>Conformidade dos parâmetros referidos nas folhas de registo de resultados para o programa de desinfecção.</p>

3.11. Análise de Risco e Efeito ao processo de limpeza

Após a verificação do Procedimento de Limpeza e Desinfecção, foi elaborada uma Análise de Risco utilizado a metodologia de Análise de Modo de Falha e seus Efeitos (FMEA) para analisar de forma semi-quantitativa, com base na informação recolhida, quais os passos críticos, determinando tal através de uma avaliação tendo como base 3 parâmetros: Severidade, Ocorrência e Detecção

O parâmetro de Severidade (S) é atribuído aos efeitos da falha, e às consequências que a mesma tem no processo de Limpeza e Desinfecção.

O parâmetro de Ocorrência (O) é atribuído às possíveis causas da falha, e, tendo em conta ocorrências anteriores, quão alta é a possibilidade de a mesma se repetir.

O parâmetro de Detecção (D) é atribuído aos métodos de deteção e controlo existentes, e a potencial facilidade de as falhas serem detetadas, tanto antes como após a ocorrência da falha.

Os níveis de Risco de cada parâmetro estão representados na Tabela 3.11, tendo sido calculados os possíveis números de prioridade de risco (RPN) na

Parâmetros	Nível de Risco	Definição	Ação
Severidade	10	Falha grave excede limite de especificação, compromete qualidade de produto	Rejeição do lote
	7	Falha é significativa, excede limite de alerta	Necessário repetir processo de limpeza
	4	Falha é pouco significativa, contém desvio de tendência	Necessária investigação
	1	Falha é insignificante, não excedendo quaisquer limites	Não é necessária qualquer ação
Ocorrência	10	Probabilidade de ocorrência $\geq 50\%$	
	7	Probabilidade de ocorrência $> 10\%$ a $< 50\%$	
	4	Probabilidade de ocorrência $> 1\%$ a $\leq 10\%$	
	1	Probabilidade de ocorrência $\leq 1\%$	
Deteção	10	Deteção do erro é improvável	
	7	Deteção do erro é possível por testes	
	4	Deteção do erro é possível após observação minuciosa	
	1	Deteção do erro é imediata por parte do trabalhador	

Tabela 3.12 e um limite atribuído a cada Factor de Risco na Tabela 3.13.

Tabela 3.11 – Escala de Avaliação de cada Parâmetro

Parâmetros	Nível de Risco	Definição	Ação
Severidade	10	Falha grave excede limite de especificação, compromete qualidade de produto	Rejeição do lote
	7	Falha é significativa, excede limite de alerta	Necessário repetir processo de limpeza
	4	Falha é pouco significativa, contém desvio de tendência	Necessária investigação
	1	Falha é insignificante, não excedendo quaisquer limites	Não é necessária qualquer ação
Ocorrência	10	Probabilidade de ocorrência $\geq 50\%$	
	7	Probabilidade de ocorrência $> 10\%$ a $< 50\%$	
	4	Probabilidade de ocorrência $> 1\%$ a $\leq 10\%$	
	1	Probabilidade de ocorrência $\leq 1\%$	
Deteção	10	Deteção do erro é improvável	
	7	Deteção do erro é possível por testes	
	4	Deteção do erro é possível após observação minuciosa	
	1	Deteção do erro é imediata por parte do trabalhador	

Tabela 3.12 – Cálculo de Números de Prioridade de Risco

		Severidade															
		1				4				7				10			
Deteção	10	10	40	70	100	40	160	280	400	70	280	490	700	100	400	700	1000
	7	7	28	49	70	28	112	196	280	49	196	343	490	70	280	490	700
	4	4	16	28	40	16	64	112	160	28	112	196	280	40	160	280	400
	1	1	4	7	10	4	16	28	40	7	28	49	70	10	40	70	100
		1	4	7	10	1	4	7	10	1	4	7	10	1	4	7	10
		Ocorrência															

Tabela 3.13 – Fatores de Risco e Ações correspondentes

Factor de Risco	RPN	Ação Recomendada
Intolerável	≥343	Medidas de ação urgentes
Significativo	100-280	Medidas de ação necessárias
Razoável	49-70	Decisão caso a caso
Reduzido	1-40	Medidas de ação não necessárias

4. Apresentação e discussão dos resultados obtidos

4.1. Análise de Risco para escolha dos piores casos

Para a realização de quaisquer testes nas superfícies da zona crítica, como a avaliação da eficácia antimicrobiana dos desinfetantes a testar, é necessário realizar uma análise de risco, uma identificação dos pontos potencialmente críticos, e uma subsequente análise dos mesmos, de forma a obter um “piores caso”.

4.1.1. Seleção dos Pontos de Amostragem

Uma representação da zona crítica onde foram registadas as amostras encontram-se na Figura 4.1.



Figura 4.1 – Representação de zona crítica

Os pontos de amostragem considerados na análise de risco, encontram-se na Tabela 4.1, sendo representativos de cada um dos tipos de superfícies em cada uma das salas com maior possível contacto com os trabalhadores. O seu grau EU GMP, bem como a sua técnica de amostragem, foi atribuída tendo em consideração a classificação de salas limpas do Método Analítico Interno.

Tabela 4.1 – Pontos de amostragem, respetivos graus EU GMP e técnica utilizada para amostragem

Pontos de amostragem	Grau	Técnica
Vestiário • Parede • Chão	C	Placas de contacto
SAS para a saída do vestiário • Parede • Chão	B	Placas de contacto
Corredor interno • Parede • Chão	B	Placas de contacto
Sala de lavagem - Bloco estéril • Parede • Chão	C	Placas de contacto
Sala de preparação - Bloco estéril • Bancada • Parede • Chão	C	Placas de contacto
Sala de filtração • Parede • Chão	B	Placas de contacto
Sala de enchimento • Parede • Chão	B	Placas de contacto

A análise de risco efetuada tem como fundamentais pontos de consideração os fatores da importância de contaminação da superfície tendo em conta a sua localização (Factor A), a exposição ao produto (Factor B) e a probabilidade de contaminação (Factor C).

A avaliação de importância de contaminação da superfície tendo em conta a sua localização remete à sua avaliação de grau EU GMP, sendo representado na Tabela 4.2 o nível de risco representado por cada grau.

Tabela 4.2 – Níveis de grau EU GMP de Sala Limpa e respetivos fatores

Grau EU-GMP	Factor	Probabilidade
Grau A e Grau B	5	Elevada
Grau C	3	Média
Grau D	1	Reduzida

A avaliação da exposição ao produto, foi efetuada com base na proximidade dos pontos de amostragem a locais e equipamentos com proximidade ao produto, sendo representado na Tabela 4.3 o nível de risco representado por cada nível de proximidade.

Tabela 4.3 – Níveis de exposição ao produto e respetivos fatores

Exposição ao Produto	Factor	Probabilidade
Zona de Grande Proximidade ao Produto Exposto	5	Elevada
Zona de Média Proximidade ao Produto Exposto	3	Média
Zona de Reduzida Proximidade ao Produto Exposto	1	Reduzida

A avaliação da probabilidade de contaminação foi efetuada com base na proximidade dos pontos de amostragem de locais de grande exposição e residência de pessoal, sendo representado na Tabela 4.4 o nível de risco representado por cada nível de exposição.

Tabela 4.4 – Níveis de probabilidade de contaminação e respetivos fatores

Probabilidade de Contaminação	Factor	Probabilidade
Zona de permanência de operadores ou com fluxo elevado de operadores e materiais.	5	Elevada
Zona de fluxo médio de pessoal da secção e materiais	3	Média
Zona com fluxo reduzido de pessoal e materiais.	1	Reduzida

Para o cálculo dos fatores de risco, é efetuada uma simples multiplicação dos fatores:

$$\text{Risco Potencial} = \text{Factor A} \times \text{Factor B} \times \text{Factor C}$$

Os pontos, cujo risco potencial representa um nível considerado Significativo ou Intolerável foram considerados os pontos críticos, seguindo o Método Analítico Interno, de forma a decidir discriminar os pontos críticos, sendo os pontos de Risco Significativo considerados como necessitando a realização de uma análise de eficácia antimicrobiana de frequência mensal, enquanto os pontos de Risco Intolerável são considerados como necessitando a realização de uma análise de eficácia antimicrobiana de frequência semanal.

Os níveis de risco potencial e respetivo valores de fator estão demonstrados na Tabela 4.5, enquanto a Tabela 4.6 demonstra os resultados da análise de risco, e os pontos considerados críticos pela mesma.

Tabela 4.5 – Níveis de Risco e respetivos fatores para a análise de risco dos pontos de amostragem

Risco Potencial	Fator
Intolerável	75+
Significativo	45
Razoável	25-27
Aceitável	15
Reduzido	1-9

Tabela 4.6 - Tabela resumo do cálculo do risco potencial e pontos críticos selecionados para amostragem de superfícies

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Factor	Descrição dos pontos de amostragem	Parede Vestiário	Chão Vestiário	Parede SAS Saída Vestiário	Chão SAS Saída Vestiário	Parede Corredor Interno	Chão Corredor Interno	Parede Sala Lavagem - Bloco Estéril	Chão Sala Lavagem - Bloco Estéril	Bancada Sala Preparação - Bloco Estéril	Parede Sala Preparação - Bloco Estéril	Chão Sala Preparação - Bloco Estéril	Parede Sala Filtração	Chão Sala Filtração	Parede Sala Enchimento	Chão Sala Enchimento
	Grau GMP Sala	C	C	B	B	B	B	C	C	C	C	C	B	B	B	B
A	Localização	3	3	5	5	5	5	3	3	3	3	3	5	5	5	5
B	Exposição ao Produto	1	1	1	1	3	3	3	3	5	5	5	5	5	5	5
C	Probabilidade Contaminação	1	1	1	1	3	3	3	3	5	5	5	5	5	5	5
Risco Potencial		3	3	5	5	45	45	27	27	75	75	75	125	125	125	125
Pontos críticos de amostragem (Código)		n/a	n/a	n/a	n/a	1	2	n/a	n/a	3	4	5	6	7	8	9

A validação do processo de limpeza e desinfeção de superfícies da Secção de Injetáveis incluirá todos os pontos com probabilidade de risco intolerável e significativo, tendo sido obtidos 9 pontos críticos para amostragem, 2 de análise mensal e 7 de análise semanal.

4.1.2. Seleção do dia de Amostragem

Sendo realizadas análises semanais, é necessário analisar qual o dia semanal que representa o pior caso a nível de risco potencial de contaminação. Esta determinação é também efetuada com base numa análise de risco.

Uma semana normal de trabalho, inicia-se na 2ª feira, e termina na 6ª feira, com alguma possível atividade no Sábado. O Domingo destaca-se como o dia escolhido para a desinfeção por fumigação, devido a não existir qualquer atividade nesse dia.

A análise de risco é baseada em dois fatores, os fatores da probabilidade qualitativos de contaminação das superfícies, tendo em conta o período de tempo decorrido após última fumigação (Factor D) e a existência de possíveis fontes de contaminação (Factor E).

A avaliação do período de tempo após última fumigação e o risco correspondente encontra-se representada na Tabela 4.7, com o nível de risco representado por cada grau.

Tabela 4.7 – Níveis de períodos de tempo após última fumigação e respetivos fatores

Período de tempo após última fumigação	Factor	Probabilidade
Superior a 3 dias	5	Muito elevada
3 dias	4	Elevada
2 dias	3	Média
1 dia	2	Aceitável
Dia de desinfeção	1	Reduzida

A avaliação da existência de possíveis fontes de contaminação foi efetuada com base no nível de atividade de cada dia semanal, tomando como base uma semana de trabalho regular, sendo representado na Tabela 4.8 o nível de risco representado por cada nível de atividade.

Tabela 4.8 – Níveis de existência de possíveis fontes de contaminação e respetivos fatores

Existência de possíveis fontes de contaminação	Factor	Probabilidade
Atividades de produção (Fluxo de pessoas e materiais)	5	Muito elevada
Possíveis atividades de produção (Fluxo de pessoas e materiais)	3	Média
Não existem fluxo de pessoas ou materiais	1	Reduzida

Cálculo dos fatores de risco potencial

O cálculo dos fatores de risco é efetuado através da multiplicação dos fatores:

$\text{Risco Potencial} = \text{Factor C} \times \text{Factor D}$

Análise de risco/Conclusão

Os dias cujo risco potencial representa um nível Intolerável, a 5ª e a 6ª feira, foram considerados os dias críticos, sendo esses os dias semanais cuja contaminação de superfícies seria mais provável.

Os níveis de risco potencial e respetivo valores de fator estão demonstrados na Tabela 4.9, enquanto a Tabela 4.10 demonstra os resultados da análise de risco, e os dias considerados críticos pela mesma.

Tabela 4.9 - Níveis de Risco e respetivos fatores para a análise de risco do dia de amostragem

Risco Potencial	Factor
Intolerável	25
Significativo	20
Razoável	12-15
Aceitável	5-10
Reduzido	1-4

Tabela 4.10 - Tabela resumo do cálculo do factor de risco potencial e dia de amostragem selecionado

Factor	Programa	Programa de Desinfeção						
		2ª feira	3ª feira	4ª feira	5ª feira	6ª feira	Sáb.	Dom.
C	Período de tempo após última fumigação	1	2	3	5	5	5	1
D	Existência de possíveis fontes de contaminação	5	5	5	5	5	3	1
Risco Potencial		5	10	15	25	25	15	1

A amostragem de superfícies para validação do processo de limpeza e desinfeção deverá ser efetuada 5ª ou 6ª feira.

4.2. Avaliação de Compatibilidades

4.2.1. Avaliação de Compatibilidades entre Desinfetantes e Materiais

Os desinfetantes em teste apresentam, na sua diversa documentação, proveniente do fabricante, listagens acerca da compatibilidade dos produtos com alguns tipos de materiais existentes na sala limpa, sendo que os seus resultados relevantes, referentes aos materiais utilizados na Secção de Injetáveis, encontram-se incluídos na Tabela 4.11.

Tabela 4.11 - Compatibilidades dos desinfetantes com os diferentes materiais existentes na Secção de Injetáveis [23,25,26,38]

	Environ Lph	Vesta Syde SQ	Minncare	Spor-klenz
PVC	C	I para Vinil, C para Plásticos	SD	C
Alumínio	SD	I	I	I
Epóxi	C	C	SD	C
Vidro	C	C	C	C
Aço Inox	C	C	C	C
Painel (Chapa de Aço)	C	C	C	C

Legenda: C – Compatível I – Incompatível SD – Sem Dados

Caso a informação recebida pelos fornecedores seja incoerente entre si, é aconselhável a realização de testes de compatibilidade, os quais serão tomados como principal consideração.

São realizados testes de compatibilidade entre os desinfetantes e os próprios materiais constituintes da Secção de Injetáveis, devido a confirmar que os resultados dos fabricantes se mantêm iguais com o tipo específico de material utilizado, e de forma a resolver qualquer incoerência entre a informação recebida.

Os resultados do teste de compatibilidade encontram-se representados pelas Figura 4.2 até à Figura 4.4, com o resumo dos resultados da observação ao final de 2 semanas, representado na Tabela 4.12.

Tabela 4.12 – Tabela Resumo das Compatibilidades entre Materiais e Desinfetantes

Superfície Desinfetante	Painel	Epóxi	Inox	PVC	Vidro
Environ Lph	C	C	C	C	C
Spor-klenz	C	C	C	C	C
Vesta Syde SQ	C	C	C	C	C

C – Compatível

As amostras de material utilizadas para o teste de compatibilidades foram recolhidas de material em excesso armazenado, não havendo disponíveis amostras de alumínio.

Observando a reação das amostras com os desinfetantes ao longo de 2 semanas, é possível verificar que não demonstraram quaisquer sinais de incompatibilidade com os desinfetantes utilizados para teste. Apesar de algum desgaste em alguma das amostras, é de notar que o mesmo é proveniente de antes dos testes.

