UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Escola de Enfermagem

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA LIMPEZA E
DESINFECÇÃO DE ALTO NÍVEL NA REMOÇÃO DO
BIOFILME EM CANAIS DE ENDOSCÓPIOS**

ANA CRISTINA BALSAMO

SÃO PAULO
2009

ANA CRISTINA BALSAMO

**AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA LIMPEZA E
DESINFECÇÃO DE ALTO NÍVEL NA REMOÇÃO DO
BIOFILME EM CANAIS DE ENDOSCÓPIOS**

Tese apresentada à Escola de Enfermagem da
Universidade de São Paulo para a obtenção do título
de Doutor em Enfermagem.

Área de concentração: Enfermagem na Saúde do
Adulto

Orientadora: Profa. Dra. Kazuko Uchikawa Graziano

**SÃO PAULO
2009**

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

Balsamo, Ana Cristina.

Avaliação da eficácia da limpeza e desinfecção de alto nível na remoção do biofilme em canais de endoscópios. / Ana Cristina Balsamo. – São Paulo, 2009.

145p.

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

Orientadora: Prof^a Dr^a Kazuko Uchikawa Graziano.

1. Endoscopia (instrumentos) 2. Biofilmes 3. Desinfetantes
4. Equipamentos e provisões hospitalares. I. Título.

Ana Cristina Balsamo

Avaliação da eficácia da limpeza e desinfecção de alto nível na remoção do biofilme em canais de endoscópios

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Enfermagem

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: _____

Dedico este trabalho ao meu marido e a minha filha por terem compreendido a ausência freqüente, o cansaço e alguma irritabilidade.

A minha orientadora, pela confiança, paciência, ajuda e “saídas”, quando me sentia incapacitada em resolver as “pedrinhas” do caminho.

A o Departamento de Enfermagem do Hu-Usp, pela oportunidade e incentivo incondicional.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. René Piter Schneider, do Laboratório de Microbiologia Ambiental do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de São Paulo USP, pela oportunidade de aprendizado e pela contribuição incalculável e incondicional;

Ao Manoel Antunes Junior, pela ajuda inestimável e criatividade impressionante, buscando sempre a perfeição no desenvolvimento do trabalho.

Ao Liutas, pelo tempo disponível em me ensinar o método necessário para a realização de parte da pesquisa.

A toda equipe do Serviço de Endoscopia do Hospital Universitário da USP, que me recebeu com carinho e ofereceu toda ajuda possível e a estrutura física adequada, sem restrições;

À equipe da Central de Material e Esterilização do Hospital Universitário da USP pelo acolhimento e contribuição;

À Farmacêutica Lílían e toda a equipe do Serviço de Microbiologia do Hospital Universitário da USP pela orientação e apoio no trabalho em laboratório.

Ao Sr. Sérgio Pagotti da Empresa Comercial 3 Albe pela disponibilidade, interesse, ajuda incondicional e pela contribuição necessária para o avanço deste trabalho;

À Empresa Lifemed pelo carinho e por ter aceito participar desta pesquisa;

À Enfermeira Isa, Dra. Valeria e Dr. Fábio Franco da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do Hospital Universitário da USP, por entenderem minhas ausências;

Á Cristina, secretária da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar do Hospital Universitário da USP, pela prontidão em ajudar e pela correção do português;

Ao Sr. Izildo, Sr. Márcio e todos da Empresa Uniscope pelo interesse disponibilidade em ajudar, tanto tecnicamente quanto materialmente, a qualquer momento, de maneira carinhosa e acolhedora;

Ao Sr. Jaime e Sr. Mário da Empresa Montag que gentilmente forneceram o suporte técnico para adequar os canais nas máquinas processadoras, sem o qual seria impossível a realização de parte desta pesquisa;

Á Enfermeira Tânia Regina Sancinetti que esteve ao meu lado quando eu mais precisei;

Á Jane Maria Ribeiro do Prado pela disponibilidade em ajudar na formatação e correções finais do trabalho;

Á Flávia Moraes Araújo Pinto pelo carinho e pela valiosa ajuda na coleta de dados;

Ao Rafael Queiroz de Souza pela colaboração e gentileza;

Á todos que contribuíram para a realização desta pesquisa;

Balsamo AC. Avaliação da eficácia da limpeza e desinfecção de alto nível na remoção do biofilme em canais de endoscópios [tese]. São Paulo (SP): Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2009

