UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM

CAMILA QUARTIM DE MORAES BRUNA

O IMPACTO DO USO DE DIFERENTES TIPOS DE LUVAS E DAS
MÃOS NUAS NA INSPEÇÃO E PREPARO DO INSTRUMENTAL
CIRÚRGICO LIMPO

SÃO PAULO
2014

CAMILA QUARTIM DE MORAES BRUNA

**O IMPACTO DO USO DE DIFERENTES TIPOS DE LUVAS E DAS
MÃOS NUAS NA INSPEÇÃO E PREPARO DO INSTRUMENTAL
CIRÚRGICO LIMPO**

Tese apresentada à Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo (EE-USP) para obtenção do título de Doutor em Ciências. Versão corrigida. A versão original se encontra na biblioteca da EE-USP.

Área de concentração: Enfermagem na Saúde do Adulto

Orientadora:
Profa. Dra. Kazuko Uchikawa Graziano

**SÃO PAULO
2014**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Assinatura: _____

Data ____/____/____

Catálogo na Publicação (CIP)
Biblioteca “Wanda de Aguiar Horta”
Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo

Bruna, Camila Quartim de Moraes
O Impacto do uso de diferentes tipos de luvas e das mãos nuas na inspeção e preparo do instrumental cirúrgico limpo / Camila Quartim de Moraes Bruna. –São Paulo, 2014. 92p.

Tese (Doutorado) – Escola de Enfermagem da
Universidade de São Paulo.

Orientadora: Prof^a Dr^a Kazuko Uchikawa Graziano
Área de concentração: Enfermagem na Saúde do
Adulto

1. Resíduos orgânicos 2. Instrumentos cirúrgicos 3.
Mãos 4. Luvas protetoras 5. Toxicidade 6.
Enfermagem I. Título.

Nome: Camila Quartim de Moraes Bruna

Título: O IMPACTO DO USO DE DIFERENTES TIPOS DE LUVAS E DAS MÃOS NUAS NA INSPEÇÃO E PREPARO DO INSTRUMENTAL CIRÚRGICO LIMPO

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação de Enfermagem na Saúde do Adulto – PROESA da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutora em Ciências.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

*A meus filhos, **Gabriela e Leonardo***

*A meu marido, **Paulo***

E a todo enfermeiro que estuda para que esta seja uma profissão respeitada

AGRADECIMENTOS

*A minha querida orientadora **Profª Drª Kazuko Uchikawa Graziano**, por ser responsável pela minha formação como pesquisadora e por ser meu eterno exemplo, pela humildade, dedicação, conhecimento, pelo orgulho que me faz sentir de ser enfermeira e de fazer parte de seu grupo. Ainda me lembro da primeira vez que a ouvi palestrar, pensei “Um dia, quero ser como ela”!*

*A **Profª Maria Clara Padoveze** pela imensa perspicácia e lucidez com que avalia os trabalhos do grupo de pesquisa. É sempre um aprendizado ouvi-la!*

*A meu amigo **Rafa**, pela paciência, por ser incansável na pesquisa e pela imensurável ajuda com a parte citotóxica.*

*A meus amigos do grupo de pesquisa, **Flávia, Alda, Giovana, Maíra e Alexandra**, pela ajuda incondicional e pelo companheirismo.*

*À toda equipe do **Laboratório da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa**, sobretudo, **Cely e Suzete**, pela realização das leituras microbiológicas e pela paciência e disponibilidade.*

*Ao **Núcleo de Cultura de Células do Instituto Adolfo Lutz**, especialmente, **Doutoras Áurea e Claudia** pela realização dos testes de citotoxicidade, pela paciência e presteza com que sempre me atenderam.*

*Ao **CME do Hospital Universitário da USP**. Em especial, a **enfermeira Cristiane**, por ceder o espaço e os funcionários para realização de parte da pesquisa.*

*A meu marido **Paulo**, pela ajuda incondicional, pelo amor e paciência.*

*A meus filhos, **Gabriela e Leonardo**, por todo o tempo que deixei de estar ao lado deles para que a realização deste estudo pudesse se concretizar. Vocês são o que tenho de mais importante na vida, são meus motivos e minha força. São minha vida e minha alegria!*

*A meus sogros, **Sr Paulo e Gilda**, pelo apoio e por acreditarem no caminho acadêmico.*

*“If you love a flower, don’t pick it up.
Because if you pick it up it dies and it ceases to be what you love.
So if you love a flower, let it be.
Love is not about possession.
Love is about appreciation.”*

OSHO

“O destino é inexorável”

Bernard Cornwell

Bruna, CQM. O impacto de diferentes tipos de luvas e das mãos nuas na inspeção e preparo do instrumental cirúrgico limpo [tese]. São Paulo: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2014.

RESUMO

Introdução: A inspeção e o acondicionamento dos instrumentais cirúrgicos limpos em caixas e bandejas, implicam na manipulação desses produtos. Na prática, é possível observar grande descompasso entre o cuidado dispensado a essa etapa, quando comparado ao rigor exigido para remoção completa de contaminantes por meio da limpeza. A falta de consenso quanto ao uso de luvas nessa etapa do processo chama a atenção e não se sabe se esse detalhe repercute na qualidade final do material quanto à segurança para o paciente cirúrgico. **Objetivos:** Determinar se há diferenças na resposta citotóxica relacionada ao uso de distintos tipos de luvas e das mãos nuas na inspeção e preparo do instrumental cirúrgico limpo e avaliar a carga microbiológica de instrumentais cirúrgicos preparados sem luvas e sua repercussão na esterilização. **Método:** Esta pesquisa realizou um experimento laboratorial com abordagem pragmática, utilizando cânulas de oftalmologia que foram manipuladas com diferentes tipos de luvas e com as mãos nuas. Posteriormente, o teste de citotoxicidade foi realizado por meio da difusão em ágar. Pinças anatômicas também fizeram parte da amostra para a análise exploratória microbiológica, após serem manipuladas sem luvas, e posteriormente, submetidas à avaliação de sua esterilidade, após autoclavação. **Resultados:** Nenhuma das amostras de cânulas de oftalmologia manipuladas por diferentes tipos de luvas e por mãos nuas apresentou efeito citotóxico. Todas as culturas microbiológicas das pinças anatômicas manipuladas sem luvas apresentaram crescimento de microrganismos aeróbios e anaeróbios, embora nenhum microrganismo tenha sido recuperado após a autoclavação. **Conclusão:** Não houve evidências de diferenças de resposta citotóxica relacionada ao uso de diferentes tipos de luvas e das mãos nuas na manipulação do instrumental cirúrgico limpo que sinalizasse risco de iatrogenia. Ressalta-se que o uso de luvas implica aumento dos custos do processo e na geração de resíduos, além do potencial risco alergênico ao látex. Esta pesquisa teve como relevância subsidiar a elaboração de protocolos para a etapa de preparo de instrumentais cirúrgicos limpos.

Palavras-chave: Resíduos orgânicos. Instrumentos cirúrgicos. Mãos. Luvas protetoras. Toxicidade. Enfermagem.

Bruna, CQM. The impact of the use of different kinds of gloves and bare hands when handling surgical instruments [thesis]. São Paulo (SP), Brasil: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2014.

ABSTRACT

Introduction: The aim of reprocessing surgical instruments is to provide instruments that are clean, in good working condition and ultimately sterile thus ensuring patient safety. During instrument there is no agreement about the necessity for glove use. Therefore, there is little reason for employees to wear gloves to protect themselves from possible residual contaminants on cleaned instruments that had previously been used during clean or sterile surgery. On the other hand, the use of the gloves to handle surgical instruments during preparation increases medical waste, increases medical costs and could increase the prevalence of “glove” allergies in staff. **Aim:** In this study we investigated the risk posed to patients from staff wearing different types of gloves or no gloves to prepare surgical kits. **Method:** Five cleaned ophtalmic cannulas were handled using different kinds of gloves and with bare hands, package and steam sterilized. An *in vitro* cytotoxicity test was conducted, using the agar diffusion test. Microbiological tests were conducted as well, in samples handled with bare hands. **Results:** All test samples showed the same mild reactivity (grade 2) indicating that handling instruments with gloves or bare hands did not leave any residual toxic products on the instrument surface. **Conclusion:** We found no difference in the iatrogenic risk to patients of either increased toxicity or increased risk of microbial contamination if surgical instruments are prepared with or without gloves. However, the use of gloves has some inherent disadvantages, such as the risk of latex sensitization of the workers and increased medical costs due to purchase and waste disposal.

Palavras-chave: Organic residues. Surgical instruments. Hand. Protective glove. Toxicity. Nursing.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1.	Cânulas de hidrodissecção utilizadas como amostra na etapa de análise citotóxica. São Paulo, 2014.....	34
Figura 2.	Pinças anatômicas sem dente utilizadas como amostra na etapa de análise microbiológica. São Paulo, 2014.....	35
Figura 3.	Os quatro tipos de luvas utilizadas, no experimento. São Paulo, 2014.....	36
Figura 4.	Cânulas sendo manipuladas para a etapa de análise de citotoxicidade. São Paulo, 2014.....	38
Figura 5.	Cânula utilizada como amostra depositada sobre a camada de ágar na etapa de análise citotóxica. São Paulo, 2014.....	40
Figura 6.	Fragmento de luva depositado sobre a camada de ágar na etapa de análise citotóxica. São Paulo, 2014.....	41
Figura 7.	Resumo esquemático da etapa de análise citotóxica. São Paulo, 2014.....	43
Figura 8.	Manipulação das pinças na etapa de análise microbiológica. São Paulo, 2014.....	44
Figura 9.	Pinças utilizadas como amostra depositadas em frasco de vidro contendo 100 mL de meio TSB. São Paulo, 2014...	46
Figura 10.	Saco plástico contendo amostra da fase quantitativa da etapa microbiológica sendo sonicado. São Paulo, 2014..	49
Figura 11.	Saco plástico contendo amostra da fase quantitativa da etapa microbiológica sendo agitado. São Paulo, 2014....	50
Figura 12.	Sistema de filtragem utilizado para a fase quantitativa da etapa microbiológica. São Paulo, 2014.....	51
Figura 13.	Resumo esquemático da etapa de análise microbiológica. São Paulo, 2014.....	52
Figura 14.	Resumo esquemático dos Grupos de Controle. São Paulo, 2014.....	53

Figura 15.	Reatividade biológica apenas sob a amostra na camada de células, caracterizando não citotoxicidade, grau dois. São Paulo, 2014.....	56
Figura 16.	Halo formado pelo efeito citotóxico do fragmento de luva depositado sobre a camada de células. São Paulo, 2014.....	58
Figura 17.	Meio de cultura apresentando turbidez por crescimento bacteriano. São Paulo, 2014.....	60
Figura 18.	Placa de Petri apresentando crescimento de microrganismos. São Paulo, 2014.....	65
Figura 19.	Placas de Petri apresentando crescimento de <i>S. marcescens</i> (ATCC® 14756™) do controle positivo da fase qualitativa da etapa microbiológica. São Paulo, 2014.....	66
Figura 20.	Placas de Petri apresentando crescimento de <i>S. marcescens</i> (ATCC® 14756™) do controle positivo da fase quantitativa da etapa microbiológica. São Paulo, 2014.....	67

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1.** Graus de reatividade biológica para o teste de citotoxicidade pelo método da difusão em ágar, conforme a Norma ISO 10993-5:2009. São Paulo, 2014.....42
- Quadro 2.** Reatividade biológica das amostras nas placas de cultura celular conforme diferentes tipos de manipulação. São Paulo, 2014.....57
- Quadro 3.** Reatividade biológica nas placas de cultura celular de cada tipo de luva utilizado como controle. São Paulo, 2014.....59
- Quadro 4.** Microrganismos aeróbios encontrados na fase de análise quantitativa, após manipulação das amostras sem luva. São Paulo, 2014.....61
- Quadro 5.** Microrganismos anaeróbios encontrados na fase de análise qualitativa, após manipulação das amostras sem luva. São Paulo, 2014.....62
- Quadro 6.** Microrganismos anaeróbios encontrados na fase de análise quantitativa, após manipulação das amostras sem luva. São Paulo, 2014.....64