Devido à não possibilidade da execução de um teste utilizando uma amostra de alumínio, sugere-se a realização de um novo teste, num futuro próximo, focado no mesmo, para se averiguar qual a sua compatibilidade com o desinfetante Environ, bem como investigar qual a gravidade dos efeitos da incompatibilidade do material com os outros desinfetantes.

Pela informação disponível, é sugerido evitar a utilização de alumínio na sala limpa, devido à sua documentada incompatibilidade com a maior parte dos desinfetantes em uso. Caso a implementação de alumínio seja inevitável, sugere-se um controlo do seu estado através de uma monitorização regular, para que qualquer alteração seja detetada atempadamente.

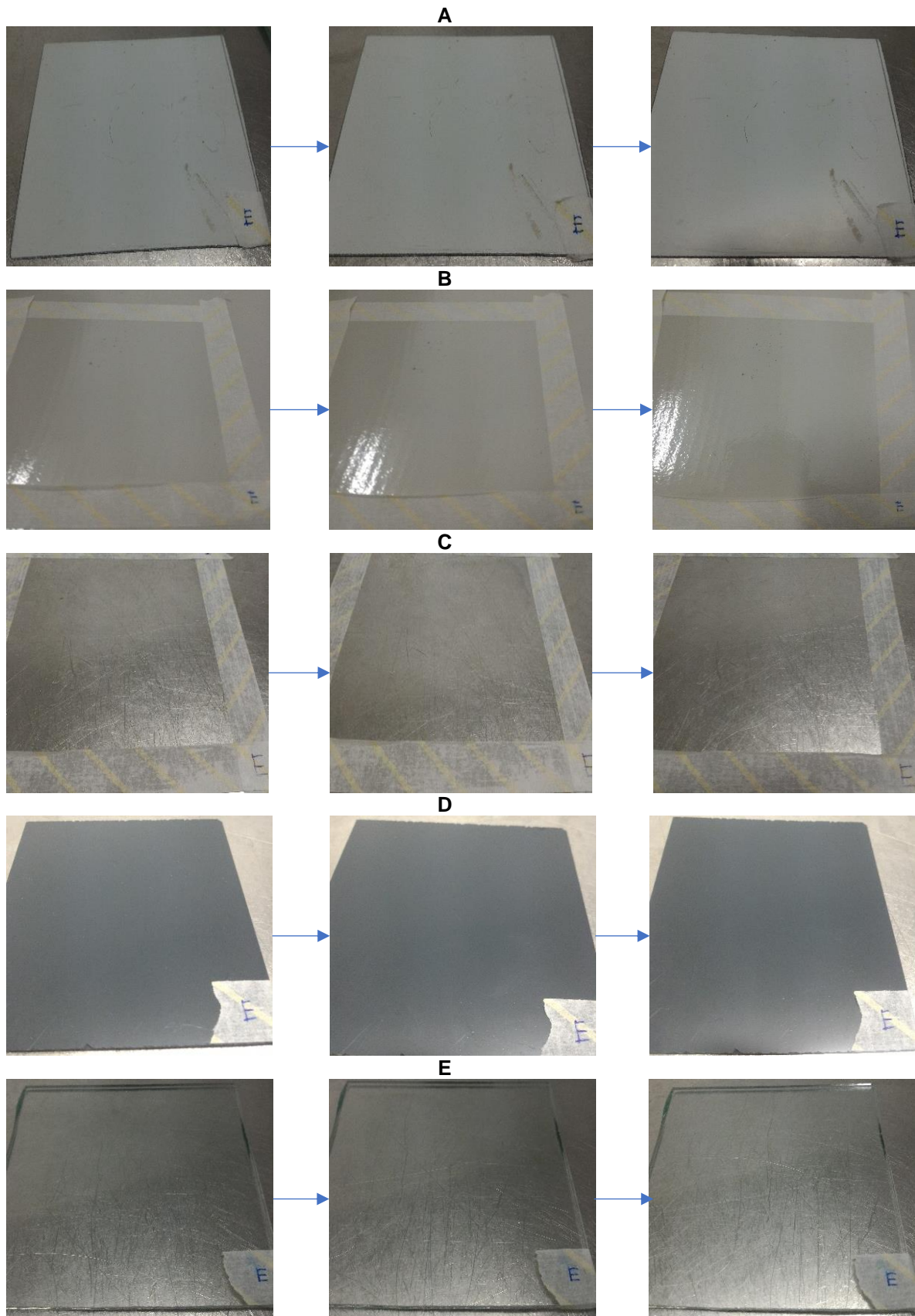


Figura 4.2 - Compatibilidade entre Environ LpH e Materiais: Antes de teste, final de 1ª semana, final de 2ª semana. A – Painel de Sala Limpa; B – Epóxi; C – Inox; D – PVC; E - Vidro

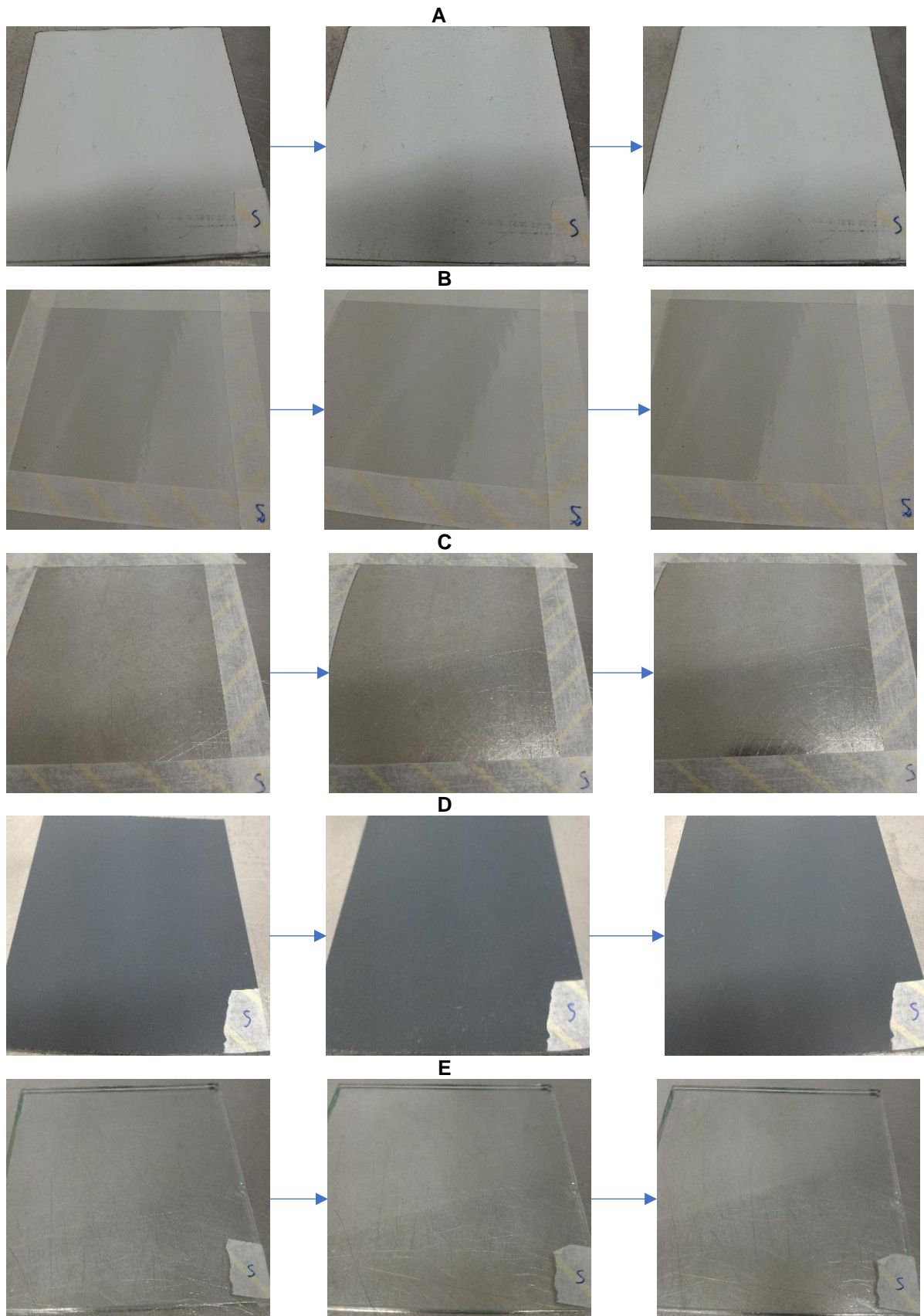


Figura 4.3 - Compatibilidade entre Spor-klenz e Materiais: Antes de teste, final de 1ª semana, final de 2ª semana. A – Painel de Sala Limpa; B – Epóxi; C – Inox; D – PVC; E - Vidro

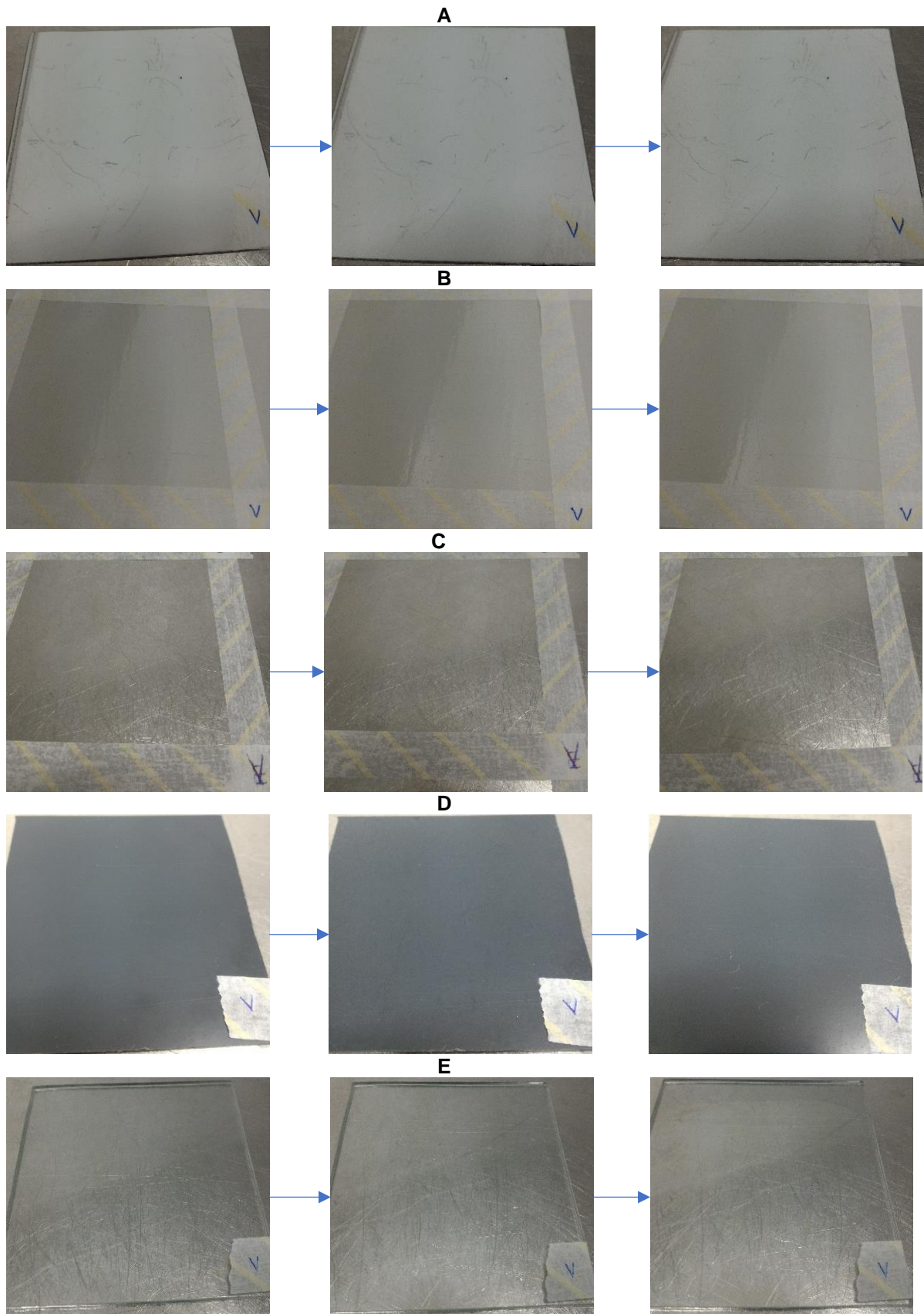


Figura 4.4 - Compatibilidade entre Vesta Syde SQ e Materiais: Antes de teste, final de 1ª semana, final de 2ª semana. A – Painel de Sala Limpa; B – Epóxi; C – Inox; D – PVC; E - Vidro

4.2.2. Avaliação de Compatibilidades entre Desinfetantes

Os resultados da avaliação de compatibilidades entre desinfetantes encontram-se representados na Tabela 4.13.

Tabela 4.13 – Análise de compatibilidades entre os desinfetantes [20,22,24,27]

	Environ Lph	Vesta Syde SQ	Minnicare	Spor-klenz
Environ Lph		Incompatível (Alteração de pH)	Incompatível (Incompatibilidade de cargas elétricas dos grupos funcionais)	Incompatível (Incompatibilidade de cargas elétricas dos grupos funcionais)
Vesta Syde SQ	Incompatível (Alteração de pH)		Incompatível (Alteração de pH)	Incompatível (Alteração de pH)
Minnicare	Incompatível (Incompatibilidade de cargas elétricas dos grupos funcionais)	Incompatível (Alteração de pH)		Compatível (Mesmos grupos funcionais)
Spor-klenz	Incompatível (Incompatibilidade de cargas elétricas dos grupos funcionais)	Incompatível (Alteração de pH)	Compatível (Mesmos grupos funcionais)	

No caso de incompatibilidade entre desinfetantes, é aconselhado evitar-se o contacto entre os mesmos. Tal é possível através da introdução de rotações mensais de utilização, utilizações de tempo espaçado, ou a diminuição de possibilidade de resíduos de desinfetante, através da redução de excessos ou limpeza e enxaguamento prévio à desinfeção.

4.3. Neutralização

Nos procedimentos seguidos neste protocolo, a amostragem das superfícies é efetuada após um período de tempo pré-definido, através da utilização de uma placa de contacto contendo um meio neutralizante, representado na Tabela 4.14, pelo que não será necessário a utilização de um outro neutralizante.

Tabela 4.14 – Constituição das placas de contacto utilizadas na Secção de Injetáveis

Meio de Cultura	TSA + Neutralizantes (Placa de Contacto)	
Nome	Count-Tact Agar	
Ingredientes	Peptona (caseína)	15 g/l
	Peptona (soja)	5 g/l
	Cloreto de sódio	5 g/l
	Agar-agar	15 g/l
	Polissorbato 80	5 g/l
	Lecitina	0,7 g/l
	L-histidina	0,5 g/l
	Tiosulfato de sódio	0,5 g/l

Analisando os ingredientes que constituem a placa de contacto, verifica-se que existem na sua constituição neutralizantes para todos os desinfetantes utilizados.