RESUMO

Os endoscópios são equipamentos aprovados para serem reutilizados, apesar de apresentarem estrutura interna complexa, composta por canais longos com lúmens estreitos, o que permite a aderência de matéria orgânica e microrganismos, favorecendo assim a formação de biofilmes. Estes dificultam o processamento eficaz, representando um desafio no reuso desses equipamentos. A formação do biofilme é inevitável ao longo do processamento dos endoscópios e há grande dificuldade em removê-lo completamente. Em razão disso, pesquisas atuais apontam-no como possível responsável pela transmissão de infecções exógenas e efeitos adversos que se manifestam em pacientes submetidos a endoscopias gastrointestinais. Essa realidade tem trazido à tona a preocupação em erradicá-lo. Assim, este estudo teve como objetivos avaliar a ação da desinfecção de alto nível na remoção de biofilme após limpeza prévia com escovação em corpos amostrais, simulando os canais de endoscópios flexíveis e comparar os produtos comercialmente disponíveis no mercado nacional para a remoção do biofilme dos endoscópios. Trata-se de uma pesquisa experimental, laboratorial e comparativa. Foram utilizados tubos de revestimento interno de politetrafluoretileno (Teflon®) e a *Pseudomonas aeruginosa* como microrganismo teste, formadora de biofilme. Foi montado um modelo validado para o desenvolvimento do biofilme. Os corpos amostrais contaminados foram submetidos inicialmente ao processo manual de limpeza com detergente enzimático e escovação. Em seguida, os corpos amostrais foram submetidos a cinco métodos de desinfecção de alto nível, quais sejam: o ácido peracético com concentração de 0,09% a 0,15%, o sistema Steris®, o glutaraldeído a 2%, e a água eletrolítica ácida. Foram extraídos três segmentos, de aproximadamente três milímetros representando o início, meio e fim de cada corpo amostral e analisados com o auxílio da microscopia eletrônica de varredura quanto a presença de biofilme. Conclui-se que nenhum método testado removeu 100% dos biofilmes e que essa remoção depende da interação entre o método de limpeza e a desinfecção posterior. Verificou-se que o método que mais removeu fisicamente o biofilme foi o glutaraldeído a 2% em reprocessadora automática, provavelmente justificado pelo “double brushing”, uma vez que o equipamento tem uma fase de limpeza no início de seu ciclo. O método que se mostrou mais eficaz na remoção de biofilme e outros resíduos constituídos de bactérias isoladas e da matriz de exopolissacarídeos, foi sistema Steris®. O método que se mostrou menos eficaz na remoção do biofilme e outros resíduos foi a água eletrolítica ácida. Considerando que a água é uma fonte de biofilme, sugeriu-se utilizar filtros para a água do enxágüe e a rinsagem final dos canais com álcool. Apesar de tecnologias atualmente disponíveis para o processamento de canais dos endoscópios, nenhum dos métodos testados na presente investigação foi completamente eficaz para remover os biofilmes frente ao desafio imposto. Resta, portanto, recomendar que práticas baseadas em protocolos das sociedades sejam rigorosamente seguidas, apesar do tempo requerido para as boas práticas e optar, preferencialmente pelo processo automatizado, a fim de diminuir o erro humano.

PALAVRAS CHAVE: Endoscópio. Biofilme. Limpeza. Desinfecção. Enfermagem em Central de Material.

Balsamo AC. Evaluation of cleaning efficacy and high level disinfection when removing biofilm from endoscopes channels [thesis]. São Paulo (SP), Brasil: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2009

ABSTRACT

Endoscope is equipment approved to be reused in spite of its complex internal structure, consisting of long channels with narrowed lumens, allowing adherence of organic material and microorganisms, favoring formation of biofilm, making difficult an effective procedure, which is a challenge in the reuse of this equipment. The biofilm formation during endoscopic procedures is inevitable and it is very difficult to entirely remove it. Consequently, recent researches report it as the probable factor responsible by transmissions of exogenous infections and for the side effects found in patients submitted to gastrointestinal endoscopy procedures. This picture brought the concern to eradicate it. Thus, the objectives of this study were to evaluate the action of high level disinfection to remove biofilm after prior cleaning and brushing in body samples, simulating flexible endoscopic channels and to compare products commercially available in the national market to remove the biofilm from endoscopes. This is an experimental, laboratory and comparative research. Tubes of internal politetrafluorethylen (Teflon™) and the *Pseudomonas aeruginosa* as a test microorganism to form the biofilm. A validated model was designed to develop the biofilm. The contaminated body samples were initially submitted to manual cleaning process with enzymatic cleansing and brushing. Next, these bodies were submitted to five high-level disinfection methods, as follows: peracetic acid at 0.09% and 0.15% of concentration, Steris™ System, 2% glutaraldehyde and acid electrolytic water. Three segments were removed, measuring approximately three millimeters, representing the beginning, the middle and the end of each body sample. These segments were analyzed by means of screening electronic microscopy in relation to biofilm presence. It was concluded that no tested method removed 100% of biofilm and that this removal depends on the interaction between the cleaning method and later disinfection. It was observed that the most effective procedure to physically remove the biofilm was the 2% glutaraldehyde, in automatic reprocessing method, probably due to double brushing since the equipment had a cleaning phase at the beginning of the cycle. The most effective method to remove the biofilm and other residues of isolated bacteria and of exopolysaccharide matriz was the Steris™ System method. The less effective method to remove biofilm and other residues was the acid electrolytic water. Considering that water is the biofilm source, it was suggested to use filters for the water when cleansing and to rinse the channels with alcohol at the end. Regarding new technologies available for processing endoscope channels, none of the tested methods in the present investigation was totally effective to remove biofilm in face of the challenge presented. So, we may suggest that the good practices recommended by the several existing societies be strictly followed, in spite of the time needed for this process. Automated process is suggested as the best option to decrease human error.