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAMI	<i>Association for the Advancement of Medical Instrumentation</i>
AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AORN	<i>Association of periOperative Registered Nurses</i>
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
°C	graus Celsius
CDC	<i>Center for Disease Control and Prevention</i>
cm	centímetros
CME	Centro de Materiais e Esterilização
HU-USP	Hospital Universitário da Universidade de São Paulo
IAL	Instituto Adolfo Lutz
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
LEM	Laboratório de Ensaios Microbiológicos
mL	mililitro
mm	milímetro
mM	milimolar
MS	Ministério da Saúde
POP	Procedimento Operacional Padrão
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SF	Soro Fisiológico
SIRS	<i>Systemic Inflammatory Response Syndrome</i>
SOBECC	Sociedade Brasileira de Enfermeiros de Centro Cirúrgico, Recuperação Anestésica e Central de Materiais
TASS	<i>Toxic Anterior Segment Syndrome</i>
TSB	<i>Trypticase Soy Broth</i>
UFC	Unidade formadora de colônias
USP	Universidade de São Paulo
µg	micrograma

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	17
2. REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1 O preparo dos instrumentais cirúrgicos.....	20
2.2 As mãos.....	22
2.3 As luvas.....	24
3. OBJETIVOS.....	30
3.1 Objetivo geral.....	30
3.2 Objetivos específicos.....	30
4 MATERIAL E MÉTODO.....	32
4.1 Tipo de pesquisa.....	32
4.2 Locais da pesquisa.....	32
4.3 Amostra.....	33
4.4 Aspectos éticos e legais.....	35
4.5 Detalhamento das etapas do experimento.....	35
4.5.1 Grupos de estudo	35
4.5.2 Etapa de análise citotóxica.....	37
4.5.3 Etapa de análise microbiológica.....	44
4.5.4 Definição do tamanho amostral.....	54
5 RESULTADOS.....	56
5.1 Etapa de análise citotóxica.....	56
5.2 Etapa de análise microbiológica	59
6 DISCUSSÃO.....	70
7 CONCLUSÃO.....	78
REFERÊNCIAS.....	80
ANEXOS.....	92

Introdução

1 INTRODUÇÃO

O preparo garante que os instrumentais cirúrgicos sejam disponibilizados no campo estéril inspecionados quanto à adequada limpeza e em bom estado de funcionamento. Também é neste momento que os instrumentais são separados e distribuídos na condição em que serão apresentados no campo operatório e embalados, para serem, posteriormente, encaminhados à esterilização.

Esta etapa é realizada por meio da manipulação dos produtos e, na prática, é possível observar grande descompasso no cuidado dispensado a ela, quando comparado ao cuidado concedido à limpeza. Há baixa preocupação com a recontaminação do material, pouca atenção é dispensada à higienização das mãos e o uso de luvas não está bem estabelecido.

O preparo ideal dos instrumentais cirúrgicos deve ser constituído de uma inspeção minuciosa dos produtos, com o intuito de identificar a sujeira residual e as possíveis falhas mecânicas, incluindo todas as reentrâncias e cremalheiras (AAMI, 2006; AORN, 2006; CDC, 2008). Como auxílio, é recomendado o uso de lentes de aumento, como lupas e que a iluminação no local da inspeção seja satisfatória (BRASIL, 2001; BRASIL, 2012).

Recomenda-se que os funcionários envolvidos no preparo dos produtos limpos usem roupas privativas, gorro (AORN, 2013), luvas e máscaras (BRASIL, 2012).

Embora haja recomendação quanto ao uso ou não de luvas, esta baseia-se em dedução teórica, pois os riscos relacionados aos resíduos orgânicos e inorgânicos provenientes das mãos dos funcionários, bem como o próprio pó das luvas não embasamento científico.

Recomendar o uso de luvas para manipulação do instrumental limpo, pode trazer uma série de consequências, além das financeiras. Existem notificações de respostas inflamatórias ao uso de luvas ou ao pó nelas contido, em pacientes submetidos a cirurgias de cavidade abdominal (GERGELY *et al.*, 1997; JOHNSON *et al.*, 2007; McILWAIN *et al.*, 2010; SOARES *et al.*, 2010). Em cirurgias delicadas, como as oftalmológicas, existem relatos de afecções inflamatórias, causadas por resíduos orgânicos e/ou inorgânicos nos instrumentais cirúrgicos (MAMALIS, 2006).

A permanência de resíduos, após a limpeza nos instrumentais cirúrgicos, é motivo de preocupação (ALFA, OLSON, AL-FADHALY, 2010) e não é recomendado que resíduos sequem ou sejam esterilizados sobre os instrumentais (CDC, 2008).

O que não é possível afirmar ainda é se as luvas ou as mãos nuas transmitem algum resíduo aos instrumentais cirúrgicos, que seriam carregados para os tecidos dos pacientes, causando afecções.

Considerando-se as possíveis iatrogenias e o impacto financeiro, não só com o custo das luvas, mas com o descarte das mesmas, há necessidade de comprovar se existe evidência de risco no preparo de produtos utilizando diferentes tipos de luvas, e qual delas seria a ideal, comparando-o ao preparo sem luvas, subsidiando assim a elaboração dos Protocolos Operacionais Padrão (POP) no contexto dos Centros de Materiais e Esterilização (CME).

Esta pesquisa teve como hipótese que produtos preparados com diferentes práticas poderão apresentar distintos níveis de impacto biológico.

Revisão de literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 – O preparo dos instrumentais cirúrgicos

Esta etapa tem como finalidade disponibilizar à equipe cirúrgica instrumentais em boas condições de funcionalidade e devidamente protegidos, garantindo a manutenção da esterilidade durante o transporte e armazenamento destes (SOBECC, 2013).

Nesta fase, os instrumentais são inspecionados quanto à limpeza, defeitos ou danos e são secos (AAMI, 2006). Este procedimento exige manipulação ostensiva e observação do material, pois resíduos orgânicos e inorgânicos, como soro, sangue, fezes ou lubrificantes podem interferir na atividade microbicida, tanto dos agentes desinfetantes como dos esterilizantes (ALFA *et al.*, 1996; CDC, 2008), bem como podem agir como barreira física, protegendo os microrganismos (LEWIS, ARENS, 1995).

A limpeza é considerada uma etapa insubstituível no reprocessamento de produtos, seja manual ou automatizada, deve preceder os processos de desinfecção e esterilização (GRAZIANO, 2003; AAMI, 2006; CDC, 2008; AORN, 2013). A efetividade destes processos é afetada negativamente pelo número, tipo e resistência inerente dos microrganismos, incluindo biofilmes (AORN, 2006). Resíduos orgânicos e inorgânicos podem impedir o contato do agente esterilizante ou desinfetante (ALFA *et al.*, 1996; PINTO, KANEKO, OHARA, 2003; CDC, 2008).

A capacidade dos resíduos inorgânicos e orgânicos protegerem microrganismos durante a esterilização vem sendo descrita (ABBOTT, COCKTON, JONES, 1956; DOYLE, ERNST, 1967; JACOBS, 1998; GORHAM, JACOBS, ROBERTS, 1998; TOSH *et al.*, 2011) e justifica a importância da limpeza meticulosa dos

produtos cirúrgicos durante seu processamento, sobretudo com vistas a impedir que os resíduos sequem ou sejam autoclavados nos produtos, dificultando sua posterior retirada (CDC, 2008).

Estudos realizados por CHU *et al.* (1999) e PINTO *et al.* (2010) demonstraram que produtos utilizados nos procedimentos chegam ao CME com uma carga microbiana de, aproximadamente, 10^2 a 10^3 Unidades Formadoras de Colônia por material (UFC/material) e carga proteica que pode variar de 0.5 μg a 800 μg , após o processamento (SMITH *et al.*, 2005; BAXTER *et al.*, 2006; MURDOCH *et al.*, 2006; LAPPALEINEN, GOMATAM, HITCHINS, 2008).

Sabe-se que a limpeza é capaz de reduzir essas cargas orgânicas (CHU, MCALISTER, ANTONOPLOS, 1998; ALFA, DEGAGNE, OLSON, 1999; BAXTER *et al.*, 2006; MURDOCH *et al.*, 2006). São relatadas reduções na carga microbiana que variam de 4 a 6 $\log_{10}$ (HANSON *et al.*, 1989; VESLEY *et al.*, 1992; RUTALA, WEBER, 1995; ALFA, JACKSON, 2001; RUTALA, WEBER, 2004) e até 99% de cargas orgânicas (ALFA, NEMES, 2004; ALFA *et al.*, 2006).

Mas, quando a limpeza é realizada de forma inadequada ou negligente poderá haver aumento da carga orgânica, e até microbiana dos produtos (DESCÔTEAUX *et al.*, 1995; CHU, MCALISTER, ANTONOPLOS, 1998; LIPSCOMB, SIHOTA, KEEVIL, 2006; MURDOCH *et al.*, 2006; VASSEY *et al.*, 2011; SMITH *et al.*, 2011). Nesta etapa, inclui-se como falha, além da incompleta eliminação dos resíduos, o acréscimo de contaminantes por meio do enxágue deficiente e/ou por contaminação da água utilizada nele.

Somando-se as possíveis falhas na limpeza, a manipulação realizada no momento do preparo pode aumentar ainda mais o desafio da esterilização, pelo acréscimo dos resíduos depositados nos instrumentais cirúrgicos, causado pelo uso de luvas ou pelas próprias mãos nuas dos funcionários.

2.2 – As mãos

A pele normal é formada por uma microbiota residente e uma transitória. A residente, aderida às camadas mais profundas da pele, é de difícil remoção e está pouco relacionada às infecções. A microbiota transitória ou temporária é adquirida e coloniza a pele por um curto período de tempo (PRICE, 1938; FERNANDES, FILHO, 2000).

Os principais gêneros de microrganismos encontrados são *Corynebacteria* (22,8%), *Propionibacteria* (23%) e *Staphylococci* (16,8%) (GRICE *et al.*, 2009). Um estudo identificou as bactérias Gram-negativas como as principais colonizadoras das mãos, sendo elas, sobretudo *Actinobacter*, *Moraxella*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Serratia* e *Citrobacter*, embora leveduras e bactérias Gram-positivas também tenham sido identificadas (LARSON, 1984).

Uma vez que as bactérias Gram-negativas estão presentes nas mãos, e estas podem ser transferidas aos instrumentais cirúrgicos no momento da manipulação do preparo, suscitam-se dúvidas quanto à possibilidade da presença de endotoxinas nesses instrumentais. Estas toxinas são provenientes da lise das células das bactérias Gram-negativas, são estáveis ao aquecimento e, por isso, não se degradam após autoclavação, podendo levar a respostas imunes e inflamatórias graves (PIAZZA, MENEZES, 2004).

As mãos da equipe de saúde são a principal fonte exógena de infecção hospitalar (FERNANDES, FILHO, 2000; BOYCE, PITTET, 2002) e a falta de higiene ou higiene inadequada das mãos leva à permanência de maior número de microrganismos nessas (LARSON, 1984; FERNANDES, FILHO, 2000).

A adesão à higiene das mãos da equipe de profissionais de

saúde é descrita como sendo em torno de 30% a 48% (PITTET, MOUROUGA, PERNEGER, 1999; BISCHOFF *et al.*, 2000; KREDIET *et al.*, 2011). Como no CME não existe o contato direto com o paciente e na área limpa, teoricamente, não há contato nem com fluidos ou secreções, a preocupação com a higiene das mãos pode ser ainda menor, fato observado na prática.