Na Tabela 4.15 está representada a conformidade entre a placa de contacto e alguns microrganismos de referência das normas BS EN 1276:1997, BS EN 1650:1997, BS EN 13697:2001 e BS EN 13704:2002, provenientes de certificados de análise dos meios de cultura, de forma a verificar a não-toxicidade dos mesmos para com os microrganismos:

Tabela 4.15 – Compatibilidade da placa de contacto com os microrganismos de referência

Microrganismo	Características	Fonte de Contaminação	Placa de Contacto
<i>Staphylococcus aureus</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas[39]	Pele e mucosas[39]	C
<i>Escherichia coli</i>	Bactérias Gram- Patogénicas[40]	Trato Gastrointestinal [40]	SD
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Bactérias Gram- Patogénicas Oportunistas[41]	Pele e Boca[42]	C
<i>Candida albicans</i>	Leveduras Patogénicas Oportunistas[43]	Trato Digestivo[44]	C
<i>Bacillus subtilis</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas formadora de esporos[45]	Solo[45]	C
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	Fungos Patogénicos Oportunistas[46]	Solo[46]	C
<i>Clostridium sporogenes</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas formadora de esporos[47]	Trato Gastrointestinal [48]	SD

Legenda: C – Conforme NC – Não Conforme SD – Sem Dados

Assim, é possível verificar que a placa de contacto não é confirmada como tóxica para qualquer microrganismo de referência, sendo não-tóxica para a maioria e não havendo dados para os restantes.

4.4. Esterilidade Durante Utilização

Os resultados dos testes de esterilidade dos desinfetantes encontram-se representados na Tabela 4.16.

Tabela 4.16 – Resultados do teste de Esterilidade durante Utilização dos Desinfetantes em Uso

Desinfetante	Lote desinfetante	Data de amostragem	Estado	Notas	Amostra de Controlo	Resultados (UFC/ml)	Amostra	Crítérios de aceitação	Resultados (UFC/ml)			
Environ LPH	1º Lote: 18121051 2º Lote: 190030012	5/7	Aberto e em uso		B0 TSA	0	AE0 TSA	0 UFC/ml	0			
					B0 SDA	0	AE0 SDA		0			
		12/7	Fechado	2º Frasco e 2º Lote	B1 TSA	0	AE1 TSA		0			
					B1 SDA	0	AE1 SDA		0			
		19/7	Aberto e em uso		B2 TSA	0	AE2 TSA		0			
					B2 SDA	0	AE2 SDA		0			
		26/7	Aberto e em uso		B3 TSA	0	AE3 TSA		0			
					B3 SDA	0	AE3 SDA		0			
		02/8	Aberto	3º Frasco	B4 TSA	0	AE4 TSA		0			
					B4 SDA	0	AE4 SDA		0			
		Vesta Syde SQ	1º Lote: 289479	5/7	Aberto		B0 TSA		0	AE0 TSA	0 UFC/ml	0
							B0 SDA		0	AE0 SDA		0
12/7	Aberto				B1 TSA	0	AE1 TSA	0				
					B1 SDA	0	AE1 SDA	0				
19/7	Aberto				B2 TSA	0	AE2 TSA	0				
					B2 SDA	0	AE2 SDA	0				
26/7	Aberto				B3 TSA	0	AE3 TSA	0				
					B3 SDA	0	AE3 SDA	0				
02/8	Aberto e em uso			2º Frasco	B4 TSA	0	AE4 TSA	0				
					B4 SDA	0	AE4 SDA	0				
Minncare	1º Lote: 903753	5/7	Aberto		B0 TSA	0	AE0 TSA	0 UFC/ml	0			
					B0 SDA	0	AE0 SDA		0			
		12/7	Aberto		B1 TSA	0	AE1 TSA		0			
					B1 SDA	0	AE1 SDA		0			
		19/7	Aberto		B2 TSA	0	AE2 TSA		0			
					B2 SDA	0	AE2 SDA		0			

Tabela 4-16 – Resultados do teste de Esterilidade durante Utilização dos Desinfetantes em Uso (cont.)

Spor-Klenz	1º Lote: 907513	5/7	Aberto e em uso		B0 TSA	0	AE0 TSA	0 UFC/ml	0
					B0 SDA	0	AE0 SDA		0
		12/7	Aberto e em uso		B1 TSA	0	AE1 TSA		0
					B1 SDA	0	AE1 SDA		0
		19/7	Aberto e em uso		B2 TSA	0	AE2 TSA		2
					B2 SDA	0	AE2 SDA		1
		26/7	Aberto e em uso	2º Frasco	B3 TSA	0	AE3 TSA		0
					B3 SDA	0	AE3 SDA		0
		02/8	Aberto e em uso		B4 TSA	0	AE4 TSA		0
					B4 SDA	0	AE4 SDA		0

De todas as amostras recolhidas, apenas um desinfetante acusou resultados positivos numa secção do teste, o desinfetante pronto-a-usar Spor-Klenz, sendo prontamente retirado de uso e substituído por uma nova embalagem.

As colónias encontradas foram identificadas, sendo:

Spor-klenz AE2 TSA: *Staphylococcus warneri*; *Chryseobacterium indologenes*

Spor-klenz AE2 SDA: *Pseudomonas putida*

Após identificação, as suas características foram investigadas, sendo as mesmas expostas na Tabela 4.17.

Tabela 4.17 – Características dos microrganismos identificados no teste de Esterilidade [49-52]

Microrganismo	Características	Fonte de Contaminação
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	Bactérias Gram- Patogénicas Oportunistas [49]	Solo [50]
<i>Pseudomonas putida</i>	Bactérias Gram- Patogénicas Oportunistas [51]	Solo e Água [51]
<i>Staphylococcus warneri</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas [52]	Pele [52]

Sugere-se que a contaminação do desinfetante Spor-Klenz se deu a um conjunto de fatores:

- O facto de o mesmo ser pronto-a-usar, ou seja, a embalagem contém um produto já diluído, invés de um produto concentrado, como é o caso dos outros desinfetantes em teste.
- O desinfetante Spor-Klenz tem um tempo de vida útil de 14 dias, de acordo com a ficha técnica do mesmo. No entanto, de acordo com registos de análise, o mesmo tinha sido aberto cerca de 2 meses atrás. A utilização de um desinfetante após a sua vida útil resulta numa possível redução da sua eficácia bactericida, sendo tal a mais provável razão do mesmo se ter encontrado contaminado.

- A introdução dos microrganismos ao conteúdo da embalagem terá sido devida a microrganismos existentes na superfície da embalagem e da sua tampa, devido à mesma residir numa área não-crítica.

Sugere-se então a criação de um Procedimento Técnico Interno que instrua claramente o tempo de vida útil de cada desinfetante, bem como uma monitorização que garanta que os mesmos são substituídos imediatamente após o seu fim, se ultrapassado.

4.5. Histórico de microrganismos da Secção de Injetáveis

Nas Figura 4.5 até Figura 4.7, estão representados os dados referentes às incidências de contaminantes mais frequentes na Secção de Injetáveis, durante 1º Semestre de 2019, para o ar, fardamento e superfícies, respetivamente. As contaminações identificadas totais para cada umas das análises encontram-se representados nos Anexo A.

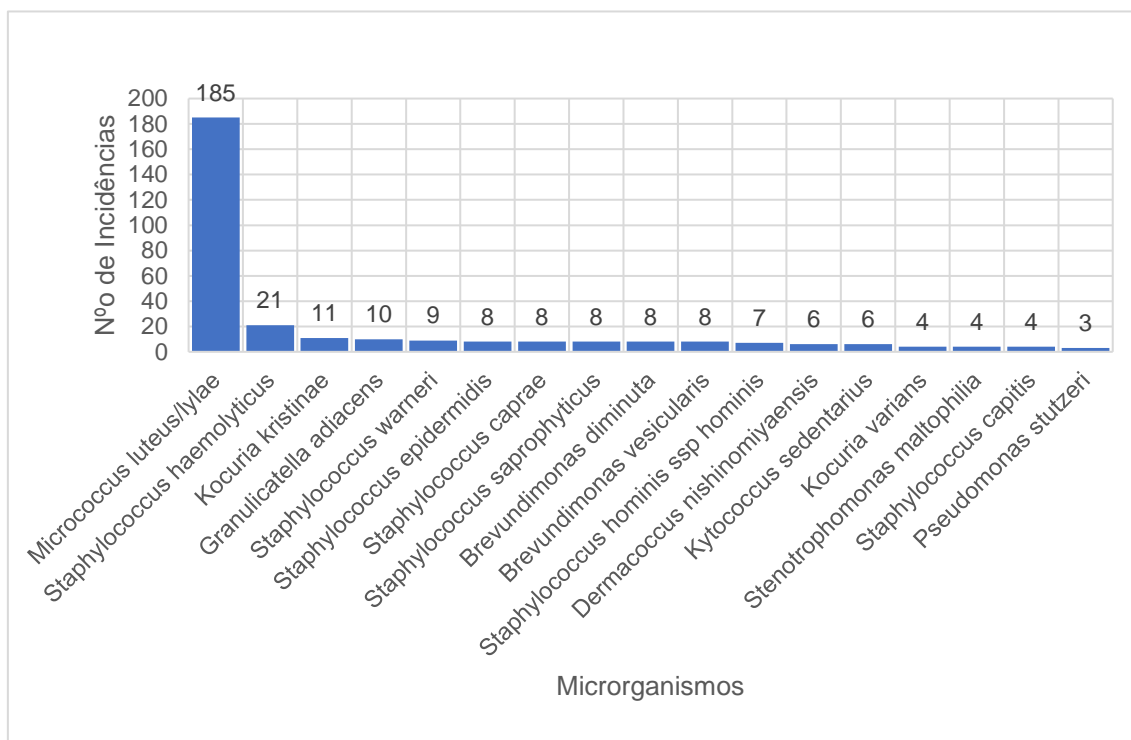


Figura 4.5 - Incidência de Contaminantes no Ar - 1º Semestre 2019

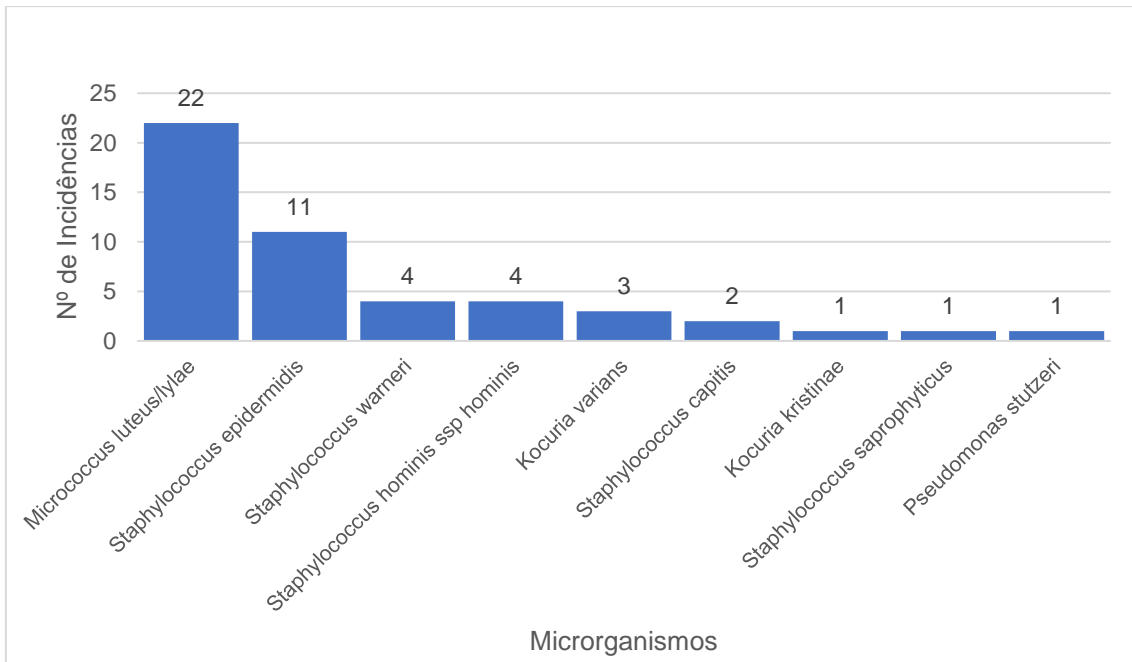


Figura 4.6 - Incidência de Contaminantes no Fardamento - 1º Semestre 2019

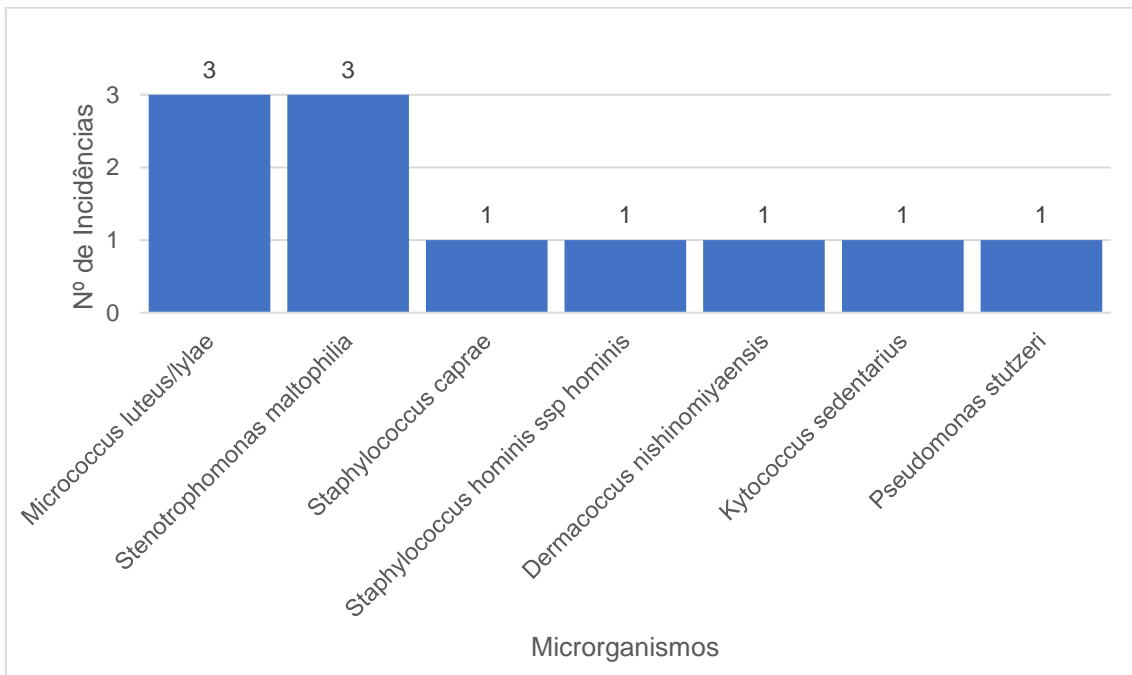


Figura 4.7 - Incidência de Contaminantes nas Superfícies - 1º Semestre 2019

A Tabela 4.18 resume os microrganismos mais frequentes de todas as amostragens, com as respetivas características e fontes de contaminação.

Tabela 4.18 - Tabela resumo de microrganismos mais frequentes na Secção de Injetáveis [52-73]

Microrganismo	Características	Fonte de Contaminação
<i>Micrococcus luteus/lylae</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas [53]	Pele e mucosas [53]
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas [54]	Pele [54]
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Acidentais [55]	Pele [55]
<i>Staphylococcus warneri</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas [52]	Pele [52]
<i>Kocuria kristinae</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas [56]	Pele e mucosas [56]
<i>Staphylococcus hominis ssp hominis</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas [57]	Pele [57]
<i>Granulicatella adiacens</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas [58]	Boca [59]
<i>Staphylococcus caprae</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas [60]	Pele [60]
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas [61]	Pele [62]
<i>Brevundimonas diminuta</i>	Bactérias Gram- Patogénicas Oportunistas [63]	Água [64]
<i>Brevundimonas vesicularis</i>	Bactérias Gram- Patogénicas Oportunistas [65]	Água [64]
<i>Kocuria varians</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas [66]	Pele e mucosas [66]
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Bactérias Gram- Patogénicas Oportunistas [67]	Água [67]
<i>Dermacoccus nishinomiyaensis</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas [68]	Pele [68]
<i>Kytococcus sedentarius</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas [69]	Pele [69]
<i>Staphylococcus capitis</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas [70]	Pele [71]
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Bactérias Gram- Patogénicas Oportunistas [72]	Solo [73]

Os gráficos anteriores permitem verificar que a maioria das contaminações é originada por *Micrococcus luteus/lylae*, que, tal como a maioria das bactérias identificadas, são bactérias Gram+ patogénicas oportunistas, provenientes da pele e mucosas.