KEYWORDS: Endoscopy. Biofilm. Cleaning. Disinfection. Nursing Central Supply.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cabeça do vídeo-endoscópio. http://www.msmedicalsistemas.com.br/endoscopia.htm	25
Figura 2. Vídeo-endoscópio. http://go.quebarato.com.br/classificados/endoscopia-vendas-e-assistencia-tecnica-multimarcas__1072079.html	25
Figura 3. Canais do endoscópio. Fonte: www.unc.edu/depts/spire/dis/endoscope.ppt	25
Figura 4. Adesão, colonização e crescimento do biofilme. As bactérias estão em laranja e o EPS do biofilme em amarelo. Harrison-Balestra et al., 2003.....	52
Figura 5. Análise dos elementos químicos do canal do endoscópio novo. Laboratório de Caracterização Tecnológica da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2009.....	65
Figura 6. Secador de Ponto crítico (“Critical PointDryer”).....	66
Figura 7. Microscópio Eletrônico de Varredura	66
Figura 8. Visualização e espessura do biofilme do canal de ar/água. Laboratório de Caracterização Tecnológica do Departamento de Engenharia de Minas e Energia da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2007.....	67
Figura 9. Composição química do canal de sucção/biópsia, marca Olympus®. São Paulo, HU-USP, 2009.....	68
Figura 10. Composição química do canal de sucção/biópsia, marca Pentax® São Paulo, HU-USP, 2009	69
Figura 11. Composição química do canal de sucção/biópsia, da marca Dupont® utilizado nos experimentos. São Paulo, HU-USP, 2009.....	69
Figura 12. Esquema dos métodos empregados para o processamento dos corpos amostrais contaminados com biofilme como desafio.....	70
Figura 13. Colorímetro	72
Figura 14. Coleta da Pseudomonas aeruginosa da placa de cultura	72
Figura 15. Faixa vermelha indicando a concentração do inóculo.....	72
Figura 16. Fotografia do modelo experimental utilizado para a formação do biofilme.....	73
Figura 17. Protótipo do endoscópio	77

Figura 18. Visualização do canal de sucção/biópsia.....	77
Figura 19. Segmento extraído do corpo amostral após o processamento	78
Figura 20. Visualização do biofilme formado como teste desafio para o processamento manual com ácido peracético de 0,09 a 0,15%	82
Figura 21. Visualização do biofilme formado como teste desafio para o processamento com o sistema Steris®.....	82
Figura 22. Visualização do biofilme formado como teste desafio para o processamento manual com glutaraldeído 2%	82
Figura 23. Visualização do biofilme formado como teste desafio para o processamento automatizado com glutaraldeído 2%.....	82
Figura 24. Visualização do biofilme formado como teste desafio para o processamento com a água eletrolítica ácida	83
Figura 25. Presença de biofilme nos diferentes segmentos extraídos dos 14 corpos amostrais após a limpeza manual e desinfecção manual com ácido peracético com concentração de 0,09% a 0,15%. São Paulo, HU-USP, 2009.....	84
Figura 26. Visualização do biofilme após a desinfecção com ácido peracético de 0,09% a 0,15%.	85
Figura 27. Visualização do segmento sem biofilme e resíduos após a desinfecção com ácido peracético de 0,09% a 0,15%.	85
Figura 28. Visualização do fragmento da camada de EPS após a desinfecção com ácido peracético de 0,09% a 0,15%.	85
Figura 29. Visualização de células bacterianas sem EPS após a desinfecção com ácido peracético de 0,09% a 0,15%.	85
Figura 30. Presença de biofilme nos diferentes segmentos extraídos dos 14 corpos amostrais após a limpeza manual e desinfecção automatizada com o sistema Steris® (concentrado esterilizante STERIS 20), São Paulo, HU-USP, 2009.....	86
Figura 31. Visualização do biofilme após a desinfecção com o sistema Steris®....	87
Figura 32. Visualização da superfície sem biofilme ou resíduos, após a desinfecção com o sistema Steris®.....	87
Figura 33. Visualização do fragmento de EPS após a desinfecção com o sistema Steris®	87
Figura 34. Presença de biofilme nos diferentes segmentos extraídos dos 14 corpos amostrais após a limpeza manual e desinfecção manual com glutaraldeído a 2%, São Paulo, HU-USP, 2008.....	88
Figura 35a. Visualização do biofilme após a desinfecção manual com glutaraldeído 2%.....	89