Considerando-se ainda que a umidade ajuda a transferir os microrganismos da microbiota transitória (MARPLES, TOWERS, 1979; PATRICK, FINDON, MILLER, 1997, SATTAR *et al.*, 2001), e que existe a opção de secagem manual no preparo dos instrumentais, a preocupação com o aumento da carga microbiana nesses produtos fica evidente.

Outra preocupação seria os depósitos de componentes orgânicos e inorgânicos, conhecidos como impressões digitais. As glândulas sudoríparas exócrinas liberam vários componentes na superfície da pele, como amônia, sódio, potássio, magnésio, bem como proteínas, glicose e lipídios (RAMOTOWASKI, 2001). Não há literatura que avalie a consequência do depósito desses componentes das mãos nos instrumentais cirúrgicos, mas este pode significar o aumento da carga orgânica e inorgânica nesses produtos.

Frente às dúvidas quanto ao cuidado a ser dispensado aos instrumentais no momento do preparo e por receio dos próprios funcionários envolvidos nesta etapa de entrar em contato com as possíveis secreções e resíduos remanescentes da limpeza, o gestor do CME, muitas vezes, vem optando pela recomendação do uso de luvas na manipulação do material limpo, embora sem embasamento científico.

2.3 – As luvas

A literatura é incerta ao apontar um único indivíduo como responsável pela descoberta da importância do emprego de luvas cirúrgicas, mas o uso delas cresceu gradualmente entre cirurgiões no período entre 1890 e 1910.

O relato mais consistente diz que William Halsted tenha pedido a fabricação de luvas de borracha finas para proteger as mãos de uma de suas enfermeiras do ácido carbólico, que lhe causava alergia. O cirurgião, adepto de técnicas assépticas, passou a usar e recomendar o uso de luvas para proteger os pacientes de infecções (ANDROUTSOS, 2005).

O primeiro documento que recomenda que todos os membros da equipe cirúrgica deveriam usar luvas de borracha para prevenir infecções data de 1897 (OWNBY, 2002) e foi redigido por um professor de cirurgia estoniano.

Na Primeira Guerra Mundial o uso de luvas de látex em cirurgias tornou-se rotina, mas apenas com o advento da epidemia da AIDS, e consequente recomendação do uso de luvas como precaução padrão pelo *Centers of Disease Control* (CDC) em 1987, que as luvas de látex tiveram um aumento expressivo em seu uso na prática hospitalar (OWNBY, 2002).

A RDC ANVISA n. 55 (BRASIL, 2011) define a luva para procedimentos não cirúrgicos como:

Produto feito de borracha natural, de borracha sintética, de misturas de borracha natural e sintética e de policloreto de vinila, de uso único, para utilização em procedimentos não cirúrgicos para assistência à saúde.

As luvas podem ser classificadas quanto ao tipo de material que as compõe, quanto às características da superfície, quanto ao formato, quanto à esterilização e quanto ao uso ou não de pó lubrificante (BRASIL, 2011).

Ressalta-se também a importância das luvas serem isentas de contaminação, devendo ser avaliadas quanto à segurança de seu contato com a pele e, quando o látex for utilizado, deve-se garantir a redução do conteúdo proteico (BRASIL, 2011).

O uso de luvas é recomendado, sobretudo, com o intuito de reduzir o risco de contaminação das mãos dos trabalhadores e diminuir o risco de disseminação dos microrganismos pelo ambiente, bem como do trabalhador para o paciente, ou de um paciente para outro, via trabalhador (WHO, 2009).

Na área de preparo do CME, o uso justifica-se na tentativa de preservar os instrumentais do contato direto com as mãos dos funcionários e/ou de preservar as mãos destes do possível contato com a sujeira remanescente nos produtos.

Proveniente da seiva extraída sobretudo do tronco da *Hevea brasiliensis*, vulgo Seringueira, o látex é um elastômero natural, constituído de uma mistura complexa de polisopreno, lipídeos, fosfolípidos e proteínas, sendo estas últimas as principais responsáveis pela hipersensibilidade observada ao látex (SCOTT, MERCER, 1997).

Consideradas ótima opção como protetoras contra contaminações das mãos e mais resistentes ao desgaste (KORNIEWICZ *et al.*, 1989; OLSEN, 1993), as luvas de látex ainda são amplamente utilizadas na assistência à saúde, a despeito de seu potencial efeito alergênico.

O primeiro relato de alergia ao látex data de 1933, e descrevia uma reação cutânea localizada. Nos anos de 1980, surgem as primeiras descrições de sintomas generalizados (MATHIAS *et al.*, 2006) e, hoje, ainda existem relatos sobre a hipersensibilidade às proteínas do látex.

Com o intuito de melhor compreender a alergia a este material e embasar experimentalmente estes relatos, vários estudos

analisando a citotoxicidade do látex foram desenvolvidos, demonstrando o potencial citotóxico dessa matéria prima (RUUTU *et al.*, 1985; CRITCHLOW *et al.*, 1989; CERIBELLI *et al.*, 1998; WANG *et al.*, 2008; SANTOS *et al.*, 2010), que também pode estar relacionada com a utilização de pó lubrificante em sua fabricação.

Recomenda-se o uso de luvas sem pó (WHO, 2009), embora, no Brasil, observe-se com frequência o uso de luvas que o contém. O pó pode ser absorvido pelas mucosas dos olhos, nariz, traqueia, orofaringe e pequenas vias aéreas, e na nasofaringe e orofaringe podem ser deglutidas e absorvidas pelo trato gastrointestinal (SÁ, MALLOZI, SOLE, 2010).

Na prática, é possível observar o depósito eventual de resíduos brancos nos instrumentais, provenientes do pó das luvas, mesmo após a autoclavação, e não há na literatura dados que garantam que estes depósitos não têm efeitos deletérios quando em contato com tecido humano.

Existem relatos e estudos (GERGELY *et al.*, 1997; JOHNSON *et al.*, 2007; McILWAIN *et al.*, 2010; SOARES *et al.*, 2010) que demonstraram que o pó quando em contato com a cavidade abdominal ou torácica pode trazer prejuízos ao paciente. A Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (*Systemic Inflammatory Response Syndrome - SIRS*) é uma inflamação generalizada desencadeada pelo contato com substâncias orgânicas e inorgânicas (GERGELY *et al.*, 1997; JOHNSON *et al.*, 2007; McILWAIN *et al.*, 2010; SOARES *et al.*, 2010), dentre elas, o pó das luvas. São vários os relatos de afecções causadas por depósitos de resíduos nos órgãos e tecidos durante o período intraoperatório, como granulomas (MORAES, ROVER, GEORGETTI, 1999; MAMALIS, 2006).

A literatura não permite ainda que seja possível determinar se depósitos de pó ou látex nos instrumentais cirúrgicos podem ter impacto biológico nos tecidos dos pacientes submetidos a cirurgias.

Síndromes como o *TASS* (*Toxic Anterior Segment Syndrom*), que se caracteriza por uma inflamação aguda, estéril que ocorre no pós-operatório de cirurgias oftalmológicas (MAMALIS, 2006), causada pela inoculação de alguma substância tóxica não infectante no globo ocular (AORN, 2006), permite inferir que esses componentes tem potencial de causar dano.

Qualquer solução inoculada nos olhos durante a cirurgia pode causar a inflamação, bem como endotoxinas e resíduos orgânicos e inorgânicos, havendo inclusive relatos de inflamações após o uso de produtos reprocessados (MAMALIS, 2006).

Embora ainda não existam dados epidemiológicos conclusivos quanto ao papel dos processos de limpeza e esterilização e seus consequentes resíduos na etiologia desta inflamação, são feitas recomendações de cuidado rigoroso com enxágue e com a qualidade do vapor utilizado na esterilização dos produtos oftalmológicos (AORN, 2006), demonstrando o risco potencial de depósitos orgânicos e inorgânicos nos instrumentais cirúrgicos (TAMASHIRO *et al.*, 2013).

Outra questão a ser considerada com o uso das luvas de látex é o aumento dos casos de alergias e sensibilizações dos profissionais de saúde às proteínas presentes naquele (CHAROUS *et al.*, 2002), fato que levou ao desenvolvimento de alternativas com proteção semelhante ao látex, porém sem as proteínas associadas à hipersensibilidade (REGO, ROLEY, 1999). São exemplos, as luvas de vinil e nitrílicas.

Luvas de vinil são compostas por um polímero chamado cloreto de polivinila, acrescido de ftalatos ou outros plastificantes, para garantir flexibilidade, embora esta flexibilidade não se traduza em resistência (REGO, ROLEY, 1999), enquanto a manutenção da sensibilidade dessas luvas equipara-se a das de látex (GNANESWARAN, MUDHUNURI, BISHU, 2008).

Desenvolvidas com o intuito de solucionar a questão da hipersensibilidade ao látex e da baixa resistência ao desgaste das luvas de vinil (KORNIEWICZ *et al.*, 2002), as luvas nitrílicas são compostas por acrilonitrila, butadieno e ácido carboxílico (REGO, ROLEY, 1999), que vêm demonstrando uma resistência semelhante à das luvas de látex, sendo menos susceptíveis a rasgos e aumento da permeabilidade no decorrer do uso, quando comparadas às luvas de vinil (DOUGLAS, SIMON, GODDARD, 1997; GNANESWARAN, MUDHUNURI, BISHU, 2008).

A questão da escolha do tipo de luva a ser utilizada não deve basear-se apenas no custo, pois tanto luvas de látex como de vinil e nitrílicas já apresentaram algum grau de toxicidade em experimentos, impossibilitando que qualquer uma delas seja considerada atóxica (OSHIMA, NAKAMURA, 1994; LÖNNROTH, 2005).

Objetivos

3 OBJETIVOS

3.1 - Objetivo geral

- Determinar se há diferenças na resposta citotóxica relacionada ao uso de distintos tipos de luvas e das mãos nuas na inspeção e preparo do instrumental cirúrgico, após sua limpeza.

3.2 - Objetivos específicos

- Evidenciar citotoxicidade no preparo de instrumentais cirúrgicos com o uso de luvas de látex com pó.
- Evidenciar citotoxicidade no preparo de instrumentais cirúrgicos com o uso de luvas de látex sem pó.
- Evidenciar citotoxicidade no preparo de instrumentais cirúrgicos com o uso de luvas vinílicas.
- Evidenciar citotoxicidade no preparo de instrumentais cirúrgicos com o uso de luvas nitrílicas.
- Evidenciar citotoxicidade no preparo de instrumentais cirúrgicos sem o uso de luvas.
- Avaliar a carga microbiológica de instrumentais cirúrgicos preparados sem luvas e sua repercussão na segurança da esterilização.

Material e Método

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 - Tipo de pesquisa

Foi desenvolvida uma pesquisa experimental laboratorial com abordagem pragmática.

4.2 - Locais da pesquisa

A limpeza, preparo e esterilização das pinças anatômicas foram realizados no CME do Hospital Universitário (HU) da Universidade de São Paulo (USP). O HU-USP é campo de Ensino e Pesquisa de seis Faculdades da área de Saúde da USP, atuando em áreas gerais de apoio diagnóstico e terapêutico, é um hospital de nível secundário dentro do Sistema Único de Saúde. Sua Missão é “Promover o acesso, a disseminação e a utilização das informações relativas às áreas de atuação do Hospital, dando suporte às atividades de ensino e pesquisa desenvolvidas na Instituição” e sua Visão: “Ter o compromisso de atender às necessidades dos usuários com qualidade, eficiência e rapidez” (HU-USP, 2013).