Bactérias patogénicas oportunistas são a designação dada a bactérias que são tipicamente não-patogénicas, mas que se podem tornar patogénicas devido a uma fragilização do hospedeiro [74].

A existência de maioritariamente bactérias Gram+, e apenas alguns casos de bactérias Gram-, é um factor positivo, visto bactérias Gram- serem mais perigosas devido a uma maior dificuldade na sua eliminação por sistemas imunitários e à libertação de endotoxinas.

A fonte principal de contaminação das bactérias identificadas é a pele, tal devido à existência de milhões de microrganismos na mesma, e o facto de o ser humano libertar fragmentos de pele constantemente, algo que o fardamento é incapaz de bloquear completamente.

Uma outra fonte de contaminação é água, devido à possibilidade de bactérias alterarem as suas características e poderem crescer dentro dos próprios sistemas de água.

4.6. Estudo de Eficácia Antimicrobiana

4.6.1. Avaliação *in vitro*

Os principais resultados dos testes *in vitro* dos desinfetantes, provenientes dos fabricantes, encontram-se resumidos na Tabela 4.19, bem como os seus critérios de aceitação e microrganismos de referência.

Tabela 4.19 - Resultados documentais dos desinfetantes em relação às normas [21,22,24,27]

Norma	Organismo	Estirpe	Critérios de aceitação	Environ LPH	Vesta Syde SQ	Spor-klenz	Minncare
BS EN 1276:1997 Teste de suspensão quantitativo para a avaliação de atividade bactericida	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	DSM 939	Redução de 5 log, sob a temperatura de 20°C e 5 minutos de contacto	Limpo	Sujo	Sujo	Passa
	<i>Escherichia coli</i>	DSM 682		Limpo	Sujo	Sujo	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	DSM 799		Limpo	Sujo	Sujo	
	<i>Enterococcus hirae</i>	DSM 3320		Limpo	Limpo	Sujo	
BS EN 1650:1997 Teste de suspensão quantitativo para a avaliação de atividade fungicida ou leveduricida	<i>Candida albicans</i>	DSM 1386	Redução de 4 log, sob a temperatura de 20°C e 15 minutos de contacto		Sujo	Sujo	Passa
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	DSM 1988			Sujo	Sujo	
BS EN 13697:2001 Teste de superfície não-porosa quantitativo para a avaliação de atividade bactericida e/ou fungicida	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	DSM 939	Redução de 4 log (ou redução de 3 log para fungicida) sob a temperatura de 20°C e 5 minutos de contacto	Limpo		Sujo	
	<i>Escherichia coli</i>	DSM 682		Limpo		Sujo	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	DSM 799		Limpo		Sujo	
	<i>Enterococcus hirae</i>	DSM 3320		Limpo		Sujo	
	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	DSM 1988				Fungicida	
	<i>Candida albicans</i>	DSM 1386		Limpo		Fungicida	

Tabela 4.19 - Resultados documentais dos desinfetantes em relação às normas [21,22,24,27] (cont.)

Norma	Organismo	Estirpe	Critérios de aceitação	Environ LPH	Vesta Syde SQ	Spor-klenz	Minncare
BS EN 13704:2002 Teste de suspensão quantitativo para a avaliação de atividade esporicida	<i>Bacillus subtilis</i>	DSM 347	Redução de 3 log sob a temperatura de 20°C e 10 minutos de contacto			Sujo	Passa
BS EN 13610: 2002 Teste de suspensão quantitativo para a avaliação de atividade viricida contra bacteriófagos	<i>Lactococcus lactis subsp. lactics</i> P001	DSM 4262	Redução de 4 log, sob a temperatura de 20°C e 15 minutos de contacto		Sujo		
	<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> P008	DSM 10567			Sujo		
	<i>Lactococcus lactis subsp. lactis</i> F7/2	DSM 4366			Sujo		
BS EN 14348:2005 Teste de suspensão quantitativo para a avaliação de atividade micobactericida	<i>Mycobacterium terrae</i>	ATCC 15755	Redução de 4 log sob a temperatura de 20°C e 60 minutos de contacto			Limpo	

Tabela 4.19 - Resultados documentais dos desinfetantes em relação às normas [21,22,24,27] (cont.)

Norma	Organismo	Estirpe	Critérios de aceitação	Environ LPH	Vesta Syde SQ	Spor-klenz	Minnicare
BS EN 14476:2005 Teste de suspensão quantitativo para a avaliação de atividade virídica	<i>Poliovirus Type 1 strain Sabin</i>	NiBSC Code 01/528	Redução de 4 log sob a temperatura de 20°C e 30 minutos de contacto			Sujo	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	DSM 939	1 ou menos casos positivos em 60 amostras		Passa	Passa	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	DSM 799					
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 10708						
AOAC Método de Uso Diluição	<i>Bacillus subtilis</i>	DSM 347	Nenhum caso positivo em 720 amostras			Passa	Passa
	<i>Clostridium sporogenes</i>	DSM 795					
AOAC Método de Teste Esporídica	<i>Salmonella enterica</i>	DSM 14823	1 ou menos casos positivos em 60 amostras			Passa	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	DSM 939					
	<i>Staphylococcus aureus</i>	DSM 799					
AOAC Teste de Sprays Germicidas	<i>Mouse Hepatite Virus</i>		Nenhum caso positivo em 60 amostras, ou redução de 3 log, caso seja observada citotoxicidade			Passa	
	<i>Minute Virus of Mice</i>						
	<i>Murine Norovirus</i>						
	<i>Murine para Influenza virus Type 1</i>	Sendai					
	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>	HIV-1					
	<i>Human Influenza A2 virus</i>	(A/2/ Japan/ 305/57)					

Tabela 4.19 - Resultados documentais dos desinfetantes em relação às normas [21,22,24,27] (cont.)

Norma	Organismo	Estirpe	Critérios de aceitação	Environ LPH	Vesta Syde SQ	Spor-klenz	Minnicare
AOAC Método de teste Fungicida	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	DSM 1998	Nenhum caso positivo em 20 amostras		Passa	Passa	
	<i>Aspergillus niger</i>	DSM 1957					
	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	DSM 4870					
AOAC Método de teste Tuberculicida	<i>Mycobacterium bovis</i>	DSM 45071	Nenhum caso positivo em 10 amostras			Passa	

As estirpes encontram-se nomeadas em relação à organização que as organizou, como a DSMZ e a ATCC. Os resultados “Limpo” representam os desinfetantes que passaram no teste em condições “limpas”, ou seja, com um meio de teste contaminado com 0.3 g/l de soro de albumina bovina, enquanto que “Sujo” representam os desinfetantes que passaram no teste em condições “sujas”, ou seja, com um meio de teste contaminado, pelo menos, com 3 g/l de soro de albumina bovina e eritrócitos de carneiro [75].

Todos os resultados identificados como “Passa” representam desinfetantes que passaram no teste em condições não-definidas.

São tomados como de interesse principal as normas BS EN 1276:1997, BS EN 1650:1997, BS EN 13697:2001 e BS EN 13704:2002, destacadas a negrito na tabela 4.19, devido ao principal interesse na eficácia bactericida e fungicida dos desinfetantes, documentado para todos os desinfetantes, e na eficácia esporicida, documentado apenas para os desinfetantes Minncare e Spor-Klenz.

4.6.2. Avaliação *in situ*

Na Tabela 4.20 encontram-se representados os valores de contaminação das recolhas semanais e mensais.

Tabela 4.20 – Tabela resumo de resultados de contaminação (Resultados em UFC/25 cm²)

Data	Preparação Limite Ação	Preparação			F./E. limite Ação	Filtração		Enchimento		C.I. Limite Ação	Corredor Interno		Desinfetante Utilizado
		Parede	Chão	Bancada		Parede	Chão	Parede	Chão		Parede	Chão	
23-jan	25	0	6	2	5	0	0	0	0				
24-jan										5	0	10	Environ
31-jan	25	0	1	1	5	0	0	0	3				
07-fev	25	0	4	0	5	0	26	0	1				
13-fev	25	0	0	0	5	0	0	0	0				
18-fev										5	0	0	Vesta
18-fev	25	0	1	5	5	0	0	0	1				
28-fev	25	0	52	1	5	0	0	0	0				
13-mar	25	1	1	1	5	0	1	0	0				
19-mar	25	1	5	1	5	0	0	0	0	5	0	1	Environ
28-mar	25	0	3	1	5	0	0	0	0				
04-abr	25	0	1	1	5	0	0	0	0				
11-abr	25	0	0	10	5	0	0	0	0				
16-abr	25	0	0	0	5	0	0	0	0				
23-abr	25	0	0	2	5	0	1	0	0	5	0	91	Vesta
03-mai	25	0	1	0	5	0	0	0	0				
09-mai	25	0	5	0	5	0	4	0	0				
16-mai	25	0	0	0	5	0	0	0	0				
20-mai	25	0	1	0	5	0	0	0	0	5	0	0	Environ
24-mai	25	0	1	0	5	0	0	0	0				
30-mai	25	0	1	0	5	0	0	0	0				
06-jun	25	0	6	0	5	0	0	0	0				
13-jun	25	0	0	0	5	0	0	0	0				
18-jun	25	0	1	3	5	0	0	0	1				
27-jun	25	0	1	6	5	0	0	1	0	5	0	1	Vesta

Na Tabela 4.20, foram assinalados os valores acima dos Limites de Ação e Alerta, a vermelho e amarelo respetivamente, sendo os Limites de Ação dispostos na tabela, e os de Alerta metade dos mesmos.

Foram realizados ao total 173 amostras durante o 1º Semestre de 2019, sendo que apenas 6 das mesmas ultrapassaram o limite de alerta, das quais 4 ultrapassaram também o limite de ação.

Os resultados foram mapeados para maior detalhe, representados pelas Figura 4.8 e Figura 4.9.

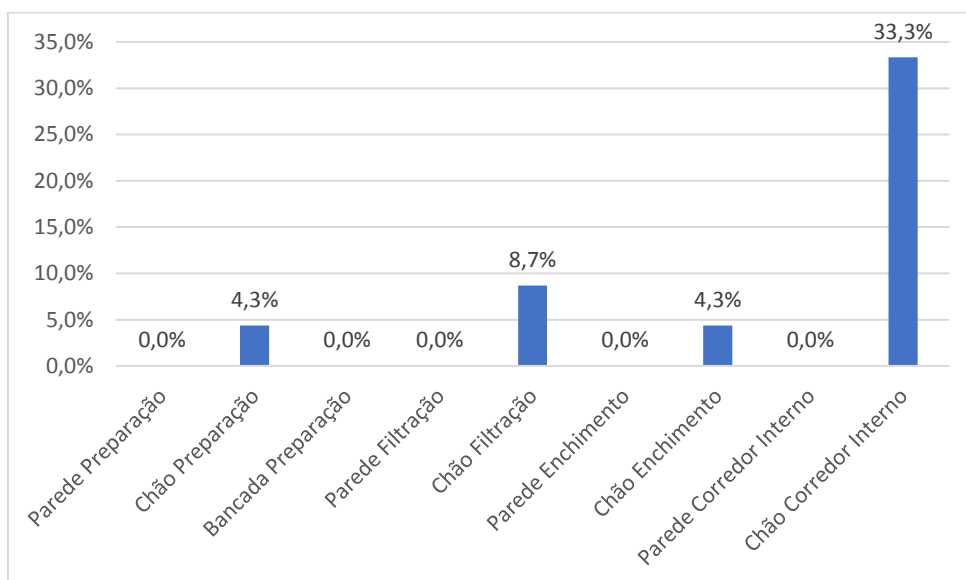


Figura 4.8 - Percentagem de Frequência de contaminação acima de Alerta

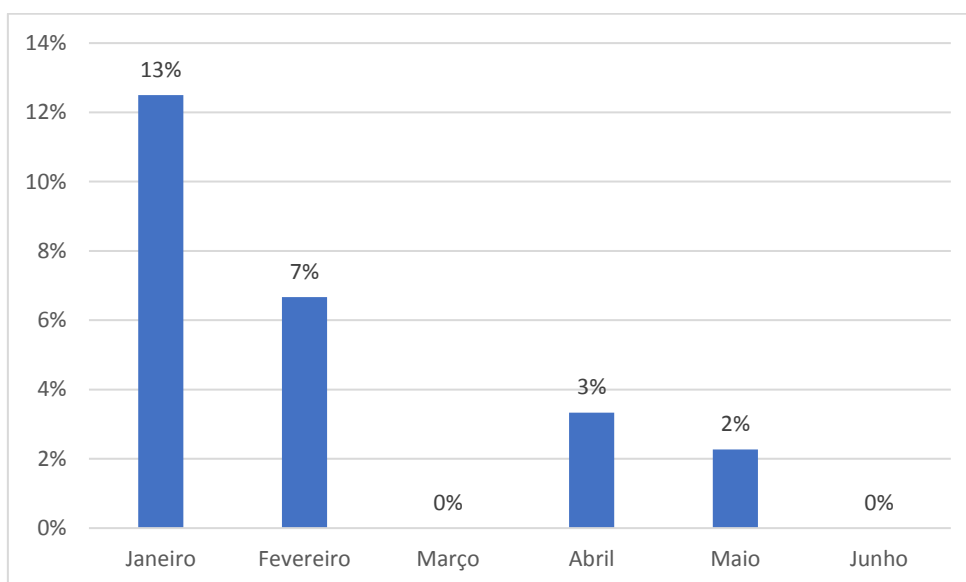


Figura 4.9 - Percentagem de Frequência Mensal de Contaminação Acima do Alerta

É possível concluir que, do tipo de superfícies existentes na zona crítica, o chão é a superfície mais predisposta a contaminações, sendo o chão do Corredor Interno o com mais observações acima do limite de ação em termos percentuais.

Sugere-se que uma das possibilidades para tal seja o mesmo ser a ligação entre as várias salas da zona crítica, o que sugere uma grande quantidade de movimento na mesma, que se traduz numa maior quantidade de partículas libertadas.

Uma forma de avaliar a eficácia dos desinfetantes, descrita pelo USP <1116>, é a avaliação do número de vezes em que foi registado qualquer contaminação, em comparação com o número total de análises. A mesma recomenda que, para zonas de Grau B, a percentagem seja inferior a 3%, enquanto que, para zonas de Grau C, seja inferior a 5% [76].

A Tabela 4.21 demonstra, para cada superfície, a percentagem de vezes em que pelo menos 1 UFC foi recolhido, em função do número de amostras totais recolhidas.

Tabela 4.21 – Percentagem de amostras com pelo menos 1 UFC

	Preparação			Filtração		Enchimento		Corredor Interno	
	Parede	Chão	Bancada	Parede	Chão	Parede	Chão	Parede	Chão
>0 UFC	2	17	12	0	4	1	4	0	4
Total	23	23	23	23	23	23	23	6	6
	8,70%	73,91%	52,17%	0,00%	17,39%	4,35%	17,39%	0,00%	66,67%

É possível verificar que, à exceção das paredes da sala de Filtração e do Corredor Interno, todas as superfícies obtêm uma percentagem superior à recomendada pelo USP <1116>.

Tais resultados sugerem a necessidade de implementar alguma medida de correção. De forma a identificar o que implementar, a realização de uma Verificação do Processo de Limpeza e Desinfecção, descrita no Capítulo 4.8, possibilita averiguar se o mesmo necessita de correção.