Figura 35b. Visualização do biofilme após a desinfecção manual com glutaraldeído 2%.....	89
Figura 36. Visualização do fragmento de EPS após a desinfecção manual com glutaraldeído 2%	89
Figura 37. Visualização da superfície sem biofilme ou resíduos, após a desinfecção manual com glutaraldeído 2%.....	89
Figura 38. Presença de biofilme nos diferentes segmentos extraídos dos 14 corpos amostrais após a limpeza manual e desinfecção automatizada com glutaraldeído a 2%, São Paulo, HU-USP, 2009.	90
Figura 39. Visualização do biofilme após a desinfecção automatizada com glutaraldeído 2%.....	91
Figura 40. Visualização do fragmento de EPS após a desinfecção automatizada com glutaraldeído 2%.....	91
Figura 41. Visualização de células bacterianas sem o EPS após a desinfecção automatizada com glutaraldeído 2%	91
Figura 42. Visualização da superfície sem biofilme ou resíduos após a desinfecção automatizada com glutaraldeído 2%	91
Figura 43. Presença de biofilme nos diferentes segmentos extraídos dos corpos amostrais após a limpeza manual e desinfecção automatizada com água eletrolítica ácida. São Paulo, HU-USP, 2009.	93
Figura 44a. Visualização do biofilme após a desinfecção com água eletrolítica ácida.....	95
Figura 44b. Visualização do biofilme após a desinfecção com água eletrolítica ácida.....	95
Figura 45a. Visualização de células bacterianas após a desinfecção com água eletrolítica ácida.....	95
Figura 45b. Visualização de células bacterianas após a desinfecção com água eletrolítica ácida.....	95
Figura 46a. Visualização do fragmento de EPS após a desinfecção com água eletrolítica ácida.....	95
Figura 46b. Visualização do fragmento de EPS após a desinfecção com água eletrolítica ácida.....	95
Figura 47. Visualização da camada de EPS após a desinfecção com água eletrolítica ácida.....	97
Figura 48. Visualização de células bacterianas sem a camada de EPS	97
Figura 49. Distribuição da frequência dos diferentes segmentos extraídos dos corpos amostrais quanto à presença de biofilme e outros resíduos	

entre os cinco métodos de desinfecção. São Paulo, HU-USP, 2009.	98
--	----

Figura 50. Visualização do biofilme formado em 1 hora. (aumento de 10.000 vezes).....	112
---	-----

Figura 51. Visualização do biofilme formado em 1 hora. (aumento de 20.000 vezes).....	112
---	-----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Distribuição da frequência da presença de biofilme após a limpeza manual e desinfecção manual com ácido peracético com concentração de 0,09% a 0,15%. São Paulo, HU-USP, 2009.....	84
Tabela 2. Distribuição da frequência da presença de biofilme após a limpeza manual e desinfecção automatizada com o sistema Steris® (concentrado esterilizante de ácido peracético), São Paulo, HU-USP, 2009.	86
Tabela 3. Distribuição da frequência da presença de biofilme após a limpeza manual e desinfecção manual com glutaraldeído a 2%, São Paulo, HU-USP, 2009.	88
Tabela 4. Distribuição da frequência da presença de biofilme após a limpeza manual e desinfecção automatizada com glutaraldeído a 2%. São Paulo, HU-USP, 2009.	90
Tabela 5. Distribuição da frequência da presença de biofilme após a limpeza manual e desinfecção automatizada com água eletrolítica ácida. São Paulo, HU-USP, 2009.....	93
Tabela 6. Distribuição da frequência da presença de biofilme e outros resíduos, após a limpeza manual e desinfecção com os diferentes métodos. São Paulo, HU-USP, 2009.	97

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Distribuição da presença de biofilme nos diferentes segmentos dos respectivos 14 corpos amostrais submetidos à desinfecção automatizada com glutaraldeído a 2%. São Paulo, HU-USP, 2009.....	92
Quadro 2. Distribuição da presença de biofilme nos diferentes segmentos dos 14 corpos amostrais submetidos à desinfecção com água eletrolítica ácida. São Paulo, HU-USP, 2009.	94
Quadro 3. Distribuição da presença de biofilme nos diferentes segmentos dos corpos amostrais submetidos à desinfecção automatizada com glutaraldeído a 2% e com água eletrolítica ácida, segundo a localização do segmento. São Paulo, HU-USP, 2009.	96
Quadro 4. Tipos de processamentos realizados nos países da Europa. São Paulo, HU-USP, 2009.	115