O preparo das amostras para incubação, a limpeza, embalagem e a esterilização das cânulas foram feitos no Laboratório de Ensaio Microbiológicos (LEM) do Departamento de Enfermagem Médico Cirúrgica da Escola de Enfermagem da USP.

O LEM é um centro de referência em estudos de segurança no processamento de produtos de assistência à saúde, no alcance de esterilidade e recuperação da carga microbiana em instrumental cirúrgico e odontológico. Este laboratório exerce papel de destaque na formação de pesquisadores em níveis de iniciação científica,

mestrado e doutorado em sua área de atuação e na divulgação de resultados de pesquisas em periódicos de repercussão internacional.

A identificação microbiana das amostras que apresentaram turvação do meio de cultura foi realizada no Laboratório de Microbiologia do Serviço de Infecção Hospitalar da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo da Faculdade de Ciências Médicas. A Santa Casa é uma entidade privada filantrópica, considerada o maior hospital filantrópico da América Latina, atende cerca de oito mil pessoas no dia a dia e possui, aproximadamente, dois mil leitos.

Os testes de citotoxicidade foram realizados no Instituto Adolfo Lutz (IAL). O IAL é reconhecido internacionalmente por sua competência para responder às ocorrências em sua área de atuação, tendo sido credenciado pelo Ministério da Saúde, como Laboratório Nacional em Saúde Pública e Laboratório de Referência Macrorregional. É um Centro de Referência para Controle de Qualidade Analítica de Micotoxinas e Resíduos de Pesticidas; Coordenador Nacional do Programa de Monitoramento de Matérias Estranhas em Alimentos, Centro de Referência Nacional para Diagnóstico Laboratorial da AIDS; Centro Colaborador da Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS) nas áreas de arbovírus, vírus *influenza* e produção de imunobiológicos e Centro Colaborador da OPAS para Culturas Celulares (IAL, 2010).

4.3 - Amostra

Para a etapa de análise citotóxica foram utilizadas como amostras cânulas de hidrodissecção em alumínio para oftalmologia (Figura 1) com, aproximadamente, 4,0 cm de comprimento, 0,6 mm de diâmetro e 0,2 mm na porção distal (Steel Inox®, Brasil), e para a etapa de análise microbiológica, instrumentais cirúrgicos de aço inox novos (Figura 2) - Pinças anatômicas sem dente *Erwin Guth*™, Brasil

de 14 cm. A escolha destes instrumentais caracterizou-se pela possibilidade de inoculação direta da amostra (cânulas de hidrodissecção) sobre a camada de ágar, sem causar dano ao mesmo e de inoculação direta da amostra (pinça anatômica) no tubo contendo meio de cultura.

Figura 1. Cânulas de hidrodissecção utilizadas como amostra na etapa de análise citotóxica. São Paulo, 2014.

Fonte: Própria do autor.

Figura 2. Pinças anatômicas sem dente utilizadas como amostra na etapa de análise microbiológica. São Paulo, 2014.

Fonte: Própria do autor.

4.4 – Aspectos éticos e legais

A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do HU-USP sob o registro CEP-HU/USP:1.264/13 (Anexo 1).

4.5 - Detalhamento das etapas do experimento

4.5.1 - Grupos de estudo:

Para a etapa de análise citotóxica da pesquisa, com o objetivo de avaliar a citotoxicidade gerada pela manipulação, utilizando diferentes tipos de luvas e sem o uso destas, foram constituídos os seguintes grupos de estudo:

Grupo C1: manipulação com luvas de látex com pó

Grupo C2: manipulação com luvas de látex sem pó

Grupo C3: manipulação com luvas vinílicas

Grupo C4: manipulação com luvas nitrílicas

Grupo C5: manipulação sem luvas

A Figura 3 apresenta os quatro tipos de luvas, utilizados no experimento.

Figura 3. Os quatro tipos de luvas, utilizadas no experimento. São Paulo, 2014.

Fonte: Própria do autor.

Para a etapa de análise microbiológica da pesquisa, com o objetivo de avaliar microbiologicamente as amostras manipuladas sem o uso de luvas, foram constituídos os seguintes grupos de estudo:

Grupo M1: teve o objetivo de avaliar quantitativamente a carga microbiológica da manipulação das amostras sem o uso de luvas. A formação desse grupo baseou-se no interesse em definir a carga de microrganismos nos instrumentais antes da esterilização.

Grupo M2: teve o objetivo de avaliar qualitativamente a carga microbiológica da manipulação das amostras sem o uso de luvas. A formação deste grupo justificou-se pelo interesse em recuperar todo e qualquer microrganismo que possa ter sido deixado nas amostras.

Grupo controle positivo microbiológico: teve o objetivo de confirmar a viabilidade dos métodos.

Grupo controle da esterilização: teve o objetivo de confirmar a efetividade da esterilização.

4.5.2 - Etapa de análise citotóxica

Testes citotóxicos *in vitro* podem ser utilizados como uma primeira etapa na avaliação biológica do material. Estes métodos são desenhados para determinar a resposta biológica de uma cultura de células quando expostas a material e/ou extratos deste material. A citotoxicidade é determinada qualitativa ou quantitativamente, por meio da medida de uma série de parâmetros (ISO 10.993-5, 2009).

No LEM, as amostras (cânulas de hidrodissecção) eram submetidas à limpeza manual com água potável, detergente enzimático (3M® - Detergente Multienzimático), escovas de cerdas macias e preparadas por meio de manipulação pela própria pesquisadora, de acordo com o grupo ao qual pertenciam, sendo cinco amostras com luvas de látex com pó (Grupo C1), cinco amostras com luvas de látex sem pó (Grupo C2), cinco amostras com luvas vinílicas (Grupo C3) e outras cinco amostras com luvas nitrílicas (Grupo C4). No HU, cinco amostras foram manipuladas por funcionários do CME sem o uso de luvas (Grupo C5), após limpeza

realizada conforme rotina da própria Instituição, que será descrita a seguir.

A manipulação caracterizava-se pelo toque das mãos em todo o corpo das amostras por 30 segundos. Este tempo representou uma média de tempo calculada pela própria pesquisadora, com base na observação prática, para inspeção de pinças complexas e simples (Figura 4).

Figura 4. Cânulas sendo manipuladas para a etapa de análise de citotoxicidade. São Paulo, 2014.

Fonte: Própria do autor.

As amostras foram embaladas em papel grau cirúrgico/filme e esterilizadas em autoclave a vapor saturado sob pressão a 135°C por 5 minutos.

As amostras foram, então, encaminhadas ao Núcleo de Cultura de Células do IAL, onde foram investigadas quanto à toxicidade celular pelo método da difusão em ágar (ISO 10.993-5, 2009). Com base na *United States Pharmacopeia* – USP-30 (2009),

a linhagem celular utilizada foi a NCTC Clone 929 (Célula L, derivada da linhagem L - tecido conjuntivo de camundongo) catalogada no acervo do Núcleo de Cultura de Células do IAL sob o número CCIAL020, proveniente da *American Type Culture Collection* (ATCC® CCL-1™).

Os ensaios foram realizados em cabine de proteção biológica, em sala limpa com o sistema de filtro absoluto e pressão positiva.

A linhagem celular clone NCTC 929 foi cultivada em meio mínimo de Eagle, suplementado com 0,1 mM de aminoácidos não essenciais, 1,0 mM de piruvato de sódio e 10% de soro fetal bovino sem antibiótico (MEM com 10% SFB).

As células ressuspendidas foram semeadas em volumes de 5 ml em placas de Petri (concentração $3,0 \times 10^5$ cel/mL). Foi realizada incubação por 48 horas a 37°C em atmosfera úmida, contendo 5% de CO₂. Com a monocamada de células já formada, o meio de cultura foi desprezado, sendo adicionados 5 mL de meio *overlay* nas placas de Petri. O meio *overlay* é composto de MEM duas vezes concentrado com ágar a 1,8% contendo 0,01% de corante vital vermelho neutro. O ágar foi fundido e misturado com o MEM, a $44 \pm 1^\circ\text{C}$. As placas de Petri foram incubadas novamente em estufa em atmosfera com 5% de CO₂ a 37°C, por 24 horas.

Sempre utilizando material esterilizado e técnica asséptica, as cânulas eram depositadas sobre o ágar das culturas celulares nas placas de Petri, a fim de avaliar a possível toxicidade (Figura 4). Também foram depositados sobre as monocamadas fragmentos de 0,5 cm de cada tipo de luva (látex com pó, látex sem pó, vinílica e nitrílica) para controlar a toxicidade das luvas isoladamente (Figura 5).

Como controles positivos, foram usados fragmentos de 0,5 cm de borracha látex e como controles negativos, fragmentos de 0,5 cm de papel de filtro atóxico.

Foi realizado um Controle negativo no qual amostras sem

manipulação alguma foram avaliadas quanto a toxicidade.

Figura 5. Cânula utilizada como amostra depositada sobre a camada de ágar na etapa de análise citotóxica. São Paulo, 2014.

Fonte: Própria do autor.

Figura 6. Fragmento de luva depositado sobre a camada de ágar na etapa de análise citotóxica. São Paulo, 2014.

Fonte: Própria do autor.

A toxicidade celular foi evidenciada macroscopicamente pela formação do halo incolor sob ou ao redor do material tóxico, medido com paquímetro calibrado e, microscopicamente, pela alteração da morfologia e morte das células ao redor das amostras. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

A interpretação deste resultado foi realizada com base nos graus de reatividade biológica para o método da difusão em ágar,

descritos na Norma ISO 10.993-5:2009 e reproduzidos abaixo, conforme os dados do Quadro 1.

Quadro 1 – Graus de reatividade biológica para o teste de citotoxicidade pelo método da difusão em ágar, conforme a Norma ISO 10.993-5:2009. São Paulo, 2014.

Grau	Reatividade	Descrição da zona de reatividade	Efeito citotóxico
0	Nenhuma	Zona não detectável sob ou ao redor da amostra.	Negativo
1	Leve	Algumas células malformadas ou degeneradas sob a amostra.	Negativo
2	Branda	Zona limitada à área sob a amostra.	Negativo
3	Moderada	Zona estabelecendo-se até 1 cm da amostra.	Positivo
4	Grave	Zona estabelecendo-se por mais de 1 cm da amostra.	Positivo

A etapa de análise citotóxica está esquematizada resumidamente na Figura 7.

Figura 7. Resumo esquemático da etapa de análise citotóxica.
São Paulo, 2014.

4.5.3 - Etapa de análise microbiológica

As amostras (pinças anatômicas sem dente) foram submetidas à limpeza manual utilizando escova de cerdas macias, água potável e detergente enzimático (HS Zyme – H Strattner™, Brasil), de acordo com a rotina da CME do HU-USP. Após a limpeza, 10 amostras foram manipuladas pelos funcionários da CME, que faziam uso de máscara, gorro e roupa privativa.

A manipulação seguiu o mesmo padrão estabelecido na etapa de análise citotóxica (FIGURA 8).

Figura 8. Manipulação das pinças na etapa de análise microbiológica. São Paulo, 2014.

Fonte: Própria do autor.

Após a manipulação, as amostras foram divididas aleatoriamente em dois grupos. Dez amostras foram depositadas, pelos próprios funcionários em sacos plásticos esterilizados, contendo 200 mL de Soro Fisiológico 0,9% (SF – Baxter™, Estados Unidos da América), que, posteriormente foram lacrados, formando o Grupo M1. Dez outras amostras foram inoculadas diretamente, também pelos próprios funcionários, em tubos de vidro com tampa rosqueável, contendo 100 mL (suficientes para imergir completamente as pinças – Figura 9) de *Tryptic Soy Broth* (TSB – BD Difco™, Estados Unidos da América), formando o Grupo M2. Dez outras amostras manipuladas pelos funcionários foram depositadas diretamente em papel grau cirúrgico e esterilizadas em autoclave a vapor a 134°C por 5 minutos, constituindo o Grupo Controle da esterilização.