Na Tabela 4.22 encontram-se representados os microrganismos identificados, sendo que apenas foram identificados os microrganismos cuja análise superaram os valores de Limite de Alerta.

Tabela 4.22 - Tabela Resumo dos Microrganismos Identificados nas superfícies críticas dos Injetáveis, com respetivas Fontes de Contaminação e Características

Data	Microrganismo Identificado	Características	Fonte de Contaminação
09-mai	<i>Dermaococcus nishinomiyaensis</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas[68]	Pele[68]
	<i>Kytococcus sedentarius</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas[69]	Pele[69]
	<i>Kocuria rosea</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas[77]	Pele[78]
23-abr	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Bactérias Gram- Patogénicas Oportunistas[67]	Água[67]
07-fev	<i>Corynebacterium confusum</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas[79]	Solo e Água[79]
	<i>Corynebacterium coyleae</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas[80]	Pele[80]
31-jan	<i>Staphylococcus caprae</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas[60]	Pele[60]
24-jan	<i>Micrococcus luteus/lylae</i>	Bactérias Gram+ Patogénicas Oportunistas[53]	Pele e mucosas[53]
28-fev	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	Bactérias Gram- Patogénicas Oportunistas[81]	Solo e Água[81]

Os microrganismos identificados são, em maioria, Bactérias Patogénicas Oportunistas do tipo Gram+, e a principal fonte de contaminação, a pele. Tal reflete o já estabelecido teoricamente, que os Trabalhadores são a principal fonte de contaminação de uma Sala Limpa, visto ser impossível impedir toda a libertação de microrganismos por parte dos mesmos.

Os resultados do teste de eficácia para o desinfetante Spor-Klenz encontram-se representados na Tabela 4.23.

Tabela 4.23 – Tabela resumo de resultados de teste de eficácia de Spor-Klenz (Resultados em UFC/25 cm²)

Desinfetante:	Spor-Klenz				
Lote Desinfetante	907513		Lote Placa RODAC	1007400670	
Ponto de amostragem	Resultados			Critérios de aceitação	Resultados (C/NC)
	Data de amostragem				
	31/7	01/8	02/8		
11	1	0	0	5	C
12	0	0	0	5	C

Em todas as amostragens exceto uma, não foram encontradas colónias na placa de contacto. Acredita-se também que na amostragem com uma colónia observada, apesar de dentro dos critérios, poderá ter sido contaminada durante o processo de utilização da placa de contacto, como o toque no interior da mesma com uma luva, devido a inexperiência na utilização.

Assim, é possível indicar que a utilização de Spor-Klenz para desinfetar os objetos de maior porte que necessitem de ocasional passagem para a Zona Crítica é aceitável, devido à não deteção de qualquer crescimento microbiano.

4.7. Monitorização

4.7.1. Monitorização Microbiológica da água PPI

A monitorização da água PPI é necessária para garantir que não existem falhas no seu processo de purificação, ou, existindo, que são detetadas antes do tempo de forma a não ser utilizada. Na Tabela 4.24, encontram-se representados os registos de análise microbiológica de cada lote de água PPI produzido, sendo que o limite de controlo para os resultados é de 10 UFC/100ml.

Tabela 4.24 – Análise microbiológica de Água PPI (UFC/100ml)

Água PPI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	
Janeiro										0	0			0	0	0	0	0			0	0	0	0	0				0	0	0	
Fevereiro	0			0	0	0	0	0				0	0	0	0	0			0	1	0	0	0			3	0	0	0			
Março	0											0	1	1	0	0			0	0	0	0	0	0			1	0	0	0	0	
Abril	0	0	0	0	0				0	0	0	0				0	0							0						0	0	
Maio		0	0	0		0	0	0	0	1				0	0	0	0	0			0	0	0	1	1	2		0	0	0	0	0
Junho					0	0	0	0			0	0	0	0	0		0	0	0						0	0	0	1	0			

Em 108 amostras realizadas durante o 1º semestre de 2019, nenhuma ultrapassou o limite de controlo, mostrando assim que a água PPI representa um risco menor em comparação com as outras fontes de contaminação.

4.7.2. Monitorização de Entradas

A monitorização de entradas é necessária para controlar o número de pessoal existente na sala limpa, e garantir que apenas os números necessários de pessoas entram na zona crítica, de forma a evitar contaminação devido a entradas e movimentos excessivos. Na Tabela 4.25 encontram-se representados as entradas registadas no *logbook* da Zona Crítica.

Tabela 4.25 – Entradas diárias na Sala Limpa

Entradas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
Janeiro			2	3	5			4	4	3	9	1		4	9	4	5	5	1		5	5	5	4	5	1		3	5	5	5
Fevereiro	3	1		5	5	5	5	4	1		5	3	5	5	3	2		5	5	6	5	6	4		4	6	6	6			
Março	4			1			1	4	9		5	5	5	6	5	4		5	5	5	4	5	4		5	5	5	5	5	5	
Abril	5	5	5	5	5	5		2	5	5	5	5	1		3	7	5						2		1		1		5	5	
Maio		5	5	5		5	5	3	5	5	5		5	3	5	5	4	4		5	6	4	4	5	5		4	5	5	5	5
Junho	1		2	5	5	5	5				5	5	5	5	5		5	5	5		1	1		5	5	5	5	7	5		

Comparando os dados das entradas em função dos dias de contaminação de superfícies acima do valor de alerta, representados na Tabela 4.20, verifica-se não ser possível identificar qualquer relação explícita entre os dias onde ocorreu uma contaminação acima do limite de alerta, e os dias onde ocorreu uma maior quantidade de entradas, visto os dias cuja contaminação foi acima do alerta não coincidem com dias de maior número de entradas.

4.8. Verificação do Processo de Limpeza e Desinfecção

Os resultados da verificação de limpeza encontram-se representados pelas Tabela 4.26 até Tabela 4.29, com o registo do seu tempo, datas de realização e ordem de salas representados na Tabela 4.30. Foi registado a vermelho tempos de limpeza de salas não conformes com o procedimento.

Tabela 4.26 – Resultados da Verificação da Etapa Inicial e da Sala de Filtração do Procedimento Técnico de Limpeza e Desinfecção

Etapa	Parâmetros a verificar	Critérios de aceitação	Desinfetante				
			V	V	V	E	
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">Início</div>	Validade do Detergente	Dentro do Prazo de Validade	x	x	x	✓	
	Verificação de turno de desinfetante	Turno correcto	x	✓	✓	✓	
	Validade do Desinfetante	Dentro do Prazo de Validade	✓	✓	✓	✓	
	Fardamento e EPI	Correctamente equipado	✓	✓	✓	✓	
	Colocação de Sinal de Segurança	Sinal colocado	x	x	x	x	
<div style="writing-mode: vertical-rl; transform: rotate(180deg); display: inline-block; border: 1px solid black; padding: 5px;">Sala de Filtração</div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">Pré-Limpeza</div>	Inspeção visual das superfícies	Não existe contaminação visível	✓	✓	✓	✓
	Material de limpeza	Material limpo e correcto	✓	✓	✓	✓	
	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">Limpeza</div>	Diluição	De acordo com especificações	x	x	x	✓
		Temperatura da água	18-24°C	x	x	x	x
		Ordem de mistura dos componentes	1º Água; 2º Detergente	x	x	x	✓
		Ordem de limpeza das superfícies	1º Tecto; 2º Paredes; 3º Chão	x	x	x	✓
		Sentido de Limpeza do Chão e Tecto	Da zona mais afastada até à entrada	x	x	x	✓
		Sentido de Limpeza das Paredes	Da zona superior á inferior	x	x	x	✓
		Aplicação (Movimentos)	Unidireccionais e com sobreposição	x	x	x	✓
	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">Enxaguamento</div>	Ordem de enxaguamento das superfícies	1º Tecto; 2º Paredes; 3º Chão	✓	✓	✓	✓
		Remoção de todo o detergente	Não se verifica residuo de detergente	x	x	x	✓
		Aplicação (Movimentos)	Unidireccionais e com sobreposição	✓	✓	✓	✓
	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">Pré-Desinfecção</div>	Material de limpeza	Material limpo e correcto	✓	✓	✓	✓
	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">Desinfecção</div>	Diluição	De acordo com especificações	✓	✓	✓	✓
		Temperatura da água	18-24°C	x	x	x	x
		Ordem de mistura dos componentes	1º Água; 2º Desinfetante	✓	✓	✓	✓
		Ordem de limpeza das superfícies	1º Tecto; 2º Paredes; 3º Chão	✓	✓	✓	✓
		Sentido de Limpeza do Chão e Tecto	Da zona mais afastada até à entrada	✓	✓	✓	✓
		Sentido de Limpeza das Paredes	Da zona superior á inferior	✓	✓	✓	✓
		Aplicação (Movimentos)	Unidireccionais e com sobreposição	✓	✓	✓	✓
		Tempo de Contacto	De acordo com especificações	x	x	x	✓
		Remoção do Excesso	Não existe excesso visível	✓	✓	✓	✓
		<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; text-align: center;">Pós-Desinfecção</div>	Fecho da sala	Sala Fechada	✓	✓	✓
	Despejo água sujas		Sifão Sala de Lavagens	✓	✓	✓	✓

Legenda: V – Vesta Syde E – Environ LPH

Tabela 4.27 – Resultados da Verificação da Sala de Enchimento e da Sala de Lavagens do Procedimento Técnico de Limpeza e Desinfecção

Etapa	Parâmetros a verificar	Critérios de aceitação	Desinfetante			
			V	V	V	E
Sala de Enchimento	Pré-Limpeza	Inspeção visual das superfícies	✓	✓	✓	✓
		Material de limpeza	✓	✓	✓	✓
	Limpeza	Diluição	x	x	x	✓
		Temperatura da água	x	x	x	x
		Ordem de mistura dos componentes	x	x	x	✓
		Ordem de limpeza das superfícies	x	x	x	✓
		Sentido de Limpeza do Chão e Tecto	x	x	x	✓
		Sentido de Limpeza das Paredes	x	x	x	✓
		Aplicação (Movimentos)	x	x	x	✓
	Enxaguamento	Ordem de enxaguamento das superfícies	✓	✓	✓	✓
		Remoção de todo o detergente	x	x	x	✓
		Aplicação (Movimentos)	✓	✓	✓	✓
	Pré-Desinfecção	Material de limpeza	✓	✓	✓	✓
		Diluição	✓	✓	✓	✓
	Desinfecção	Temperatura da água	x	x	x	x
		Ordem de mistura dos componentes	✓	✓	✓	✓
		Ordem de limpeza das superfícies	✓	✓	✓	✓
		Sentido de Limpeza do Chão e Tecto	✓	✓	✓	✓
		Sentido de Limpeza das Paredes	✓	✓	✓	✓
		Aplicação (Movimentos)	✓	✓	✓	✓
Tempo de Contacto		x	x	x	✓	
Remoção do Excesso		✓	✓	✓	✓	
Pós-Desinfecção		Fecho da sala	✓	✓	✓	✓
		Despejo água sujas	✓	✓	✓	✓
Sala de Lavagens	Pré-Limpeza	Inspeção visual das superfícies	✓	✓	✓	✓
		Material de limpeza	✓	✓	✓	✓
	Limpeza	Diluição	x	x	x	✓
		Temperatura da água	x	x	x	x
		Ordem de mistura dos componentes	x	x	x	✓
		Ordem de limpeza das superfícies	x	x	x	✓
		Sentido de Limpeza do Chão e Tecto	x	x	x	✓
		Sentido de Limpeza das Paredes	x	x	x	✓
		Aplicação (Movimentos)	x	x	x	✓
	Enxaguamento	Ordem de enxaguamento das superfícies	✓	✓	✓	✓
		Remoção de todo o detergente	x	x	x	✓
		Aplicação (Movimentos)	✓	✓	✓	✓
	Pré-Desinfecção	Material de limpeza	✓	✓	✓	✓
		Diluição	✓	✓	✓	✓
	Desinfecção	Temperatura da água	x	x	x	x
		Ordem de mistura dos componentes	✓	✓	✓	✓
		Ordem de limpeza das superfícies	✓	✓	✓	✓
		Sentido de Limpeza do Chão e Tecto	✓	✓	✓	✓
		Sentido de Limpeza das Paredes	✓	✓	✓	✓
		Aplicação (Movimentos)	✓	✓	✓	✓
Tempo de Contacto		x	x	x	✓	
Remoção do Excesso		✓	✓	✓	✓	
Pós-Desinfecção	Fecho da sala	✓	✓	✓	✓	
	Despejo água sujas	✓	✓	✓	✓	

Legenda: V – Vesta Syde E – Environ LPH

Tabela 4.28 – Resultados da Verificação da Sala de Preparação e do Corredor Interno do Procedimento Técnico de Limpeza e Desinfeção

Etapa	Parâmetros a verificar	Critérios de aceitação	Desinfetante			
			V	V	V	E
Sala de Preparação	Pré-Limpeza	Inspeção visual das superfícies	✓	✓	✓	✓
		Material de limpeza	✓	✓	✓	✓
	Limpeza	Diluição	x	x	x	✓
		Temperatura da água	x	x	x	x
		Ordem de mistura dos componentes	x	x	x	✓
		Ordem de limpeza das superfícies	x	x	x	✓
		Sentido de Limpeza do Chão e Tecto	x	x	x	✓
		Sentido de Limpeza das Paredes	x	x	x	✓
		Aplicação (Movimentos)	x	x	x	✓
	Enxaguamento	Ordem de enxaguamento das superfícies	✓	✓	✓	✓
		Remoção de todo o detergente	x	x	x	✓
		Aplicação (Movimentos)	✓	✓	✓	✓
	Pré-Desinfeção	Material de limpeza	✓	✓	✓	✓
		Diluição	✓	✓	✓	✓
	Desinfeção	Temperatura da água	x	x	x	x
		Ordem de mistura dos componentes	✓	✓	✓	✓
		Ordem de limpeza das superfícies	✓	✓	✓	✓
		Sentido de Limpeza do Chão e Tecto	✓	✓	✓	✓
		Sentido de Limpeza das Paredes	✓	✓	✓	✓
		Aplicação (Movimentos)	✓	✓	✓	✓
Tempo de Contacto		x	x	x	✓	
Remoção do Excesso		✓	✓	✓	✓	
Pós-Desinfeção		Fecho da sala	✓	✓	✓	✓
		Despejo água sujas	✓	✓	✓	✓
Corredor Interno	Pré-Limpeza	Inspeção visual das superfícies	✓	✓	✓	✓
		Material de limpeza	✓	✓	✓	✓
	Limpeza	Diluição	x	x	x	✓
		Temperatura da água	x	x	x	x
		Ordem de mistura dos componentes	x	x	x	✓
		Ordem de limpeza das superfícies	x	x	x	✓
		Sentido de Limpeza do Chão e Tecto	x	x	x	✓
		Sentido de Limpeza das Paredes	x	x	x	✓
		Aplicação (Movimentos)	x	x	x	✓
	Enxaguamento	Ordem de enxaguamento das superfícies	✓	✓	✓	✓
		Remoção de todo o detergente	x	x	x	✓
		Aplicação (Movimentos)	✓	✓	✓	✓
	Pré-Desinfeção	Material de limpeza	✓	✓	✓	✓
		Diluição	✓	✓	✓	✓
	Desinfeção	Temperatura da água	x	x	x	x
		Ordem de mistura dos componentes	✓	✓	✓	✓
		Ordem de limpeza das superfícies	✓	✓	✓	✓
		Sentido de Limpeza do Chão e Tecto	✓	✓	✓	✓
		Sentido de Limpeza das Paredes	✓	✓	✓	✓
		Aplicação (Movimentos)	✓	✓	✓	✓
Tempo de Contacto		x	x	x	✓	
Remoção do Excesso		✓	✓	✓	✓	
Pós-Desinfeção	Fecho da sala	✓	✓	✓	✓	
	Despejo água sujas	✓	✓	✓	✓	