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice A - Fotografia de materiais utilizados na elaboração do sistema experimental para a formação do biofilme	140
Apêndice B - Fotografia da escova utilizada na etapa de limpeza e do protótipo do endoscópio utilizado nas processadoras automáticas.....	141

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1 - Critérios de aceitação para validação da autoclave a vapor.....	143
Anexo 2 - Documento de aprovação da validação térmica da autoclave a vapor	144
Anexo 3 - Carta de aprovação da câmara de pesquisa	145

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	23
2.1 A ENDOSCOPIA E O ENDOSCÓPIO FLEXÍVEL	24
2.2 INFECÇÕES RELACIONADAS AOS ENDOSCÓPIOS FLEXÍVEIS.....	27
2.3 PROCESSAMENTO DOS ENDOSCÓPIOS FLEXÍVEIS	34
2.3.1 Limpeza	34
2.3.2 Desinfecção de alto nível	39
2.3.3 Enxágüe, secagem e estocagem	48
2.4 BIOFILME	50
2.5 PROCESSAMENTO DE ENDOSCÓPIOS FLEXÍVEIS: RECOMENDAÇÕES DAS SOCIEDADES CIENTÍFICAS INTERNACIONAIS, NACIONAL E A LITERATURA RECENTE.....	56
3. OBJETIVOS.....	61
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	63
4.1 TIPO DE PESQUISA	64
4.2 LOCAL.....	64
4.3 VALIDAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA EM CANAIS DE ENDOSCÓPIO	64
4.4 MATERIAL.....	67
4.4.1 Cálculo do tamanho da amostra	70
4.5 PROCEDIMENTO PARA A COLETA DE DADOS	71
4.5.1 Inóculo	71
4.5.2 Formação do biofilme nos corpos amostrais.....	73
4.5.3 Processamento dos corpos amostrais	75
4.5.4 Métodos e produtos químicos utilizados para a limpeza e desinfecção dos corpos amostrais.....	78
4.6 APRESENTAÇÃO E TRATAMENTO DOS DADOS.....	80

5. RESULTADOS	81
6. DISCUSSÃO.....	100
7. CONCLUSÕES.....	121
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	124
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	128
APÊNDICES	139
ANEXOS.....	142

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, surgem novas discussões e legislações sobre a proibição de reprocessar materiais odonto-médico-hospitalares, especificados como de uso único. Essas discussões contribuíram para um repensar (uma reflexão) sobre as práticas atuais de processamento dos equipamentos classificados como reutilizáveis, assim denominados por estarem autorizados a usos múltiplos em diferentes pacientes.

Os endoscópios são equipamentos aprovados para serem reutilizados, apesar de apresentarem estrutura interna complexa, composta por canais com lúmens estreitos, longos e válvulas, o que permite a aderência de matéria orgânica e microrganismos favorecendo assim a formação de biofilmes. Estes, por sua vez, dificultam o processamento eficaz, representando um desafio no reuso. Essa constatação aumenta a responsabilidade dos serviços em realizar um processamento seguro e com qualidade.

Ao submeter os endoscópios gastrointestinais aos critérios de avaliação das dificuldades na limpeza de materiais, propostos por Graziano e seus colaboradores (2006), verifica-se que são equipamentos de alta pontuação de risco, pois não são desmontáveis e nem transparentes, o que dificulta a visualização interna do equipamento e, assim, há comprometimento na avaliação do processo de limpeza. Como a estrutura interna permite acúmulo de matéria orgânica onde a fricção direta com escova nem sempre é possível, pode ocorrer dificuldade em remover a matéria orgânica do seu interior. Nesse contexto, os endoscópios podem ser classificados como materiais que apresentam grande desafio no processamento. Entretanto, permitem a entrada e saída de água, o uso de artefatos para limpeza interna e podem ser imersos em solução detergente, o que facilita a limpeza.

Adicionalmente, há que se considerar que os endoscópios são equipamentos utilizados em serviços especializados com alta demanda de exames e, por serem de alto custo, o inventário geralmente é restrito. A endoscopia é um procedimento rápido com duração média de 30 minutos e esses fatos parecem contribuir para reduzir o tempo requerido para o

processamento entre os exames, podendo acarretar prejuízos, tanto na fase da limpeza quanto na da desinfecção/esterilização.

Alfa, Olson e DeGagne (2006) realizaram um estudo para comparar a eficácia da fase de limpeza entre uma lavadora automatizada, e a limpeza realizada manualmente, seguindo o protocolo estabelecido pelo guia nacional do Canadá, e recomendações do fabricante. Na primeira etapa, realizaram observação direta, em campo, do tempo utilizado para limpeza manual de endoscópios executada pelos profissionais, em uma clínica do Canadá, num período de três dias. Verificaram que esse tempo variou de cinco minutos e quatorze segundos para limpar os gastroscópios e de seis minutos e trinta e cinco segundos para os duodenoscópios, enquanto que em seu laboratório foram gastos de quatorze minutos a 25 minutos, dependendo do tipo de endoscópio a ser limpo, chegando a 25 minutos para limpar um duodenoscópio executando-se todas as etapas recomendadas pelo protocolo. Ressaltam que a limpeza manual na sua pesquisa foi realizada pela mesma pessoa.