Figura 9. Pinças utilizadas como amostra depositadas em frasco de vidro contendo 100 mL de meio TSB. São Paulo, 2014.

Fonte: Própria do autor.

As amostras foram, então, encaminhadas para o LEM, em caixas herméticas para incubação e análise.

No LEM, dez amostras de pinças foram intencionalmente contaminadas com uma suspensão bacteriana para a contaminação desafio, formada por 500 mL de caldo TSB (BD - Difco™, Estados Unidos da América) acrescido de *Serratia marscecens* (ATCC® 14756™) a 10^6 Unidades Formadoras de Colônias (UFC), formando o Grupo Controle positivo microbiológico. Estas amostras foram previamente limpas com água potável, detergente enzimático (3M®,

Brasil - Detergente Multienzimático) e escova de cerdas macias e secas em compressas de gaze esterilizadas (Cremer®, Brasil). As amostras foram imersas na suspensão desafio e deixadas para secar, por, aproximadamente, 5 minutos, sobre compressas de gaze esterilizadas (Cremer®, Brasil). Quando secas, as amostras foram aleatoriamente divididas em dois grupos, sendo cinco delas depositadas em tubos de vidro com tampa rosqueável, contendo 100 mL (suficientes para imergir completamente as pinças) de caldo TSB (BD - Difco™, Estados Unidos da América) e outras cinco amostras foram depositadas em saco esterilizado, contendo 100 mL de SF 0,9%.

Após inoculação em meio TSB, as amostras do Grupo M2, metade do Grupo Controle positivo microbiológico (para a fase de análise qualitativa) e o Grupo Controle negativo da esterilização foram incubadas no LEM em estufa (FANEM®, Brasil) a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 14 dias (USP 34, 2011), com leitura diária para identificação de possível turbidez.

As amostras do Grupo M2 que apresentaram turvação foram encaminhadas para o Laboratório de Microbiologia do Serviço de Infecção Hospitalar da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo da Faculdade de Ciências Médicas para identificação dos microrganismos.

No LEM, as amostras acondicionadas em sacos plásticos com SF 0,9% do Grupo M1, metade do controle positivo microbiológico (para a fase de análise quantitativa) e metade do controle negativo da esterilização, foram sonicadas (Figura 10) três vezes por 5 segundos em lavadora ultrassônica (Modelo USC-2800, Enge Solutions™, Estados Unidos da América) e agitadas (Figura 11) por 10 minutos em agitador orbital (Modelo 255 - B, Fanem®, Brasil) a 160 rotações por minuto (rpm), com o intuito de desprender no líquido eluído os microrganismos presentes nas amostras.

Em cabine de proteção biológica (Modelo VLFS 12 - VECO®,

Brasil), os lacres dos sacos foram retirados com tesoura esterilizada, e o conteúdo foi despejado no sistema esterilizado para filtração (Sterifil® Milipore™, Estados Unidos da América), acoplado a um frasco Kitassato ligado a uma bomba de vácuo (Figura 12), usando membranas de 0,20 micra (Merck Milipore™, Estados Unidos da América), configurando o método de filtração por membrana (USP 34, 2011). O conteúdo dos sacos era dividido em dois, portanto, cada membrana filtrava 100 mL do lavado resultante da extração da carga microbiana das amostras, e cada membrana era depositada em uma placa de Petri, uma contendo ágar sangue (Probac®, Brasil), com o intuito de promover o crescimento não seletivo de microrganismos aeróbios, e a outra contendo ágar Anaerinsol (Probac®, Brasil), para promover o crescimento de microrganismos anaeróbios. As placas foram lacradas e incubadas em estufa (FANEM®, Brasil) a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 14 dias, com leitura diária para averiguar o crescimento microbiano, e as placas de ágar Anaerinsol eram antes acondicionadas em jarras de anaerobiose (Probac®, Brasil).

As placas que apresentaram crescimento foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do Serviço de Infecção Hospitalar da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo da Faculdade de Ciências Médicas para identificação dos microrganismos.

Figura 10. Saco plástico contendo amostra da fase quantitativa da etapa microbiológica sendo sonicado. São Paulo, 2014.

Fonte: Própria do autor.

Figura 11. Saco plástico contendo amostra da fase quantitativa da etapa microbiológica sendo agitado. São Paulo, 2014.

Fonte: Própria do autor.

Figura 12. Sistema de filtragem utilizado para a fase quantitativa da etapa microbiológica. São Paulo, 2014.

Fonte: Própria do autor.

As fases da etapa microbiológica estão representadas resumidamente na Figura 13 e os Grupos de Controle na Figura 14.

Figura 13. Resumo esquemático da etapa de análise microbiológica. São Paulo, 2014.

Figura 14. Resumo esquemático dos Grupos de Controle. São Paulo, 2014.

4.5.4 – Definição do tamanho amostral

Todos os tipos de luvas disponíveis para pronto uso no mercado (látex com pó, látex sem pó, nitrílica e vinílica) foram usados reproduzindo a prática que acontece no CME. Inicialmente, trabalhou-se em quintuplicata para cada tipo de luva como tamanho amostral, selecionando-as aleatoriamente de cada caixa. Com base nos resultados dessa amostra, intencionou-se ampliar o tamanho amostral apoiado nas possíveis diferenças que seriam encontradas. Tendo em vista a ausência de diferenças nos resultados entre os grupos comparados, foi possível concluir a pesquisa com cinco amostras para cada grupo.

Resultados

5 RESULTADOS

5.1 – Etapa de análise citotóxica

Os resultados dos testes da etapa de análise citotóxica não apresentaram toxicidade em nenhuma das amostras, independentemente do tipo de luva utilizada na manipulação das mesmas (Figura 15). Estes resultados estão apresentados nos dados do Quadro 2.

Figura 15. Reatividade biológica apenas sob a amostra na camada de células, caracterizando não citotoxicidade, grau dois. São Paulo, 2014.

Fonte: Própria do autor.

Quadro 2. Reatividade biológica das amostras nas placas de cultura celular, conforme diferentes tipos de manipulação. São Paulo, 2014.

Tipo de manipulação	Efeito*	Reatividade (cm)*	Grau*
Látex com pó C1	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
Látex sem pó C2	NC	Ø	Ø
	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
Vinílica C3	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
Nitrílica C4	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
sem luva C5	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2
	NC	sob a amostra	2

NC: Não citotóxico

*Conforme ISO 10.993-5.

Ø: inexistente

Todas as amostras de luvas apresentaram toxicidade (Grau 3) quando depositadas diretamente sobre a camada de células (Figura 16), estes resultados estão apresentados nos dados do Quadro 3.

Figura 16. Halo formado pelo efeito citotóxico do fragmento de luva, depositado sobre a camada de células. São Paulo, 2014.

Fonte: Própria do autor.

Quadro 3. Reatividade biológica nas placas de cultura celular de cada tipo de luva utilizado como controle. São Paulo, 2014.

LUVA	Efeito*	Reatividade (cm)*	Grau*
Látex com pó	citotóxico	0,85	3
	citotóxico	0,80	3
	citotóxico	0,85	3
Látex sem pó	citotóxico	0,40	3
	citotóxico	0,27	3
	citotóxico	0,26	3
Vinílica	citotóxico	0,44	3
	citotóxico	0,35	3
	citotóxico	0,30	3
Nitrílica	citotóxico	0,83	3
	citotóxico	0,73	3
	citotóxico	0,80	3

* Conforme ISO 10.993-5

Os controles positivos dos testes citotóxicos apresentaram halo de morte celular (toxicidade positiva), e os controles negativos não mostraram toxicidade. O controle Negativo (sem manipulação) não apresentou toxicidade em nenhuma das amostras.

5.2 – Etapa de análise microbiológica

Os resultados dos testes da etapa de análise microbiológica apresentaram crescimento microbiano em todas as amostras das fases quantitativa M1 (Figura 17) e qualitativa M2 (Figura 18). Na fase de análise quantitativa para microrganismos aeróbios, houve crescimento nas cinco amostras e os microrganismos isolados, bem como suas respectivas quantidades estão descritos nos dados do Quadro 4.

Figura 17. Placa de Petri apresentando crescimento de microrganismos. São Paulo, 2014.

Fonte: Própria do autor.

Quadro 4. Microrganismos aeróbios encontrados na fase de análise quantitativa, após manipulação das amostras sem luva. São Paulo, 2014.

Placa	Microrganismo aeróbio	UFC*
1	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i> <i>Bacillus spp</i>	23 2
2	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i> <i>Bacillus spp</i>	1 Incontável**
3	<i>Micrococcus spp</i> <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> <i>Bacillus spp</i>	1 Incontável ** 4
4	<i>Micrococcus spp</i> <i>Bacillus spp</i> <i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	3 2 2
5	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	3

*UFC: Unidades Formadoras de Colônias

** ≥ 300 UFC

Nas cinco amostras incubadas em condições de anaerobiose, também houve crescimento positivo e estes microrganismos estão apresentados nos dados do Quadro 5 com suas respectivas UFCs.

Quadro 5. Microrganismos anaeróbios encontrados na fase de análise quantitativa, após manipulação das amostras sem luva. São Paulo, 2014.

Placa	Microrganismo anaeróbio	UFC*
1	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Bacillus spp</i>	1 1
2	<i>Micrococcus spp</i>	1
3	<i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> <i>Clostridium spp</i>	16 3 2
4	<i>Acinetobacter baumannii</i>	1
5	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i>	2

*UFC: Unidades Formadoras de Colônias

Os microrganismos identificados na fase qualitativa da etapa microbiológica estão descritos nos dados do Quadro 6.

Quadro 6. Microrganismos encontrados na fase de análise qualitativa, após manipulação das amostras sem luva. São Paulo, 2014.

Amostra	Microrganismo
1	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i> <i>Bacilo Gram positivo não esporulado</i>
2	<i>Bacilo Gram positivo</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
3	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i> <i>Bacilo Gram positivo</i>
4	<i>Bacilo Gram positivo</i> <i>Staphylococcus coagulase negativa</i>
5	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i> <i>Streptococcus sp</i> <i>Bacilo Gram positivo</i> <i>Bacilo Gram positivo não esporulado</i>
6	<i>Bacilo Gram positivo</i> <i>Staphylococcus coagulase negativa</i>
7	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i> <i>Bacilo Gram positivo</i>
8	<i>Staphylococcus coagulase negativa</i> <i>Streptococcus Grupo viridans</i> <i>Bacilo Gram positivo não esporulado</i>
9	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Staphylococcus coagulase negativa</i> <i>Bacteróides spp</i>
10	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Burkholderia cepacia</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Bacteróides spp</i>

Figura 18. Meio de cultura apresentando turbidez por crescimento bacteriano. São Paulo, 2014.

Fonte: Própria do autor.

O grupo Controle positivo microbiológico apresentou crescimento de *S. Marcescens* (ATCC® 14.756™) em todas as amostras, tanto para a fase de análise qualitativa como a fase de análise quantitativa (Figuras 19 e 20).

Figura 19. Placas de Petri apresentando crescimento de *S. marcescens* (ATCC® 14.756™) do Controle positivo da fase qualitativa da etapa microbiológica. São Paulo, 2014.

Fonte: Própria do autor.

Figura 20. Placas de Petri apresentando crescimento de *S. marcescens* (ATCC® 14.756™) do Controle positivo da fase quantitativa da etapa microbiológica. São Paulo, 2014.

Fonte: Própria do autor.

O grupo Controle negativo da esterilização não apresentou crescimento de microrganismos em nenhuma das amostras.