Legenda: V – Vesta Syde E – Environ LPH

Tabela 4.29 – Resultados da Verificação da Sala de Vestiário e da Etapa Final do Procedimento Técnico de Limpeza e Desinfecção

Etapa	Parâmetros a verificar	Critérios de aceitação	Desinfetante				
			V	V	V	E	
Vestiário	Pré-Limpeza	Inspeção visual das superfícies	✓	✓	✓	✓	
		Material de limpeza	✓	✓	✓	✓	
	Limpeza	Diluição	De acordo com especificações	x	x	x	✓
		Temperatura da água	18-24°C	x	x	x	x
		Ordem de mistura dos componentes	1º Água; 2º Detergente	x	x	x	✓
		Ordem de limpeza das superfícies	1º Tecto; 2º Paredes; 3º Chão	x	x	x	✓
		Sentido de Limpeza do Chão e Tecto	Da zona mais afastada até à entrada	x	x	x	✓
		Sentido de Limpeza das Paredes	Da zona superior á inferior	x	x	x	✓
		Aplicação (Movimentos)	Unidireccionais e com sobreposição	x	x	x	✓
	Enxaguamento	Ordem de enxaguamento das superfícies	1º Tecto; 2º Paredes; 3º Chão	✓	✓	✓	✓
		Remoção de todo o detergente	Não se verifica residuo de detergente	x	x	x	✓
		Aplicação (Movimentos)	Unidireccionais e com sobreposição	✓	✓	✓	✓
	Pré-Desinfecção	Material de limpeza	Material limpo e correcto	✓	✓	✓	✓
		Diluição	De acordo com especificações	✓	✓	✓	✓
	Desinfecção	Temperatura da água	18-24°C	x	x	x	x
		Ordem de mistura dos componentes	1º Água; 2º Desinfetante	✓	✓	✓	✓
		Ordem de limpeza das superfícies	1º Tecto; 2º Paredes; 3º Chão	✓	✓	✓	✓
		Sentido de Limpeza do Chão e Tecto	Da zona mais afastada até à entrada	✓	✓	✓	✓
		Sentido de Limpeza das Paredes	Da zona superior á inferior	✓	✓	✓	✓
		Aplicação (Movimentos)	Unidireccionais e com sobreposição	✓	✓	✓	✓
		Tempo de Contacto	De acordo com especificações	x	x	x	✓
		Remoção do Excesso	Não existe excesso visível	✓	✓	✓	✓
		Pós-Desinfecção	Fecho da sala	Sala Fechada	✓	✓	✓
Despejo água sujas			Lavatório Vestiário	✓	✓	✓	✓
Final	Desinfecção de Utensílios de Limpeza	Desinfetados com IPA 70%	x	✓	✓	x	
	Armazenamento Equipamento	Sala de Armazenamento	✓	✓	✓	✓	
	Preenchimento de Logbook	Logbooks preenchidos	✓	✓	✓	✓	

Legenda: V – Vesta Syde E – Environ LPH

Tabela 4.30 - Duração das etapas do programa de desinfecção diário para cada desinfetante em teste

Data Início		15/7	24/7	30/7	31/7
Sala Filtração	Hora Início	18:05	17:40	17:10/18:40	18:00/19:30
	Hora Fim	18:20	17:55	17:30/18:55	18:20/19:45
Sala Enchimento	Hora Início	18:20	17:55	17:30/18:55	18:20/19:45
	Hora Fim	18:35	18:10	17:50/19:10	18:40/20:00
Sala Lavagens	Hora Início	18:35	18:10	16:30/18:10	17:20/19:00
	Hora Fim	18:50	18:25	16:50/18:25	17:40/19:15
Sala Preparação	Hora Início	18:50	18:25	16:50/18:25	17:40/19:15
	Hora Fim	19:05	18:40	17:10/18:40	18:00/19:30
Corredores e Vestiário	Hora Início	19:05	18:40	17:50/19:10	18:40/20:00
	Hora Fim	19:20	18:55	18:10/19:25	19:00/20:15

Os pontos não conformes demonstrados pelos resultados foram os seguintes:

- Verificação da Temperatura da Água:

É aconselhado que a temperatura da água, e da solução de desinfetante, se encontre entre os 18°C e os 24°C, de forma a garantir que não haja uma rápida decomposição dos agentes ativos. No entanto, foi reportado que não existe nenhum aparelho na Zona Crítica com a capacidade de medir a temperatura da água.

- Desinfecção de Utensílios de Limpeza:

O 1º caso de não cumprimento da desinfecção de utensílios de limpeza foi atribuído ao desconhecimento do procedimento, tendo sido corrigido após instrução. O 2º caso de não cumprimento foi atribuído a falta de tempo e à inconveniência do processo.

- Tempo de Contacto:

Foi reportado que, durante certos dias de atividade, o tempo de contacto de 15 minutos de desinfetante na superfície não foi realizado, sendo o aplicador para a remoção do excesso utilizado imediatamente após terminar a desinfecção da sala.

- Utilização de Detergente:

Durante as três primeiras examinações, o *stock* de detergente encontrava-se esgotado, tendo sido substituído por uma simples limpeza por água e esfreganço por mopa/pano.

- Ordem de Limpeza das Salas e Preenchimento de *Logbook*:

Notou-se discrepâncias entre a ordem de limpeza das salas efetuada e a ordem descrita no procedimento de limpeza e desinfecção. Nas duas primeiras examinações, foi reportado que a limpeza foi executada de acordo com o procedimento, mas o *logbook* foi preenchido de forma incorreta, seguindo uma ordem prévia de:

- 1 - Lavagem
- 2 - Preparação
- 3 - Filtração
- 4 - Enchimento
- 5 - Corredor Interno
- 6 - Vestiário

Apesar de alguma instrução e tentativa de correção no correto preenchimento do *logbook*, não houve alteração no seu preenchimento. Foi reportado que tal devia-se a confusão com a ordem de preenchimento em prol da ordem prévia.

Nas examinações seguintes, foi reportado que a ordem de limpeza executada tinha sido a preenchida nos *logbooks*, tendo dado prioridade às salas de Lavagem e Preparação, salas de Grau C, em detrimento das salas de Filtração e Enchimento, salas de Grau A/B. Tal foi justificado por ser seguida uma ordem de limpeza de não “Maior Grau para Menor Grau”, como instruído no procedimento de limpeza, mas de “Mais Afastada para Mais Próxima”, bem como a facilidade de adiantar a limpeza enquanto as atividades de Filtração e Enchimento ainda decorrem.

Assim, acredita-se que os resultados da verificação do processo de limpeza e desinfecção mostram-se não conformes com o seu procedimento e que é necessário tomar medidas para garantir que o mesmo é seguido fielmente.

Sugere-se um foco na sensibilização dos trabalhadores da importância do seguimento do protocolo através da introdução de ações de formação tendo como base a ISO 9001, consciencializando os trabalhadores da sua importância, e da importância do seu papel e função, como o seu bom ou mau funcionamento influenciam a continuidade do negócio, e que o seu bom funcionamento exige um seguimento estrito dos procedimentos técnicos, visto que o não cumprimento dos mesmos pode colocar em risco todo o processo.

Assim, é sugerido que a sensibilização ocorra de forma a também esclarecer quaisquer dúvidas e conflitos que haja entre o procedimento e “o que se faz”, certificando que o trabalhador entenda o porquê de todos os passos, bem como respetivas consequências do não seguimento dos mesmos.

Sugere-se também a criação de um processo de avaliação de desempenho, bem como a introdução de um questionário após a formação de novos trabalhadores, de forma a garantir uma compreensão absoluta da sua função.

Os pontos não conformes de maior importância, bem como as causas reportadas para tal, foram tomadas em consideração durante a elaboração da Análise de Risco no Capítulo 4.9, sendo nele sugeridas algumas outras medidas para uma possível redução de não conformidades.

4.9. Análise de Risco e Efeito ao processo de limpeza

A análise de risco encontra-se representada na Tabela 4.31, tendo sido sugerido um método de correção de risco para todos as entradas cujo NPR fosse de nível Significativo ou superior.

Tabela 4.31 – Análise de risco de tipo FMEA para o Procedimento de Limpeza e Desinfecção

Modo de Falha	Efeitos de Falha	S	Possíveis Causas	O	Controlos Atuais	D	NPR	Correção	Resultados			
									S	O	D	NPR
Superfície encontra-se contaminada com microrganismos viáveis	Contaminação microbiológica acima do limite de especificação	10	Desinfetante demasiado diluído	1	Utilização de um medidor durante a preparação	4	40					
		10	Não rotação de desinfetantes	4	Consulta do <i>logbook</i>	7	280	Estabelecer um calendário de desinfetantes	10	1	4	40
		10	Sequência de passagem não cumprida	4	Consulta de Procedimento Técnico	4	160	Dupla Verificação	10	4	1	40
		10	Prazo de Validade do Desinfetante Superado	1	Consulta do Certificado de Análise/ Consulta do Prazo de Validade	1	10					
		10	Ordem de limpeza das salas não cumprida	10	Consulta de Procedimento Técnico	4	400	Sensibilização do Trabalhador/ Numeração de Salas	10	4	1	40
		10	Tempo de contacto de Desinfetante não cumprido	10	Contagem de tempo por trabalhador através de um relógio na Secção	7	700	Sensibilização do Trabalhador/ Utilização de um Temporizador	10	4	1	40
		10	Utilização de equipamento de limpeza não adequado	1	Consulta de Procedimento Técnico	4	40					
		10	Utilização de fardamento não adequado	1	Consulta de Procedimento Técnico	4	40					
Desinfetante encontra-se contaminado com microrganismos viáveis		10	Produtos de limpeza armazenados incorretamente	7	Consulta de Procedimento Técnico	4	280	Sensibilização do Trabalhador	10	1	4	40
Não Realização de Desinfecção		10	Falta de desinfetante	4	Observação do desinfetante armazenado	4	160	Criação de Rotinas de <i>Stock</i>	10	1	4	40
Superfície encontra-se contaminada com microrganismos viáveis e corroída		10	Utilização de produtos de limpeza não aprovados	1	Consulta de Procedimento Técnico	4	40					
Realização de limpeza pouco eficaz	Eficiência da Desinfecção é reduzida	7	Falta de detergente para limpeza	7	Observação do detergente armazenado	4	196	Criação de Rotinas de <i>Stock</i>	7	1	4	28

Tabela 4-35 – Análise de risco de tipo FMEA para o Procedimento de Limpeza e Desinfecção (cont.)

Modo de Falha	Efeitos de Falha	S	Possíveis Causas	O	Controlos Atuais	D	NPR	Correção	Resultados			
									S	O	D	NPR
Superfície encontra-se contaminada com partículas não viáveis		7	Prazo de Validade do Detergente Superado	1	Consulta do Certificado de Análise/ Consulta do Prazo de Validade	1	7					
		7	Detergente demasiado diluído	1	Utilização de um medidor durante a preparação	4	28					
Superfície encontra-se com resíduos de produtos de limpeza	Aumento do risco de contaminação microbiológica	7	Remoção ineficaz do excesso de desinfetante	7	Controlo Visual do Trabalhador	7	343	Dupla Verificação	7	4	4	112
		7	Detergente demasiado concentrado	1	Utilização de um medidor durante a preparação	4	28					
		7	Não realização de enxaguamento após limpeza	4	Consulta de Procedimento Técnico	4	112					
		7	Incompatibilidade de desinfetante com resíduos de outro desinfetante	1	Rotação de Desinfetantes	4	28					
Superfície encontra-se com sujidade		7	Equipamento de limpeza armazenados incorretamente	7	Consulta de Procedimento Técnico	4	196	Sensibilização do Trabalhador	7	1	4	28
Superfície encontra-se contaminada com partículas/fibras de equipamentos de limpeza	Contaminação de Partículas acima do limite de especificação	10	Utilização de equipamento em más condições	4	Inspeção Visual do Trabalhador ao estado do Equipamento	4	160					
		10	Utilização de equipamento não aprovado	1	Consulta de Procedimento Técnico	4	40					
Corrosão da superfície	Aumento do risco de contaminação de Partículas	7	Desinfetante demasiado concentrado	1	Utilização de um medidor durante a preparação	4	28					
		7	Incompatibilidade de desinfetante com a superfície	7	Realização de Teste de Compatibilidade	1	49					
Ar encontra-se com uma concentração de fumigante superior ao limite aceitável	Saúde dos trabalhadores é colocada em risco	10	Solução de Fumigação utilizada de forma demasiado frequente	1	Consulta do <i>logbook</i>	4	40					
		10	Solução de Fumigação demasiado concentrada	1	Utilização de um medidor durante a preparação	4	40					
		10	Fumigação ocorre a horários inadequados	1	Consulta de <i>logbook</i> / Consulta de Excel de cálculos para Fumigação	4	40					
Preenchimento Incorreto de Logbook	Erros na Monitorização do Procedimento Técnico	4	Preenchimento Incorreto de Logbook	10	Consulta de Procedimento Técnico	4	160	Sensibilização do Trabalhador/ Verificação regular dos logbooks	4	4	1	16

Após a conclusão da análise de risco, foram propostas as seguintes correções de melhoria para minimizar os riscos:

- Estabelecer um calendário de desinfetantes

A utilização contínua de um único desinfetante causa o risco de desenvolvimento de bactérias resistentes a esse desinfetante. Assim, é aconselhado a rotação de desinfetante em uso, sendo neste caso, rodado após o final do mês de utilização. Neste momento, a forma existente de controlar tal rotação é leitura e contagem do tempo utilizado através do *logbook*, ou a escolha de um dia de troca todos os meses, algo que pode falhar no caso de feriados ou imprevistos nos horários. Assim, é sugerido a criação de um calendário de desinfetantes, colocado num ponto de fácil acesso antes da entrada da Zona Crítica, de forma a facilitar a sua consulta.

- Utilização de um Temporizador

Dentro da zona crítica, é difícil obter uma contagem certa de tempo passado após passagens para garantir um tempo de contacto mínimo. Assim, é sugerido a adição de um temporizador de forma a obter-se uma contagem de tempo mais precisa.

- Numeração de Salas

Um problema reportado sobre a ordem de limpeza de salas foi a possível confusão na mesma, especialmente para um trabalhador inexperiente. Assim, é sugerido a adição de uma planta da Zona Crítica com a ordem de cada claramente assinalada antes da sua entrada, colocado num ponto de fácil acesso antes da entrada da Zona Crítica, de forma a facilitar a sua consulta. Uma outra sugestão seria a adição de um marcador na porta de cada sala, com um símbolo facilmente identificado com limpeza, como um balde, claramente numerados com a ordem de limpeza.

- Verificação regular dos logbooks

O preenchimento de logbooks são um ponto de fácil esquecimento e não realização, devido a necessitar ser preenchidos após a conclusão do processo de limpeza e desinfeção, especialmente por um trabalhador inexperiente. No entanto, os mesmos são verificados apenas quando necessário, podendo ocorrer o não preenchimento ou um preenchimento erróneo dos mesmos durante longos espaços de tempo. Assim, é sugerido a adição de uma verificação regular dos logbooks, possivelmente, mensal ou bimensal, de forma a garantir uma rápida deteção de erros e uma instrução subsequente.

- Criação de Rotinas de *Stock*

A falta de detergente e/ou desinfetantes para utilização, bem como em armazém, causa graves problemas no processo da limpeza e da desinfeção, visto serem partes fulcrais do mesmo. Assim, é sugerido a criação de um processo de rotina para garantir que exista sempre produtos para utilizar. Um exemplo seria a libertação de um aviso sempre que uma embalagem atingisse a meia capacidade, colocando-se uma nova embalagem disponível, quando fosse necessária substituição, bem como a decisão de requisitar um novo lote de produtos de limpeza sempre que menos de três embalagens se encontrassem em armazém.