Por serem termosensíveis, os endoscópios gastrointestinais são submetidos a processos de desinfecção geralmente com produtos químicos; caso haja falhas nesse processo pode ocorrer transmissão cruzada de microrganismos entre um paciente e outro (HOLTON, 2004). Há dificuldade em relacionar a infecção com os procedimentos endoscópios gastrointestinais, pois os pacientes são, geralmente, ambulatoriais, o que dificulta o acompanhamento pós-procedimento.

Alguns serviços no Brasil, que executam os exames endoscópios para diagnóstico de doenças, não estão inseridos em instituições de saúde e conseqüentemente nem sempre se submetem às práticas para o processamento do equipamento e à supervisão das Comissões de Controle de Infecção Hospitalar.

Até 1983, os endoscópios não podiam ser totalmente imersos em solução durante o procedimento de limpeza e desinfecção e eram lavados com água da torneira e detergente, seguidos pela rinsagem com o álcool (NELSON, 2003).

Em 1993, Spach e seus colaboradores realizaram uma revisão da literatura sobre a transmissão de infecção durante endoscopia gastrointestinal e broncoscopia, no período de 1966 a julho de 1992, e encontraram 281 casos após a endoscopia gastrointestinal e 96 após broncoscopia, sendo que 253 ocorreram antes de 1988. Os agentes causais foram, principalmente, a *Salmonella species* e a *Pseudomonas aeruginosa* e os principais motivos da transmissão de microrganismos foram inadequações nos procedimentos de limpeza e desinfecção. Nesse mesmo ano (1993), a Sociedade Britânica de Gastroenterologia (BSG), a Sociedade Americana de Endoscopia Gastrointestinal (ASGE), a Associação Americana de Gastroenterologia e o Colégio Americano de Gastroenterologia publicaram guias para o processamento de endoscópios gastrointestinais, recomendando minuciosa limpeza manual de todos os canais, desinfecção de alto nível com um esterilizante químico aprovado pelo órgão competente, com tempo de contato padronizado, enxágüe com água para remoção de resíduos do produto químico e secagem com ar comprimido.

Kimmery e seus colaboradores (1993), membros do comitê da Sociedade Americana para Endoscopia Gastrointestinal, descrevem que de 1988 a 1992, aproximadamente, 40 milhões de endoscopias gastrointestinais foram realizadas o que proporciona uma estimativa de incidência de infecção em torno de 1 caso a cada 1,8 milhões de procedimentos. Citam como causas da ocorrência de infecções, a limpeza inadequada, o que leva ao acúmulo de sujeira nas juntas, articulações e fendas; contaminação das garrafas de água e soluções para irrigação dos canais; uso inadequado das máquinas lavadoras desinfetadoras; uso de soluções desinfetantes não padronizadas e inadequada secagem dos canais dos endoscópios antes da estocagem. Daí em diante, outras sociedades publicaram guias uniformemente consistentes, apesar de haver pequenas diferenças no tempo de contato com o desinfetante.

As pesquisas mais atuais discutem que a transmissão de microrganismos ou efeitos adversos que ocorrem em pacientes submetidos a endoscopias gastrointestinais pode ser devido à formação biofilmes, pois as recomendações para limpeza e desinfecção dos endoscópios

gastrointestinais já estão bem estabelecidas por diversas sociedades e contemplam todas as etapas necessárias. (BISSET et al., 2006; OBEE et al., 2005; PAJKOS, VICKERY, e COSSART, 2004; BLOB et al., 2004; ALFA e NEMES, 2003; ZUHLSDORF et al., 2002). Mesmo assim, os autores afirmam que a transmissão cruzada de bactérias e vírus por meio dos endoscópios gastrointestinais pode ocorrer e, para tanto, propõem a realização de estudos que avaliem a adesão a protocolos de limpeza e desinfecção, elaboração de métodos que permitam o monitoramento do processamento e testes que verifiquem a eficácia dos detergentes.

Vickery, Pajkos e Cossart (2004) afirmam que não há método para determinar a possibilidade de os canais de endoscópio estarem isentos de sujidade antes do processo de desinfecção, o que pode comprometer essa última etapa, resultando em transmissão de microrganismos pelo endoscópio. Afirmam que a eficácia dos produtos de limpeza têm sido avaliadas contra sujidades secas sobre as superfícies e não frente a biofilmes, os quais são mais difíceis de remover.