Discussão

6 DISCUSSÃO

Os resultados demonstraram a toxicidade das luvas quando colocadas diretamente sobre a camada de ágar, mas essa toxicidade foi transferida para os instrumentais de modo mais brando, a ponto de não representar risco celular. Conforme a norma ISO 10.993-5:2009, produtos médico-hospitalares são liberados para uso quando apresentam uma zona de reatividade de até Grau 2.

A hipótese inicial da pesquisa era de que houvesse diferenças nas reatividades de cada tipo de luva, pois o látex é sabidamente agressivo às células e é, inclusive, utilizado como Controle positivo nos testes de citotoxicidade. As luvas nitrílicas, consideradas, até então, menos tóxicas, apresentaram toxicidade semelhante às demais luvas.

A manipulação das amostras sem uso de luvas teve o mesmo grau de reatividade quando usando luvas. Não foi possível determinar, que elemento ou resíduo propiciou toxicidade das mãos para as amostras, mas existe a possibilidade de que endotoxinas possam ter surgido, de forma amena, após a esterilização dos instrumentais.

Endotoxinas são toxinas provenientes da lise das células das bactérias Gram-negativas, são estáveis ao aquecimento e, por isso, não se degradam após autoclavação, podendo levar a respostas imunes e inflamatórias graves (PIAZZA, MENEZES, 2004) e são capazes de destruir a camada de células em um teste de citotoxicidade.

Os microrganismos isolados das amostras da etapa de análise microbiológica têm como habitat natural a microbiota humana e/ou o meio ambiente (TRABULSI, ALTERTHUM, 2008), mas algum deles, como *Burkholderia cepacia*, *Acinetobacter*

baumannii, *Klebsiella pneumoniae* e *Acinetobacter calcoaceticus*, por exemplo, podem ter papel importante nas infecções nosocomiais (HICPAC, 2007).

Neste estudo, as bactérias encontradas foram, em sua maioria, semelhantes às bactérias isoladas das mãos de profissionais de saúde de outros estudos, bem como o número de espécies isoladas (LARSON *et al.*, 1998; BORGES, SILVA, FILHO, 2006; ROCHA, BORGES, FILHO, 2009).

Os resultados obtidos demonstraram crescimentos da ordem de um a quatro UFC por amostra e duas amostras apresentaram crescimento incontável, que se caracterizou por $\geq 10^2$ log. Estudos mostram que a carga microbiana nas mãos de funcionários envolvidos na assistência à saúde varia de $3.9 \times 10^4 = 39.0000$ a $4.6 \times 10^6 = 4.600.0000$ CFU/cm² (PRICE, 1938; LARSON, 1984; LARSON *et al.*, 1998).

Embora todas as amostras manipuladas sem luvas pelos funcionários tenham sido satisfatoriamente esterilizadas (o que não isenta a presença de endotoxinas), esses resultados merecem considerações, pois acenam para uma possível falha na higienização das mãos dos funcionários envolvidos no preparo dos instrumentais.

A preocupação com as questões relacionadas à qualidade da higienização das mãos dos funcionários no CME é pertinente. A adesão a este procedimento varia entre 30% e 48% para os profissionais de saúde envolvidos no cuidado direto ao paciente (PITTET, MOUROUGA, PERNEGER, 1999; BISCHOFF *et al.*, 2000; KREDIET *et al.*, 2011). Supõe-se que esta adesão seja ainda mais baixa na área limpa do CME, pela inexistência de contato direto com paciente ou com produtos contaminados.

Provavelmente, é justo a ausência de pacientes no CME que torna a frequência e assiduidade à higienização das mãos menor e mais difícil. Cabe ao responsável técnico do CME realizar educação

continuada quanto à importância e necessidade da adesão à higiene das mãos ao manipular material limpo.

As organizações que orientam as rotinas no CME (AAMI, 2006; AORN, 2013, SOBECC, 2013) recomendam que os funcionários que inspecionam o material sempre lavem as mãos ao manipular material limpo, antes e após ir ao banheiro e comer e/ou efetuar outra tarefa, que não seja a manipulação dos instrumentais limpos.

A World Health Organization (WHO) indica cinco momentos propícios para a lavagem das mãos (WHO, 2009):

- antes do contato com o paciente
- antes da realização de procedimento limpo/ asséptico
- após exposição a fluidos corpóreos
- após contato com o paciente
- após contato com o ambiente próximo ao paciente

Embora o CME pareça não se adequar a estas recomendações, a etapa de preparo dos instrumentais é um procedimento limpo, e a área suja de recebimento de produtos sujos, expõe o colaborador a fluidos corpóreos.

Mesmo diante da ausência de crescimento de microrganismos nas amostras após o método de esterilização utilizado, o preparo não deve aumentar a carga microbiana dos instrumentais. Instituir o uso de luvas por falhas no controle da higienização das mãos dos funcionários envolvidos no preparo não parece ser a solução ideal, pois não soluciona o problema da baixa adesão à higienização das mãos.

Da mesma maneira, utilizar luvas com o intuito de proteger os funcionários de possíveis resíduos não eliminados com a limpeza dos instrumentais dificulta a solução de um problema: a má qualidade do processo de limpeza. Independente da maneira como

esses instrumentais são lavados, mecânica ou manualmente, estes devem chegar limpos à área limpa.

Afinal, como citado anteriormente, a limpeza tem a capacidade de reduzir significativamente a carga orgânica e inorgânica dos instrumentais (HANSON, GOR, CLARKE, 1989; VESLEY *et al.*, 1992; WEBER, 1995; CHU, MCALISTER, ANTONOPLOS, 1998; ALFA, DEGAGNE, OLSON, 1999; RUTALA, ALFA, JACKSON, 2001; ALFA, NEMES, 2004; WEBER, 2004; BAXTER *et al.*, 2006; MURDOCH *et al.*, 2006; RUTALA, ALFA *et al.*, 2006), garantindo segurança na manipulação destes quando já limpos e em condições seguras de manuseio, sem a necessidade de uso de Equipamento de Proteção Individual, como luvas.

Máquinas lavadoras que terminam seus ciclos com instrumentais cheirando a sangue ou gordura, ou com sujeira aparente requerem manutenção, seguida de validação e qualificação, bem como funcionários que realizam lavagem manual de instrumentais e os entregam sujos precisam de treinamento.

Portanto, não seria, *a priori*, a condição que o instrumental chega à mesa de preparo a questão decisória para o uso das luvas.

Quando não indicado, o uso de luvas representa desperdício de recursos e não contribui para a redução de transmissão-cruzada de microrganismos, e também pode reduzir as oportunidades para higienização das mãos. Adicionalmente, o mau uso das luvas pode resultar em transmissão de microrganismos (WHO, 2009).

Price (1938) observou que a flora das mãos enluvadas multiplica-se rapidamente, dobrando a cada 40 minutos quando as mãos estão secas ou a cada 15 minutos se as luvas forem molhadas, podendo chegar a um aumento que exceda consideravelmente a microbiota ordinária das mãos.

Muitas vezes, lesões nas mãos que são causadas pelo uso de luvas, podem levar a alterações na microbiota da pele,

aumentando o risco de colonização por patógenos de importância nosocomial (LARSON *et al.*, 1998).

Em 1987, quando o CDC propôs o uso de luvas como precaução universal em razão do advento da AIDS (CDC, 1987), houve um repentino aumento dos relatos de casos de alergia ao látex (SÁ, MALLOZI, SOLE, 2010). Caracterizada como alergia do tipo I (IgE mediada), tem como sintomas urticária, angioedema, rinite, conjuntivite, broncoespasmo e anafilaxia (SUSSMAN *et al.*, 1998).

Turjanmaa (1987) apresenta um estudo demonstrando a prevalência da sensibilização ao látex em trabalhadores da área da saúde, sobre tudo aqueles que desenvolviam atividades nas unidades cirúrgicas. Em 1989, foi feito o primeiro relato de Asma como doença ocupacional, causada pelo uso de luvas de látex (SEATON, CHERRIE, TURNBULL, 1988).

Ownby (2002) considera impossível atestar se o aumento do uso de luvas de látex aumentou a sensibilização ao látex, a prevalência dos sintomas em pessoas já sensibilizadas ou a taxa de reconhecimento da alergia ao látex. Parece provável que a grande exposição ao látex aumentou a sensibilização e o reconhecimento dos sintomas simultaneamente.

Charous *et al.* (2002) acreditam haver evidências suficientes para concluir que a alergia ao látex aumenta com a exposição ocupacional, além de acreditarem que a asma ocupacional é causada exclusivamente pelo uso contínuo de luvas de látex. Os autores citados acreditam que o uso de luvas de látex deveria ser restrito, desencorajando seu emprego, sobretudo as que contêm pó, quando não há exposição a contaminantes.

Estudos vêm mostrando que, em adultos trabalhadores da área da saúde expostos a luvas de látex, a prevalência da

sensibilização varia de 0,5% a 5%, podendo chegar a 36% (SUSSMAN *et al*, 1998; CHAROUS *et al*, 2004).

O aumento da comercialização das luvas e consequente migração de sua fabricação para produtores asiáticos, levou a uma piora de sua qualidade, para baratear a produção, o que gerou luvas com mais proteínas alergênicas (OWNBY, 2002; SCOTT, 2008).

A questão com os custos deve ser considerada, tanto o custo de compra da luva como os custos ambientais e de descarte. Dados apontam que a implementação das precauções universais em um hospital-escola representaram um aumento de 92% nos custos gerais da Instituição, sendo dois terços deste valor representados apenas pela compra de luvas (DOEBBELING, WENZEL, 1990).

Na época em que este experimento foi realizado, a variação de preços para as caixas de diferentes tipos de luvas não foi tão significativa, não justificando a escolha pela luva de látex por economia.

Comprou-se uma caixa de luvas de látex com pó por, aproximadamente, 16,00 reais, de luvas de látex sem pó por 26,00 reais, de luvas vinílicas por 15,00 reais e nitrílicas por 19,00 reais. Com exceção das luvas de látex sem pó, a variação de preços foi pequena, embora os valores totais das caixas sejam significativos quando acumulados e somados.

Estima-se que o custo apenas com luvas cirúrgicas nos Estados Unidos da America (EUA) seja em torno de 206 milhões de dólares por ano (HOSP MATER MANAGE, 2006), mas este valor não inclui luvas de procedimento, portanto, é bastante subestimado. Na Inglaterra, um único hospital-escola relata gastar anualmente 700 mil Libras com o uso de luvas de procedimento (DENWOOD, 2011). Não foram encontrados dados sobre o custo com o uso de luvas no Brasil.

Outro ponto preocupante diz respeito ao descarte dessas luvas. Acredita-se que, anualmente, sejam desprezadas 100 bilhões de luvas no mundo (SCOTT, 2008). No Brasil, a legislação considera as luvas utilizadas resíduos do tipo A4, portanto, não passíveis de reciclagem (BRASIL, 2004).

Os diferentes tipos de manipulação dos instrumentais cirúrgicos realizados neste estudo, por apresentarem graus de citotoxicidade iguais, foram equivalentes, portanto, sob a óptica da geração de resíduo com o uso de luvas, fica evidente a indicação da realização do preparo sem o uso de luvas, contrariando a recomendação vigente hoje no Brasil (BRASIL, 2012). Para tanto, a atenção à higienização das mãos nesta etapa do reprocesso deve ser redobrada.

Conclusão

7 CONCLUSÃO

Embora exista hoje recomendação para uso de luvas no preparo de instrumental cirúrgico no Brasil (BRASIL, 2012), e embora este estudo tenha evidenciado não haver diferença na toxicidade do preparo com o uso de diferentes tipos de luvas e sem o uso destas, as desvantagens apresentadas pelo uso de luvas, como o risco de sensibilização ao látex para o profissional calçando a luva, além dos custos de compra e o impacto da geração de resíduos biológicos ao meio ambiente, o preparo sem o uso de luvas, com as mãos nuas, mostrou-se a recomendação ideal.