- Dupla Verificação

Alguns passos no processo de limpeza demonstram-se mais falíveis na sua deteção de erros e, em passos cuja única fonte de verificação é o próprio trabalhador, um erro é possivelmente não detetado. Assim, é sugerido uma tentativa de implementação de um sistema de limpeza, com uma equipa de duas pessoas, de forma a garantir uma dupla verificação nos passos de limpeza mais falíveis. Tal sistema também poderia agilizar o processo ao distribuir zonas entre ambos os trabalhadores.

- Sensibilização do Trabalhador

Sugestões para a sensibilização do trabalhador encontram-se no Capítulo 4.8, sendo a principal sugestão o foco na sensibilização dos trabalhadores da importância do seguimento do protocolo através da introdução de ações de formação, consciencializando os trabalhadores da sua importância, e da importância do seu papel e função, como o seu bom ou mau funcionamento influenciam a continuidade do negócio, e que o seu bom funcionamento exige um seguimento estrito dos procedimentos técnicos, visto que o não cumprimento dos mesmos pode colocar em risco todo o processo.

5. Conclusões e propostas de trabalho futuras

A requalificação do protocolo de Limpeza e Desinfecção da Zona Crítica das Salas Limpas passa pela revisão de cada procedimento envolvente e pertinente para a mesma, incluindo a qualificação dos produtos de limpeza utilizados e uma análise de monitorização constante do ambiente e quaisquer fontes de contaminação.

Os desinfetantes mostraram-se compatíveis com os materiais testados, e as placas de contacto utilizadas perfeitamente adequadas para recolha de amostras após o uso dos mesmos, sendo capaz de neutralizar os seus efeitos. Apesar de alguma incompatibilidade entre si, a utilização de um sistema de rotação dos desinfetantes permite manter ambos em uso sem existir contacto.

A esterilidade dos desinfetantes durante uso é assegurada para todos exceto o Spor-klenz, mas acreditando-se que tal contaminação se deve ao seu uso após final do prazo de vida útil, e sugerindo-se um seguimento fiel da mesmo, através da implementação de um procedimento técnico.

Os microrganismos mais comuns são bactérias patogénicas oportunistas de tipo Gram+, provenientes da pele, sendo a mais comum a bactéria *Micrococcus luteus/lylae*.

O dia mais crítico na zona crítica foi considerado a sexta-feira, com 9 pontos das superfícies consideradas críticos. Com a exceção de dois pontos, foi verificado que as amostragens dos restantes pontos contêm contaminação com uma frequência acima da recomendada, indicando a necessidade de implementação de alguma medida de correção. Desses pontos, foi analisado que os pontos do chão são os mais predispostos a excederem os limites de contaminação, sendo o do corredor interno o ponto com, percentualmente, mais análises excedentes dos limites, sendo tal de cerca de 33%. Considera-se que tal seja devido a ser uma divisão central, no qual existe um grande movimento, que se traduz numa grande quantidade de partículas viáveis libertadas.

Através de análise de risco realizado ao procedimento de limpeza e desinfecção, foram analisados vários riscos, sendo os principais o não cumprimento do tempo de contacto de desinfetante com a superfície e o não cumprimento da ordem de limpeza das salas, aos quais foram propostas algumas medidas de correção, como o estabelecimento de um calendário de desinfetantes, a implementação de um temporizador e a numeração de salas nas plantas e mapeamentos das mesma, de forma a reduzir confusão e engano; o estabelecimento de uma verificação regular dos *logbooks*, de forma a qualquer preenchimento incorreto ser detetado atempadamente; a criação de rotinas de *stock* para os produtos de limpeza, de forma a impedir o esgotamento tanto na secção como em armazém e o estabelecimento de uma vida útil para o equipamento de limpeza, de forma a substituí-lo periodicamente.

Uma sugestão de maior prioridade será a urgência de uma sensibilização do trabalhador para com a importância da limpeza e desinfecção, especialmente na importância de seguir o procedimento e o tomar como prioridade em qualquer conflito de opiniões.

É também sugerido a tentativa de implementação de um sistema de limpeza, com uma equipa de duas pessoas, de forma a garantir uma dupla verificação nos passos de limpeza mais falíveis, bem como na agilização do processo.

Devido à falta de informação disponibilizada pelos fornecedores sobre o detergente em uso, é também sugerido a mudança de fornecedores, de forma a utilizar-se um produto cujos ingredientes ativos sejam indicados. Um possível exemplo será o produto Liquinox, fabricado pela Alconox.

Para a substituição do desinfetante utilizado para fumigação, Minncare, cuja retirada de uso se deveu à falta de certificado de avaliação do produto por parte do fabricante, é sugerido o desinfetante Ox-Virin, fabricado pela Tiselab, devido a uma eficácia semelhante ao produto anterior, mas um garantido cumprimento dos regulamentos necessários.

Referências Bibliográficas

- [1] European Medicines Agency, “Good manufacturing practice.” [Online]. Disponível: <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/researchdevelopment/compliance/good-manufacturing-practice> [Acedido: 06-Sep-2019].
- [2] “EudraLex - Volume 4 Good Manufacturing Practice (GMP), Annex 1, Draft,” 2017. [Online]. Disponível: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/gmp/2017_12_pc_annex1_consultation_document.pdf [Acedido: 11-Abr-2019].
- [3] T. Sandle, “People in Cleanrooms: Understanding and Monitoring the Personnel Factor,” *Journal of GXP Compliance*, 2014. [Online]. Disponível: <http://www.ivtnetwork.com/article/people-cleanrooms-understanding-and-monitoring-personnel-factor> [Acedido: 06-Sep-2019].
- [4] “EudraLex - Volume 4 Good Manufacturing Practice (GMP), Introduction,” 2011. [Online]. Disponível: http://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-4/index_en.htm [Acedido: 01-Abr-2019].
- [5] International Council for Harmonisation, “Q10 Pharmaceutical Quality System Guideline,” vol. 22 (3), pp. 177–181, 2008.
- [6] “EudraLex - Volume 4 Good Manufacturing Practice (GMP), Chapter 1 Pharmaceutical Quality System,” 2013. [Online]. Disponível: https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/eudralex/vol-4/vol4-chap1_2013-01_en.pdf [Acedido: 03-Abr-2019].
- [7] “O Infarmed,” 2017. [Online]. Disponível: <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/apresentacao> [Acedido: 01-Abr-2019].
- [8] International Council for Harmonisation, “Mission.” [Online]. Disponível: <https://www.ich.org/about/mission.html> [Acedido: 01-Abr-2019].
- [9] T. Sandle, *Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control*, 1st ed. Woodhead Publishing, 2015.
- [10] European Committee for Standardization, “High efficiency air filters (EPA, HEPA and ULPA),” British Standard European Norm 1822-1:2009, 2009.
- [11] T. Sandle, “Practical Selection of Cleanroom Disinfectants,” *Hospital Pharmacy Europe*, (63), pp. 39–41, 2012.
- [12] W. A. Rutala and D. J. Weber, “Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities,” Centers for Disease Control and Prevention, 2008. [Online]. Disponível: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/pdf/guidelines/disinfection-guidelines-H.pdf>. [Acedido: 01-Jul-2019].
- [13] T. Sandle, “Cleanroom Cleaning and Disinfection: Eight Steps for Success,” *R&D magazine*, Mar-2012. [Online]. Disponível: <https://www.rdmag.com/article/2012/02/clean-room-cleaning-and-disinfection-eight-steps-success> [Acedido: 15-Abr-2019].

- [14] B. Gamage, "A Guide to Selection and Use of Disinfectants," BC Center for Disease Control, 2003. [Online]. Disponível: <http://www.mtpinnacle.com/pdfs/disinfectant-selection-guidelines.pdf>. [Acedido: 18-Mar-2019].
- [15] J. Tucker, "EU GMP Annex 1: Whats new for cleaning and disinfection," *Cleanroom Technology*, 2018. [Online]. Disponível: https://www.cleanroomtechnology.com/news/article_page/EU_GMP_Annex_1_Whats_new_for_cleaning_and_disinfection/147687 [Acedido: 11-Abr-2019].
- [16] T. Sandle, "Cleaning and Disinfection of Cleanrooms." [Online]. Disponível: https://www.academia.edu/14956063/Cleaning_and_Disinfection_of_Cleanrooms [Acedido: 16-Abr-2019].
- [17] G. McDonnell e A. D. Russell, "Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance.," *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 12 (1), pp. 147–179, 1999.
- [18] P. Maris, "Modes of action of disinfectants.," *Rev. Sci. Tech.*, vol. 14 (1), pp. 47–55, 1995.
- [19] J. M. Boyce, "Alcohols as Surface Disinfectants in Healthcare Settings," *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, vol. 39 (3), pp. 323–328, 2018.
- [20] *MINNCARE® Cold Sterilant*, FDS Ref^a 50095-097-EN [Online]; Medivators Inc: Minneapolis, MN, Fev 19, 2017. Disponível: <http://www.mcpur.com/main/library/msds/2014/50095-097-EN-REV-B.pdf> (Acedido: Junho 26, 2019).
- [21] MAR COR, "Minncare Research Data Sheet," 176-01-125 datasheet, 2014.
- [22] *Vesta-Syde® SQ st Quaternary Ammonium Disinfectant*, FDS Ref^a 6340 [Online]; STERIS Corporation: St. Louis, MO, Abr 01, 2019. Disponível: <https://ww1.steris.com/onbDocs/V445/0/1650937.pdf> (Acedido: Junho 26, 2019).
- [23] STERIS Corporation, "Vesta-Syde SQ Technical Data Sheet." 420-100-0210 datasheet, Jan. 2019.
- [24] *Spor-Klenz® Ready To Use Cold Sterilant*, FDS Ref^a 6525 [Online]; STERIS Corporation: St. Louis, MO, Abr 10, 2015. Disponível: <https://ww1.steris.com/onbDocs/V443/0/1560693.pdf> (Acedido: Junho 26, 2019).
- [25] STERIS Corporation, "Spor-Klenz Technical Data Sheet." 420-100-6525 datasheet, Jan. 2018.
- [26] STERIS Corporation, "Environ LpH Technical Data Sheet." 420-100-6405 datasheet, Jan. 2007.
- [27] *Environ™ LpH™ se Phenolic Disinfectant*, FDS Ref^a 6412 [Online]; STERIS Corporation: St. Louis, MO, Mar 12, 2018. Disponível: <https://ww1.steris.com/onbDocs/V443/1/1581950.pdf> (Acedido: Junho 26, 2019).
- [28] J. Eudy, "Cleanroom Garment Selection," *Controlled Environments*, 2014. [Online]. Disponível: <https://www.cemag.us/article/2014/04/cleanroom-garment-selection>[Acedido: 13-Sep-2019].
- [29] S. V. W. Sutton, D. W. Proud, S. Rachui e D. K. Brannan, "Validation of microbial recovery from disinfectants.," *PDA J. Pharm. Sci. Technol.*, vol. 56 (5), pp. 255–266, 2002.

- [30] A. Takasaki, T. Hashida, K. Kato e T. Nishihara, "Neutralizing Effect of Polysorbate on Bactericidal Action of A Quaternary Ammonium Disinfectant, Didecylidimethyl Ammonium Chloride, against *Staphylococcus aureus*.,” *Eisei kagaku*, vol. 40(4), pp. 351–356, 1994.
- [31] B. P. Dey e F. B. Engley, "Methodology for recovery of chemically treated *Staphylococcus aureus* with neutralizing medium.,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 45 (5), pp. 1533–1537, 1983.
- [32] S. L. Buck e R. A. Rosenthal, "A quantitative method to evaluate neutralizer toxicity against *Acanthamoeba castellanii*.,” *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 62 (9), pp. 3521–3526, 1996.
- [33] United States Pharmacopeial Convention, "Validation Of Microbial Recovery From Pharmacopeial Articles,” in *The United States Pharmacopeia : USP29*, 2005.
- [34] L. Ogunbiyi, "The use of sodium thiosulfate for inactivating residual hydrogen peroxide on contact lenses after disinfection,” *Clin. Exp. Optom.*, vol. 69 (1), pp. 16–21, 1986.
- [35] A. C. Salvia, G. R. Teodoro, I. Balducci, C. Y. Koga-Ito e S. H. de Oliveira, "Effectiveness of 2% peracetic acid for the disinfection of gutta-percha cones,” *Braz. Oral Res.*, vol. 25 (1), pp. 23–27, 2011.
- [36] J. Polarine, "Technical Report No. 70: Fundamentals of Cleaning and Disinfection Programs for Aseptic Manufacturing Facilities,” *Parenteral Drug Association*, 2015. [Online]. Disponível: <https://www.pda.org/docs/default-source/website-document-library/chapters/presentations/missouri-valley/pda-technical-report-70-fundamentals-of-cleaning-and-disinfection-programs-for-aseptic-manufacturing-facilities.pdf?sfvrsn=4> [Acedido: 26-Jun-2019].
- [37] B. P. Dey e F. B. Engley, "Neutralization of antimicrobial chemicals by recovery media,” *J. Microbiol. Methods*, vol. 19 (1), pp. 51–58, 1994.
- [38] MAR COR, "Minnicare Sterilant Application Notes.” [Online]. Disponível: [http://www.mcpur.com/main/library/12_brochures/50096-371_\(Minnicare_App_Notes\).pdf](http://www.mcpur.com/main/library/12_brochures/50096-371_(Minnicare_App_Notes).pdf) [Acedido: 26-Jun-2019].
- [39] L. Strauß, M. Stegger, P. E. Akpaka, A. Alabi, S. Breurec, G. Coombs, B. Egyir, A. R. Larsen, F. Laurent, S. Monecke, G. Peters, R. Skov, B. Strommenger, F. Vandenesch, F. Schaumburg e A. Mellmann, "Origin, evolution, and global transmission of community-acquired *Staphylococcus aureus* ST8.,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 114 (49), pp. E10596–E10604, 2017.
- [40] N. Allocati, M. Masulli, M. F. Alexeyev e C. Di Ilio, "Escherichia coli in Europe: an overview.,” *Int. J. Environ. Res. Public Health*, vol. 10 (12), pp. 6235–6254, 2013.
- [41] S. de Bentzmann e P. Plésiat, "The *Pseudomonas aeruginosa* opportunistic pathogen and human infections,” *Environ. Microbiol.*, vol. 13 (7), pp. 1655–1665, 2011.
- [42] A. L. Cogen, V. Nizet e R. L. Gallo, "Skin microbiota: a source of disease or defence?” *Br. J. Dermatol.*, vol. 158 (3), pp. 442–455, 2008.
- [43] J. Kim e P. Sudbery, "Candida albicans, a major human fungal pathogen,” *J. Microbiol.*, vol. 49 (2), pp. 171–177, 2011.