Nesse sentido, há a necessidade de repensar e rever as práticas atuais de processamento estabelecidas para os materiais reutilizáveis, principalmente aqueles com conformação interna complexa, compostos por lúmens com calibres estreitos, difíceis de limpar e visualizar, como é o caso dos endoscópios gastrointestinais.

Considerando que as causas atuais de infecções exógenas relacionadas a endoscópios gastrointestinais rumam em direção à preocupação em erradicar os biofilmes que se formam nos materiais odontomédico-hospitalares e, considerando-se que a formação de biofilmes é inevitável ao longo do processamento dos endoscópios, mesmo seguindo um protocolo padrão recomendado pelas sociedades da especialidade, pergunta-se: qual dos métodos e tecnologias mencionados na literatura e disponíveis no Brasil é o mais eficaz na remoção do biofilme?

Para responder a essa questão propõe-se neste estudo avaliar a remoção do biofilme formado em laboratório como desafio, realizando combinações do detergente enzimático com os desinfetantes atualmente

disponíveis no mercado nacional, como o glutaraldeído a 2%, a água eletrolítica ácida e o ácido peracético.

Esta pesquisa pretende verificar o efeito do detergente enzimático e os desinfetantes na remoção do biofilme e, conseqüentemente, da carga microbiana de endoscópios digestivos, a fim de contribuir para a segurança no processamento desses equipamentos.

O processamento dos endoscópios é uma prática diária em vários serviços de diferentes países e, mesmo na ocorrência de contaminação desafio, se a limpeza e a desinfecção forem executadas de maneira cuidadosa, os resultados certamente serão alcançados.

A contribuição desta pesquisa é desvendar até onde é possível eliminar os biofilmes em canais de endoscópios, com os recursos atualmente disponíveis para a limpeza e desinfecção de alto nível.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A ENDOSCOPIA E O ENDOSCÓPIO FLEXÍVEL

A endoscopia é um método de investigação de doenças em que se utiliza um equipamento denominado endoscópio, o qual permite a visualização do interior dos órgãos e espaços corporais, através de cavidades naturais do corpo humano, a fim de diagnosticar ou tratar alguma enfermidade. Os endoscópios podem ser rígidos ou flexíveis e apresentam estruturas internas complexas, compostas por vários canais longos de calibre estreito, válvulas e engates (ALVARADO e REICHELDERFER, 2000; REICHERT e SCHULTZ, 2001).

Os endoscópios que entram em contato com tecido estéril, sistema vascular ou cavidades estéreis são qualificados como críticos e, portanto, devem ser submetidos à esterilização. Aqueles que entram em contato com mucosa são denominados de semi-críticos e devem ser submetidos, no mínimo, à desinfecção de alto nível (SPAULDING, 1968). Este estudo foi direcionado aos canais de endoscópios considerados como semi-críticos.

Os endoscópios de fibra óptica do trato gastrointestinal foram desenvolvidos na década de 50 e, mais recentemente, surgiram os vídeo-endoscópios, que contêm um componente eletrônico miniaturizado (*“chip”*), com a finalidade de transmitir dados para um computador acoplado a um vídeo monitor. Esse vídeo-endoscópio consiste de uma “cabeça” com controles (botões de comandos) e uma haste flexível (tubo de inserção), com ponta manobrável. Na outra extremidade do endoscópio estão presentes o conector, a fonte de luz e o vídeo que serão conectados no videoprocessador (Figura 1 e 2).

A “cabeça” do vídeo endoscópio contém botões de controle para realizar sucção de líquidos e introdução de ar e água. O ar é utilizado para distender o órgão a ser examinado e jatos de água permitem limpar a lente distal do endoscópio (ALVARADO e REICHELDERFER, 2000).

Figura 1. Cabeça do vídeo-endoscópio.
<http://www.msmedicalsistemas.com.br/endoscopia.htm>

Figura 2. Vídeo-endoscópio.
http://go.quebarato.com.br/classificados/endoscopia-vendas-e-assistencia-tecnica-multimarcas__1072079.html

O tubo de inserção é composto por três conjuntos de lúmens: um para as fibras óticas para condução da imagem e luz, um para sucção/biópsia e um para injeção de ar/água (Figura 3). O canal de sucção/biópsia ou canal de trabalho tem diâmetro mais largo que varia de dois a quatro milímetros e permite a passagem de acessórios. O canal de ar/água é único, tem diâmetro de um milímetro e possibilita tanto a injeção de ar para obter a distensão do órgão quanto a injeção de água para limpeza das lentes (COSTA, 2000).

Figura 3. Canais do endoscópio. Fonte: www.unc.edu/depts/spire/dis/endoscope.ppt

Há múltiplos endoscópios que foram idealizados para uma variedade de intervenções, como o broncoscópio, colonoscópio, gastroscópio, duodenoscópio, cistoscópio, entre outros. Essa tecnologia trouxe muitos benefícios e, simultaneamente, novos riscos potenciais de transmissão de infecção.