Referências

REFERÊNCIAS

AAMI. Association for advancement of medical instrumentation. American National Standards - Comprehensive guide to steam sterilization and sterility assurance in health care facilities, 2006.

ABBOTT C.F.; COCKTON J, JONES W. Resistance of crystalline substances to gas sterilization. J. Pharm. Pharmacol. 1956;8:709-20.

ALFA M.J.; DEGAGNE P.; OLSON N.; PUCHALSKI T. Comparison of ion plasma, vaporized hydrogen peroxide and 10% ethylene oxide sterilizers to the 12/88 ethylene oxide gas sterilizer. Infect Control Hosp Epidemiol. 1996;17(2):92-100.

ALFA M.J.; DEGAGNE P.; OLSON N. Worst-case soiling levels for patient-used flexible endoscopes before and after cleaning. AJIC. 1999; 27(5):392-01.

ALFA M.J.; JACKSON M. A new hydrogen peroxide-based medical-device detergent with germicidal properties: Comparison with enzymatic cleaners. AJIC. 2001;29:168-77.

ALFA M.J.; NEMES R. Manual versus automated methods for cleaning reusable accessory devices used for minimally invasive surgical procedures. Journal of Hospital Infection. 2004;58:50-58.

ALFA M.J.; NEMES R.; OLSON N.; MULHAIRE A. Manual Methods Are Suboptimal Compared With Automated Methods for Cleaning of Single-Use Biopsy Forceps. ICHE. 2006;27(8):841-46.

ALFA M.J.; OLSON N.; AL-FADHALY A. Cleaning efficacy of medical device washers in North American healthcare facilities. Journal of Hospital Infection. 2010;74:168-77.

ANDROUTSOS G. William Halsted (1852-1922): one of America's greatest surgeons and the surgical treatment of breast cancer. Journal of BUON. 2005;10(3):415-21.

AORN. Association of perioperative registered nurses . Clinical Issues. AORN Journal. 2006 Nov;84(5):841-47.

AORN. Association of perioperative registered nurses. Perioperative Standards and Recommended Practices, 2013.

BAXTER R.L.; BAXTER H.C.; CAMPBELL G.A.; GRANT K.; JONES A.; RICHARDSON P.; WHITTAKER G. Quantitative analysis of residual protein contamination on reprocessed surgical instruments. *J. Hosp. Infect.* 2006;63:439-44.

BISCHOFF W.E.; REYNOLDS T.M.; SESSLER C.N.; EDMOND M.B.; WENZEI R.P. Handwashing compliance by health care workers: the impact of introducing an accessible, alcohol-based hand antiseptic. *Arch Intern Med.* 2000;160:1017-21

BONE R.C.; FISHER C.J.; CLEMMER T.P. Sepsis syndrome: A valid clinical entity. *Crit Care Med.* 1989;17:389-93.

BORGES L.F.A.; SILVA B.L.; FILHO P.P.G. Hand washing: Changes in the skin flora. *AJIC.* 2007;35(6):417-20.

BOYCE J.M.; PITTET D. Guideline for hand hygiene in health-care settings. *Morb. Mortal. Wkly. Rep.* 2002; 51(*RR-16*):1-45.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Orientações gerais para Central de esterilização, 2001.

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 306 de 7 de Dezembro de 2004. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. *Diário Oficial da União, Brasília, DF, 07 de Dezembro de 2004.*

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 55 de 4 de Novembro de 2011. Estabelece os requisitos mínimos de identidade e qualidade para as luvas cirúrgicas e luvas para procedimentos não cirúrgicos de borracha natural, de borracha sintética, de mistura de borrachas natural e sintética e de policloreto de vinila, sob regime de vigilância sanitária. *Diário Oficial da União, Brasília, DF, 04 de Novembro de 2011.*

BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 15 de 15 de Março de 2012. Dispõe sobre requisitos de boas práticas para o processamento de produtos para saúde e dá outras providências. *Diário Oficial da União, Brasília, DF, 15 de Março de 2012.*

CDC. Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. MMWR supplements. 1987;36(suppl 02).

CDC. Center of Disease Control. Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities, 2008.

CERIBELLI M.I.P.F.; CRUZ A.S.; TOLEDO H.H.B. Raios Gama e óxido de etileno II: Esterilizações incompatíveis? (Análise piloto). Acta Paul. Enf. 1998;11(1):14-20.

CHANDRASEKAR P.H.; BROWN W.J. Clinical issues of blood cultures. Arch Intern Med. 1994;154: 841-49.

CHAROUS B.L.; BLANCO C.; TARLO S.; HAMILTON RG.; BAUR X.; BEEZHOLD D.; SUSSMAN G.; YUNGINGER J.W. Natural rubber latex allergy after 12 years: Recommendations and perspectives. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2002;109(1):31-34.

CHU N.S.; CHAN-MYERS H.; GHANZANFARI N.; ANTONOPLOS P.A. Levels of naturally occurring microorganisms on surgical instruments after clinical use and after washing. Am J Infect Control. 1999;27(4):315-19.

CHU N.S.; MCALISTER D.; ANTONOPLOS P.A. Natural bioburden levels detected on flexible gastrointestinal endoscopes after clinical use and manual cleaning. Gastrointestinal Endoscopy. 1998;48(2):137-42.

CRITCHLOW J.D.; MATSON P.L.; NEWMAN M.C.; HORNE G.; TROUP S.A.; LIEBERMAN B.A. Quality control in an in-vitro fertilization laboratory: use of human sperm survival studies. Human Reprod. 1989;4:545-49.

CRUZ A.S. Teste de citotoxicidade in vitro como alternativa ao teste in vivo de Draize na avaliação de produtos cosméticos [Tese]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo; 2003.

DENWOOD A. Hospital saves fortune just by swapping rubber gloves. 2011. Disponível em: <http://www.bbc.co.uk/news/health-14971984>. Data de acesso: 03/10/2014.

DESCÔTEAUX J.G.; POULIN E.C.; JULIEN M.; GUIDOIN R. Residual organic debris on processed surgical instruments. AORN Journal. 1995;62(1):23-30.

DOEBBELING B.N.; WENZEL R.P. The Direct Costs of Universal Precautions in a Teaching Hospital. *JAMA*. 1990;264(16):2083-87.

DOUGLAS A.; SIMON T.; GODDARD M. Barrier durability of látex and vinyl gloves in clinical settings. *Am Ind Hyg Assoc J*. 1997;58:672-76.

DOYLE J.E.; ERNST R.R. Resistance of *Bacillus subtilis* var. *niger* spores occluded in water-insoluble crystals to three sterilization agents. *Appl. Microbiol*. 1967;15:726-30.

FERNANDES A.T.; FILHO N.R. Infecção hospitalar: Desequilíbrio ecológico na interação do homem com sua microbiota. In: Fernandes AT. Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde. São Paulo: Atheneu, 2000, p. 169.

GERGELY J.; SIPKA S.; CSIPO J.; UDVARDY M.; SZEGEDI G.; KULCSAR A. Systemic inflammatory response syndrome (SIRS) induced by carbon tetrachloride in rats. *Mediators of Inflammation*. 1997;6:73-74.

GNANESWARAN V.; MUDHUNURI B.; BISHU R.R. A study of látex and vinyl gloves: Performance versus allergy protection properties. *International Journal of Industrial Ergonomics*. 2008;38:171-81.

GORHAM R.A.; JACOBS P.; ROBERTS C.G. Laboratory artifacts due to protein and salt crystals on the inactivation of *Bacillus stearothermophilus*. *J. Hosp. Infect*. 1998;40(abstract):P9.2.2.

GRAZIANO K.U. Processos de limpeza, desinfecção e esterilização de artigos odonto-médico-hospitalares e cuidados com o ambiente de centro cirúrgico. In: Lacerda RA. Controle de infecção em centro cirúrgico - Fatos, mitos e controvérsias. São Paulo: Atheneu, 2003.

GRICE E.A.; KONG H.H.; CONLAN S.; DEMING C.B.; DAVIS J.; YOUNG A.C.; NISC COMPARATIVE SEQUENCING PROGRAME; BOUFFARD G.G.; BLAKESLEY R.W.; MURRAY P.R.; GREEN E.D.; TURNER M.L.; SEGRE J.A. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. *Science*. 2009;324:1190-92.

HANSON P.J.; GOR D.; CLARKE J.R.; CHADWICK M.V.; NICHOLSON G.; SHA N.; GAZZARD B.; JEFFRIES D.J.; GAYA H.; COLLINS J.V. Contamination of endoscopes used in AIDS patients. *Lancet*. 1989;2:86-88.

HICPAC. Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings. 2007. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/isolation2007.pdf>. Data de acesso: 07/10/2014.

HOSP. MATER. MANAGE. Managers say drop in glove prices will be short-lived. Hosp Mater Manage. 2006 Feb;31(2):1,3-5.

HU-USP. Hospital Universitário. 2013. Disponível em: <http://www2.hu.usp.br>. Data de acesso: 19/02/2013.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. 2010. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br>. Data de acesso: 10/10/2010.

ISO 10.993–5. International Standard Organization. Biological evaluation of medical devices Part 5: Tests for cytotoxicity: in vitro methods, 2009.

JACOBS P. Cleaning: Principles, methods and benefits. In: Rutala WA, ed. Disinfection, sterilization, and antisepsis in healthcare. Champlain, New York: Polyscience Publications, 1998:165-81.

JOHNSON S.B.; LISSAUER M.; BOCHICCIO G.V.; MOORE R.; CROSS A.S.; SCALEA T.M. Gene Expression Profiles Differentiate Between Sterile SIRS and Early Sepsis. Ann Surg. 2007 April;245(4):611–21.

KREDIET A.C.; KALMAN C.J.; BONTEN M.J.; GIGENGACK A.C.; BARACH P. Hand-hygiene practices in the operating theatre: an observational study. Br J Anaesth. 2011 Oct;107(4):553-8.

KORNIWICZ D.M.; LAUGHON B.E.; BUTZ A.; LARSON E. Integrity of vinyl and latex procedure gloves. Nurs Res. 1989 May-Jun;38(3):144-6.

KORNIWICZ D.M.; EL-MASRI M.; BROYLES J.M.; MARTIN C.D.; O'CONNELL K. Performance of latex and nonlatex medical examination gloves during simulated use. AJIC. 2002; 30(2):133-38.

LAPPALEINEN S.K.; GOMATAM S.V.; HITCHINS V.M. Residual total protein and total organic carbon levels on reprocessed gastrointestinal (GI) biopsy forceps. Center for Devices and Radiological Health, Food and Drug Administration. 2008; p172-176.

LARSON E.L. Effects of handwashing agent, handwashing frequency, and clinical area on hand flora. AJIC. 1984;11:76–82.

LARSON E.L.; HUGHES C.A.N.; PYREK J.D.; SPARKS S.M.; CAGATAY E.U.; BARKTUS J.M. Changes in bacterial flora associated with damage on hands of care personnel. *AJIC*. 1998;26:513-21.

LEWIS D.L.; ARENS M. Resistance of microorganisms to disinfection in dental and medical devices. *Nat. Med*. 1995;1:956-58.

LIPSCOMB I.P.; SIHOTA A.K.; KEEVIL C.W. Comparative study of surgical instruments from Sterile-Service Departments for presence of residual Gram-negative endotoxin and proteinaceous deposits. *J Clin Microbiol*. 2006 October; 44(10):3728-33.

LÖNNROTH E.C. Toxicity of Medical Glove Materials: A Pilot Study. *International Journal of Occupational Safety and Ergonomics (JOSE)*. 2005;11(2):131–39.