- [44] S. M. Wiesner, R. P. Jechorek, R. M. Garni, C. M. Bendel e C. L. Wells, "Gastrointestinal colonization by *Candida albicans* mutant strains in antibiotic-treated mice.," *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, vol. 8 (1), pp. 192–195, 2001.
- [45] N. A. Yassin e A. M. Ahmad, "Incidence and Resistotyping Profiles of *Bacillus subtilis* Isolated from Azadi Teaching Hospital in Duhok City, Iraq.," *Mater. Sociomed.*, vol. 24 (3), pp. 194–197, 2012.
- [46] S. E. Baker, "*Aspergillus niger* genomics: Past, present and into the future," *Med. Mycol.*, vol. 44 (S1), pp. 17–21, Jan. 2006.
- [47] J. Brunt, K. L. Cross e M. W. Peck, "Apertures in the *Clostridium sporogenes* spore coat and exosporium align to facilitate emergence of the vegetative cell.," *Food Microbiol.*, vol. 51 (10), pp. 45–50, 2015.
- [48] W. Abusnina, M. Shehata, E. Karem, Z. Koc e E. Khalil, "*Clostridium sporogenes* bacteremia in an immunocompetent patient.," *IDCases*, vol. 15, e00481, 2019.
- [49] V. Jain, C. Sahu, N. A. F. Afzal Hussain, M. Ghar e K. N. Prasad, "The Era of Device Colonizers: *Chryseobacterium indologenes* Infections from a Tertiary Care Center in North India.," *Indian J. Crit. Care Med.*, vol. 22 (7), pp. 537–540, 2018.
- [50] O. Imataki e M. Uemura, "*Chryseobacterium indologenes*, a possible emergent organism resistant to carbapenem antimicrobials after stem cell transplantation.," *Clin. case reports*, vol. 5 (1), pp. 22–25, 2017.
- [51] M. Fernández, M. Porcel, J. de la Torre, M. A. Molina-Henares, A. Daddaoua, M. A. Llamas, A. Roca, V. Carriel, I. Garzón, J. L. Ramos, M. Alaminos e E. Duque., "Analysis of the pathogenic potential of nosocomial *Pseudomonas putida* strains," *Front. Microbiol.*, vol. 6 (8), pp. 1–6, 2015.
- [52] G. D. Kini, K. Patel, A. R. Parris e J. S. Tang, "An Unusual Presentation of Endocarditis Caused by *Staphylococcus warneri*," *Open Microbiol. J.*, vol. 4 (1), pp. 103–105, 2010.
- [53] S. Yang, S. Sugawara, T. Monodane, M. Nishijima, Y. Adachi, S. Akashi, K. Miyake, S. Hase e H. Takada, "*Micrococcus luteus* Teichuronic Acids Activate Human and Murine Monocytic Cells in a CD14- and Toll-Like Receptor 4-Dependent Manner," *Infect. Immun.*, vol. 69 (4), pp. 2025–2030, 2001.
- [54] F. Takeuchi, S. Watanabe, T. Baba, H. Yuzawa, T. Ito, Y. Morimoto, M. Kuroda, L. Cui, M. Takahashi, A. Ankai, S. Baba, S. Fukui, J. Lee e K. Hiramatsu, "Whole-genome sequencing of *staphylococcus haemolyticus* uncovers the extreme plasticity of its genome and the evolution of human-colonizing staphylococcal species.," *J. Bacteriol.*, vol. 187 (21), pp. 7292–7308, 2005.
- [55] M. Otto, "*Staphylococcus epidermidis*--the 'accidental' pathogen.," *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 7 (8), pp. 555–567, 2009.
- [56] R. Tewari, "*Kocuria Kristinae* in Catheter Associated Urinary Tract Infection: A Case Report," *J. Clin. DIAGNOSTIC Res.*, vol. 7 (8), pp. 1692–1693, 2013.

- [57] S. Jiang, B. Zheng, W. Ding, L. Lv, J. Ji, H. Zhang, Y. Xiao e L. Li, "Whole-genome sequence of *Staphylococcus hominis*, an opportunistic pathogen.," *J. Bacteriol.*, vol. 194 (17), pp. 4761–4762, 2012.
- [58] C. Puzzolante, G. Cuomo, M. Meschiari, A. Bedini, A. Bonazza, C. Venturelli, M. Sarti e C. Mussini, "Granulicatella adiacens and Abiotrophia defectiva Native Vertebral Osteomyelitis: Three Cases and Literature Review of Clinical Characteristics and Treatment Approach," *Case Rep. Infect. Dis.*, vol. 2019 (5), pp. 1–8, 2019.
- [59] J. A. Aas, B. J. Paster, L. N. Stokes, I. Olsen e F. E. Dewhirst, "Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity," *J. Clin. Microbiol.*, vol. 43 (11), pp. 5721–5732, 2005.
- [60] P. Seng, M. Barbe, P. O. Pinelli, F. Gouriet, M. Drancourt, A. Minebois, N. Cellier, C. Lechiche, G. Asencio, J. P. Lavigne, A. Sotto e A. Stein, "Staphylococcus caprae bone and joint infections: a re-emerging infection?," *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 20 (12), pp. O1052–O1058, 2014.
- [61] M. Kuroda, A. Yamashita, H. Hirakawa, M. Kumano, K. Morikawa, M. Higashide, A. Maruyama, Y. Inose, K. Matoba, H. Toh, S. Kuhara, M. Hattori e T. Ohta, "Whole genome sequence of *Staphylococcus saprophyticus* reveals the pathogenesis of uncomplicated urinary tract infection," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 102 (37), pp. 13272–13277, 2005.
- [62] A. Lenart-Boroń, K. Wolny-Kołodka, J. Stec e A. Kasprowic, "Phenotypic and Molecular Antibiotic Resistance Determination of Airborne Coagulase Negative Staphylococcus spp. Strains from Healthcare Facilities in Southern Poland," *Microb. Drug Resist.*, vol. 22 (7), pp. 515–522, 2016.
- [63] H. Cao, M. Li, X. Yang e C. Zhang, "Brevundimonas diminuta bacteremia in a man with myelodysplastic syndromes," *Indian J. Pathol. Microbiol.*, vol. 58 (3), pp. 384–386, 2015.
- [64] M. P. Ryan e J. T. Pembroke, "Brevundimonas spp: Emerging global opportunistic pathogens," *Virulence*, vol. 9 (1), pp. 480–493, 2018.
- [65] V. Panasiti, V. Devirgiliis, M. Mancini, M. Curzio, M. Rossi, D. Fioriti, V. Pietropaolo, R. Nicosia, C. Gallinelli, F. Chiarini, G. Pecorini e S. Calvieri, "A Cutaneous Infection Caused by Brevundimonas Vesicularis : A Case Report," *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, vol. 21 (2), pp. 457–461, 2008.
- [66] C.-Y. Tsai, S. Su, Y.-H. Cheng, Y. Chou, T.-H. Tsai e A.-S. Lieu, "Kocuria varians infection associated with brain abscess: A case report," *BMC Infect. Dis.*, vol. 10 (102), pp. 1–4, 2010.
- [67] J. S. Brooke, "Stenotrophomonas maltophilia: an Emerging Global Opportunistic Pathogen," *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 25 (1), pp. 2–41, 2012.
- [68] C. Joron, B. Roméo, A. Le Flèche-Matéos, C. Rames, Y. El Samad e F. Hamdad, "Dermacoccus nishinomiyaensis as a cause of persistent paediatric catheter-related bacteraemia," *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 25 (8), pp. 1054–1055, 2019.

- [69] D. Sims, T. Brettin, J. C. Detter, C. Han, A. Lapidus, A. Copeland, T. G. Del Rio, M. Nolan, F. Chen, S. Lucas, H. Tice, J.-F. Cheng, D. Bruce, L. Goodwin, S. Pitluck, G. Ovchinnikova, A. Pati, N. Ivanova, K. Mavrommatis, A. Chen, K. Palaniappan, P. D'haeseleer, P. Chain, J. Bristow, J. A. Eisen, V. Markowitz, P. Hugenholtz, S. Schneider, M. Göker, R. Pukall, N. C. Kyrpides e H.-P. Klenk,, "Complete genome sequence of *Kytococcus sedentarius* type strain (541T)," *Stand. Genomic Sci.*, vol. 1, no. 1, pp. 12–20, 2009.
- [70] D. R. Cameron, J. Jiang, K. A. Hassan, L. D. Elbourne, K. L. Tuck, I. T. Paulsen e A. Y Peleg, "Insights on virulence from the complete genome of *Staphylococcus capitis*," *Front. Microbiol.*, vol. 6 (980), pp. 1–12, 2015.
- [71] V. S. Greco-Stewart, H. Ali, D. Kumaran, M. Kalab, I. G. Rood, D. de Korte e S. Ramirez-Arcos, "Biofilm formation by *Staphylococcus capitis* strains isolated from contaminated platelet concentrates," *J. Med. Microbiol.*, vol. 62 (4), pp. 1051–1059, 2013.
- [72] S. W. Park, J. H. Back, S. W. Lee, J. H. Song, C. H. Shin, G. E. Kim e M. Kim, "Successful antibiotic treatment of *Pseudomonas stutzeri*-induced peritonitis without peritoneal dialysis catheter removal in continuous ambulatory peritoneal dialysis," *Kidney Res. Clin. Pract.*, vol. 32 (2), pp. 81–83, 2013.
- [73] J. Lalucat, A. Bennasar, R. Bosch, E. Garcia-Valdes e N. J. Palleroni, "Biology of *Pseudomonas stutzeri*," *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, vol. 70 (2), pp. 510–547, 2006.
- [74] S. P. Brown, D. M. Cornforth e N. Mideo, "Evolution of virulence in opportunistic pathogens: generalism, plasticity, and control," *Trends Microbiol.*, vol. 20 (6), pp. 336–342, 2012.
- [75] B. Meyer, V. N. Morin, H.-J. Rödger, J. Holah e C. Bird, "Do European Standard Disinfectant tests truly simulate in-use microbial and organic soiling conditions on food preparation surfaces?," *J. Appl. Microbiol.*, vol. 108 (4), pp. 1344–1351, 2010.
- [76] S. Sutton, "Recommendations from YSP <1116> on " Contamination Recovery Rates ",," *J. GXP Compliance*, vol. 16 (4), pp. 59–63, 2012.
- [77] S. Purty, R. Saranathan, K. Prashanth, K. Narayanan, J. Asir, C. Sheela Devi e S. Kumar Amarnath, "The expanding spectrum of human infections caused by *Kocuria* species: a case report and literature review," *Emerg. Microbes Infect.*, vol. 2 (1), pp. 1–8, 2013.
- [78] V. Kandi, P. Palange, R. Vaish, A. B. Bhatti, V. Kale, M. R. Kandi e M. R. Bhoomagiri, "Emerging Bacterial Infection: Identification and Clinical Significance of *Kocuria* Species.,," *Cureus*, vol. 8 (8), e731, 2016.
- [79] J. Hahne, T. Kloster, S. Rathmann, M. Weber e A. Lipski, "Isolation and characterization of *Corynebacterium* spp. from bulk tank raw cow's milk of different dairy farms in Germany.,," *PLoS One*, vol. 13 (4), e0194365, 2018.
- [80] B. Sokol-Leszczynska, P. Leszczynski, D. Lachowicz, O. Rostkowska, M. Niemczyk, T. Piecha, A. van Belkum, A. Sawicka-Grzelak e G. Mlynarczyk, "*Corynebacterium coyleae* as potential urinary tract pathogen," *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 38 (7), pp. 1339–1342, 2019.

- [81] M. G. Aguilera-Arreola, M. L. Ostría-Hernández, E. Albarrán-Fernández, S. R. Juárez-Enriquez, C. Majalca-Martínez, B. Rico-Verdín, E. A. Ruiz, M. Ruiz-Palma, M. R. Morales-García e A. Contreras-Rodríguez, "Correct Identification of *Ochrobactrum anthropi* From Blood Culture Using 16rRNA Sequencing: A First Case Report in an Immunocompromised Patient in Mexico," *Front. Med.*, vol. 5, (7), pp. 1–6, 2018.

Anexo A – Histórico de Microrganismos

Nas Tabelas A.1 até A.3, estão representados os dados referentes a todas as incidências de contaminantes identificadas na Secção de Injetáveis, durante 1º Semestre de 2019, para o ar, fardamento e superfícies, respetivamente. Foram considerados para os gráficos nas Figuras 4.5 até 4.7 os microrganismos cuja frequência, considerando as três tabelas, representavam 1% da frequência total.

Tabela A.1 – Incidência Total de Contaminantes no Ar - 1º Semestre 2019

Microrganismo	Frequência
<i>Micrococcus luteus/lylae</i>	185
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	21
<i>Kocuria kristinae</i>	11
<i>Granulicatella adiacens</i>	10
<i>Staphylococcus warneri</i>	9
<i>Brevundimonas diminuta</i>	8
<i>Brevundimonas vesicularis</i>	8
<i>Staphylococcus caprae</i>	8
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	8
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	8
Organismo Não Identificado	7
<i>Staphylococcus hominis ssp hominis</i>	7
<i>Dermacoccus nishinomiyaensis</i>	6
<i>Kytococcus sedentarius</i>	6
<i>Kocuria varians</i>	4
<i>Staphylococcus capitis</i>	4
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	4
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3
<i>Bacillus cereus</i>	2
<i>Bacillus farraginis</i>	2
<i>Bacillus licheniformis</i>	2
<i>Bacillus mycoides</i>	2
<i>Bacillus thuringiensis</i>	2
<i>Kocuria rhizophila</i>	2
<i>Kocuria rosea</i>	2
<i>Rhodotorula glutinis</i>	2
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	2
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	2
<i>Staphylococcus warneri</i>	2
<i>Pseudomonas oryzae</i>	1
<i>Bacillus circulans</i>	1
<i>Bacillus raris</i>	1
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1
<i>Kocuria shizophila</i>	1
<i>Paenibacillus glucanolyticus</i>	1
<i>Rothia dentocariosa</i>	1
<i>Staphylococcus cohnii ssp cohnii</i>	1

Tabela A.1 – Incidência Total de Contaminantes no Ar - 1º Semestre 2019 (cont.)

<i>Staphylococcus cohnii ssp urealyticus</i>	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1
<i>Staphylococcus equorum</i>	1
<i>Straphylococcus capreae</i>	1
<i>Straphylococcus cohnii ssp cohnii</i>	1
<i>Alicyclobacillus acidocaldarius</i>	1
<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>	1
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	1
<i>Geobacillus toebii</i>	1
<i>Granulicatella elegans</i>	1
	360

Tabela A.2 – Incidência Total de Contaminantes no Fardamento - 1º Semestre 2019

Microrganismo	Frequência
<i>Micrococcus luteus/lylae</i>	22
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	11
<i>Organismo Não Identificado</i>	5
<i>Staphylococcus hominis ssp hominis</i>	4
<i>Staphylococcus warneri</i>	4
<i>Kocuria varians</i>	3
<i>Alicyclobacillus acidocaldarius</i>	3
<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>	3
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	2
<i>Staphylococcus capitis</i>	2
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1
<i>Staphylococcus hominis ssp. hominis</i>	1
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1
<i>Bacillus cereus</i>	1
<i>Bacillus mycoides</i>	1
<i>Bacillus thuringiensis</i>	1
<i>Kocuria rhizophila</i>	1
<i>Kocuria shizophila</i>	1
<i>Kocuria kristinae</i>	1
<i>Staphylococcus hominis ssp. hominis</i>	1
<i>Aerococcus viridans</i>	1
<i>Alloiococcus otitis</i>	1
<i>Geobacillus toebii</i>	1
<i>Kocuria kristinae</i>	1
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1
<i>Rhizobium radiobacter</i>	1
<i>Staphylococcus xylosus</i>	1
<i>Paenibacillus amylolyticus</i>	1
<i>Paenibacillus lautus</i>	1
	79

Tabela A.3 – Incidência Total de Contaminantes nas superfícies - 1º Semestre 2019

Microrganismo	Frequência
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3
<i>Micrococcus luteus/lylae</i>	3
<i>Candida parapsilosis</i>	1
<i>Pseudomonas putida</i>	1
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	1
<i>Staphylococcus auricularis</i>	1
<i>Staphylococcus hominis ssp hominis</i>	1
<i>Staphylococcus caprae</i>	1
<i>Corynebacterium confusum</i>	1
<i>Corynebacterium coylease</i>	1
<i>Dermacoccus nishinomiyaensis</i>	1
<i>Kocuria rosea</i>	1
<i>Kytococcus sedentarius</i>	1
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	1
	18