MAMALIS N. Toxic anterior segment syndrome. *J Cataract Refract Surg*. 2006 Feb;32:181-82.

MAMALIS N.; EDELHAUSER H.F.; DAWSON D.G.; CHEW J.; LEBOYER R.M.; WERNER L. Toxic anterior segment syndrome. *Journal of Cataract and Refractive Surgery*. 2006 February;32:324-32.

MARPLES R.R.; TOWERS A.G. A laboratory model for the investigation of contact transfer of microorganisms. *J Hyg*. 1979;82:237-48.

MATHIAS L.A.S.T.; BOTELHO M.P.F.; OLIVEIRA L.M.; YAMAMURA S.J.B.; BONFÁ R.L.G.; MARSURA S. Prevalence of Signs/Symptoms Suggestive of Latex Sensitization in Health Care Workers. *Rev Bras de Anesthesiol*. 2006;5(2):137-46.

McILWAIN R.B.; TIMPA J.G.; KURUNDKAR A.R.; HOLT D.W.; KELLY D.R.; HARTIMAN Y.E.; NEEL M.L.; KARNATAK R.K.; SCHELONKA R.L.; ANANTHARAMAIAH G.M.; KILLINGSWORTH C.R.; MAHESHWARI A. Plasma concentrations of inflammatory cytokines rise rapidly during ECMO-related SIRS due to the release of preformed stores in the intestine. *Laboratory Investigation*. 2010;90:128–39.

MORAES S.P.; ROVER P.A.; GEORGETTI F.C.D. Hazards of talc in surgical gloves. *Rev Cienc Med*. 1999;8(2):63-67.

MURDOCH H.; TAYLOR D.; DICKINSON J.; WALKER J.T.; PERRETT D.; RAVEN N.D.; SUTTON J.M. Surface decontamination of surgical instruments: An ongoing dilemma. *J. Hosp. Infect.* 2006;63:432-38.

OSHIMA H.; NAKAMURA M. A study on reference standard for cytotoxicity assay of biomaterials. *Biomed Mater Eng.* 1994;4:327-32.

OLSEN R.J.; LYNCH P.; COYLE M.B.; CUMMINGS J.; BOKETE T.; STAMM W.E. Examination gloves as barriers to hand contamination in clinical practice. *JAMA.* 1993;270(3):350-53.

OWNBY D.R. A history of látex allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002;110:27-32.

PATRICK D.R.; FINDON G.; MILLER T.E. Residual moisture determines the level of touch-contact-associated bacterial transfer following hand washing. *Epidemiol Infect.* 1997;119:319-25.

PIAZZA R.M.F.; MENEZES C.A . Fatores de virulência II: toxinas. In: Luiz Rachid Trabulsi, Flavio Altterthum. (Org.). *Microbiologia. Microbiologia.* 4ed. São Paulo: Atheneu, 2004, p. 149-156.

PINTO T.J.A.; KANEKO T.M.; OHARA M.T. Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. 2ª ed .São Paulo: Atheneu, 2003.

PINTO F.M.G.; SOUZA R.Q.; SILVA C.B.; MIMICA L.M.J.; GRAZIANO K.U. Analysis of the microbial load in instruments used in orthopedic surgeries. *American Journal of Infection Control.* 2010;38:229-33.

PITTET D.; MOUROUGA P.; PERNEGER T.V. Compliance with handwashing in a teaching hospital. *Ann Intern Med.* 1999;130:126-30.

PRICE P.B. New studies in surgical bacteriology and surgical technic – with special reference to disinfection of the skin. *Surgical Bacteriology.* 1938;111(22):1993-96.

RAMOTOWASKI R.S. Composition of Latent Print Residue Advances. In *Fingerprint Technology, Second Edition* Edited by Henry C . Lee and R . E . Gaensslen CRC Press 2001 Print ISBN: 978-0-8493-0923-6 eBook ISBN: 978-1-4200-4134-7 DOI: 10.1201/9781420041347.ch3.

REGO A.; ROLEY L. In-Use barrier integrity of gloves: Látex and nitrile superior to vinyl. *AJIC*. 1999;27:405-10.

ROCHA L.A.; BORGES L.F.A.; FILHO P.P.G. Changes in hands microbiota associated with skin damage because of hand hygiene procedures on the health care workers. *AJIC*. 2009;37:155-59.

RUTALA W.A.; WEBER D.J. FDA Labeling Requirements for Disinfection of Endoscopes:A Counterpoint. *ICHE*. 1995 Apr;16(4):231-35.

RUTALA W.A.; WEBER D.J. Reprocessing endoscopes: United States Perspective. *Journal of Hospital Infection*. 2004;56:S27–S39.

RUUTU M.; ALFTHAN O.; TALJA M.; ANDERSSON L.C. Cytotoxicity of latex urinary catheters. *Br. J. Urol*. 1985;57(1): 82-87.

SÁ A.B.; MALLOZI M.C. SOLE D. Alergia ao látex: atualização. *Rev. Brás. Alerg. Imunopatol*. 2010; 33(5):173-83.

SANTOS R.L.; PITHON M.M.; MARTINS F.O.; ROMANOS M.T.V.; RUELLAS A.C.O. Cytotoxicity of latex and non-latex orthodontic elastomeric ligatures on L929 mouse fibroblasts. *Braz. Dent. J*. 2010; 21(3): 205-10.

SANTOS-OLIVEIRA R. Validação do PTS™ (Portable Test System) para ensaio de endotoxina em radiofármacos (18-FDG). *Lat Am J Pharm*. 2009; 28(4):633-37.

SATTAR S.A.; SPRINGTHORPE S.; MANI S.; GALLANT M.; NAIR R.C.; SCOTT E.; KAIN J. Transfer of bactéria from fabrics to hands and other fabrics: development and aplication of a quantitative method using *Staphylococcus aureus* as a model. *J Appl Microbiol*. 2001;90:962-70.

SCOTT M. Saving the World One Glove at a Time. Disponível em: <http://www.businessweek.com/stories/2008-06-12/saving-the-world-one-glove-at-a-timebusinessweek-business-news-stock-market-and-financial-advice>. Data de acesso: 03/10/2014.

SCOTT T.A.; MERCER E.I. Concise Encyclopedia Biochemistry and Molecular Biology, Ed Walter De Gruyter, Berlim, 1997.

SEATON A.; CHERRIE B.; TURNBULL J. Rubber glove asthma. *BMJ*. 1988;296:531-32.

SMITH A.; LETTERS S.; LANGE A.; PERRET D.; MCHUGH S.; BAGG J. Residual protein levels on reprocessed dental instruments. *J Hosp Infect.* 2005;61:237-41.

SMITH G.W.G.; GOLDIE F.; LONG S.; LAPPIN D.F.; RAMAGE G.; SMITH A.J. Quantitative analyses of residual protein contamination of podiatry instruments reprocessed through local and central decontamination units. *Journal of Foot and Ankle Research.* 2011;4(2):1-7.

SOARES L.C.C.; RIBAS D.; SPRING R.; SILVA J.M.F.; MIYAGUE N.I. Perfil Clínico da Resposta Inflamatória Sistêmica após Cirurgia Cardíaca Pediátrica com Circulação Extracorpórea. *Arq Bras Cardiol.* 2010;94 (1):127-33.

SOBECC. Sociedade Brasileira de Enfermeiros de Centro Cirúrgico, Recuperação Pós-Anestésica e Centro de Material e Esterilização. Práticas recomendadas SOBECC. 2013.

SPRUNG CL.; SAKR Y.; VINCENT, J.L. An evaluation of systemic inflammatory response syndrome signs in the sepsis occurrence in acutely ill patients (SOAP) study. *Intensive Care Med.* 2006;32:421–27.

SUSSMAN G.L.; LISS, G.M.; DEAL K.; BROWN S.; CIVIDINO M.; SIU S.; BEEZHOLD D.H.; SMITH G.; SWANSON M.C.; YUNGINGER J.; DOUGLAS A.; HOLNESS D.L.; LEBERT P.; KEITH P.; WASERMAN S.; TURJANMAA K. Incidence of látex sensitization among látex glove users. *J Allergy Clin Immunol.* 1998; 101(2):171-78.

TAMASHIRO N.S.; SOUZA R.Q.; GONÇALVES C.R.; IKEDA T.I.; LUZ R.A.; CRUZ A.S.; PADOVEZE M.C.; GRAZIANO K.U. Cytotoxicity of cannulas for ophthalmic surgery after cleaning and sterilization: evaluation of the use of enzymatic detergent to remove residual ophthalmic viscosurgical device material. *J Cataract Refract Surg.* 2013 Jun;39(6):937-41.

TOSH P.K.; DISBOT M.; DUFFY J.M.; BOOM M.L.; HESELTINE G.; SRINIVASAN A.; GOULD C.V.; BERRIOS-TORRES S.I. Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* Surgical Site Infections after Arthroscopic Procedures: Texas, 2009. *ICHE.* 2011;32(12), 1179-86.

TRABULSI L.R.; ALTERTHUM F. Microbiologia. 5^a ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

TURJANMAA K. Incidence of immediate allergy to latex gloves in hospital personnel. *Contact Dermatitis*. 1987;17(5):270-75.

USP 30. United States Pharmacopeia. 32 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention. 2009.

USP 34. United States Pharmacopeia. 25 ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention. 2011.

VASSEY M.; BUDGE C.; POOLMAN T.; JONES P.; PERRET D.; NAYUNI N.; BENNETT P.; GROVES P.; SMITH A.; FULFOR D.; MARSH P.D.; WALKER J.T.; SUTTON J.M.; RAVEN N.D.H. A quantitative assessment of residual protein levels on dental instruments reprocessed by manual, ultrasonic and automated cleaning methods. *British Dental Journal*. 2011;210(9):418-19.

VESLEY D.; NORLIEN K.G.; NELSON B.; OTT B.; STREIFEL AJ. Significant factors in the disinfection and sterilization of flexible endoscopes. *AJIC*. 1992;20:291-300.

VINCENT J. Dear SIRS, I'm sorry to say that I don't like you. *Critical Care Medicine*. 1997 Feb; 25(2):372-74.

WANG J.; WANG X.; JIANG S.; LIN P.; ZHANG J.; LU Y.; WANG Q.; XIONG Z.; WU Y.; REN J.; YANG H. Cytotoxicity of fig fruit latex against human cancer cells. *Food Chem. Toxicol*. 2008;46(3):1025-33.

WHO. World Health Organization. WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care. 2009.

WHO. World Health Organization. Glove Use Information Leaflet. Disponível em:
http://www.who.int/gpsc/5may/Glove_Use_Information_Leaflet.pdf.
Data de acesso: 16/07/20.

Anexos

ANEXO I

São Paulo, 04 de abril de 2013.

Il^{ma}. S^{ra}.

Profa. Dra. Kazuko Uchikawa Graziano

Departamento de Enfermagem Médico Cirúrgica

Escola de Enfermagem

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

REFERENTE: **Projeto de Pesquisa** “Análise de resíduos em instrumentais preparados em diferentes condições de manipulação” – **Pesquisador(a) responsável:** Profa Dra Kazuko Uchikawa Graziano – **Pesquisador(a) executante:** Camila Quartim de Moraes Bruna - **Registro CEP-HU/USP:** 1264/13.

Prezada Professora

A Câmara de Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, em 04 de abril de 2013 analisou o projeto de pesquisa acima citado, considerando-o como **APROVADO**.

Solicitamos que ao final do trabalho seja apresentado a esta Câmara de Pesquisa, relatório final consubstanciado dos resultados e conclusões.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Paulo Andrade Lotufo
Presidente da Câmara de Pesquisa
Hospital Universitário - USP