Para Tytgat (2006), a endoscopia digestiva deve ocorrer sem riscos para o paciente quanto à transmissão de microrganismos ou eventos adversos resultantes da presença de substâncias químicas residuais utilizadas no processo de limpeza/desinfecção. Entretanto, o autor refere que o risco de transmissão de infecção é baixo se forem seguidos protocolos estabelecidos para o processamento do material, provenientes das sociedades de endoscopia (nacional e internacionais). Relata que a possibilidade de transmissão de infecção é devida a erros nas etapas do processamento do endoscópio, como falhas na limpeza ou na irrigação dos canais, falha na esterilização dos acessórios ou uso inadequado dos desinfetantes.

Segundo Allison e colaboradores (2008), todo paciente deve ser considerado potencialmente de risco para transmissão de infecção e, por isso, cada endoscópio deve ser reprocessado com o mesmo rigor após cada procedimento. Estimar o risco de infecção é difícil, pois complicações tais como septicemia após colangiopancreatografia podem ser devidas à fonte endógena ou o início da complicação infecciosa pode ser tardio, quando o paciente já retornou para sua residência.

Cabe ressaltar que a resolução RDC nº. 343, de 13 de dezembro de 2002, que dispõe sobre o regulamento técnico para os procedimentos hemoterápicos estabeleceu, no anexo II, que as pessoas submetidas ao exame endoscópico estavam inaptas a doar sangue por um período de 12 meses após o procedimento (BRASIL, 2002). Pode-se inferir dessa recomendação, a preocupação da transmissão de microrganismos com tempo de incubação prolongado, colocando em dúvida o processamento dos serviços especializados. Em 2004, essa RDC foi revogada e substituída pela atual RDC no. 153, de 13 de junho, que retirou a endoscopia da lista de causas de inaptidão para a doação de sangue (BRASIL, 2004).

2.2 INFECÇÕES RELACIONADAS AOS ENDOSCÓPIOS FLEXÍVEIS

Desde o advento dos endoscópios totalmente imersíveis e, portanto, passíveis de serem submetidos a desinfetantes denominados de alto nível, a incidência de infecção cruzada diminuiu, quando comparada com o ocorrido nas décadas de 70 e 80, em que foram utilizados desinfetantes considerados inapropriados (HOLTON, 2004).

Entretanto, Leung, Vallero e Wilson (2003) descrevem que pesquisas realizadas pelo Centro de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos da América (CDC – USA) encontraram mais de 270.000 infecções transmitidas anualmente pelos endoscópios flexíveis. Relatam que se houver equipe bem treinada e rigorosa adesão aos protocolos de limpeza e desinfecção, a possibilidade de transmissão de microrganismos será baixa.

Já Greenwald (2007) argumenta que 35 casos de transmissão de infecção provavelmente causados por endoscópios, foram relatados nos Estados Unidos da América entre 1994 e 2003. Considerando-se que aproximadamente 150 a 300 milhões de procedimentos endoscópicos tenham sido realizados no mesmo período, a taxa de transmissão de infecção pode ser de 1 em 6 milhões de procedimentos. Ressalta que todos os exemplos de transmissão de infecção têm sido associados a quebras nos protocolos de processamento ou defeitos dos equipamentos.

No Brasil, um estudo nacional realizado em 39 hospitais do município de São Paulo, em 1996, demonstrou que o processamento de endoscópios não era uniforme e 30,8% desses hospitais relataram utilizar o álcool a 70% para a desinfecção dos endoscópios. Esses dados foram obtidos por meio de um questionário enviado a hospitais públicos, privados e filantrópicos, mostrando que o processamento dos endoscópios era inadequado em 38 dos 39 hospitais que responderam a ele (COSTA 1996).

Machado e seus colaboradores (2006) realizaram um estudo para verificar o grau de contaminação de endoscópios em dois momentos: após o

uso no paciente, e depois do processo de limpeza e desinfecção, em dois hospitais, de dois estados do Brasil, no período de 2000 a 2003. Após o uso no paciente, foi isolada uma carga microbiana que variou de 10^3 a 10^6 unidades formadoras de colônias por mililitro (UFC/mL) e, após o processo de limpeza com detergente enzimático e desinfecção com glutaraldeído a 2%, 48,32% das amostras coletadas dos endoscópios apresentaram crescimento microbiano acima de 10^3 UFC/mL.

Nelson (2003), com o propósito de verificar a evidência de casos documentados de transmissão de infecção relacionada à endoscopia gastrointestinal, realizou uma revisão sistemática da literatura médica e da base de dados do *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos da América (FDA-USA), no período de 1966 a 2002, e encontrou 35 casos relatados de transmissão de infecção durante endoscopia gastrointestinal ocorridos na última década, mas não foi possível acessar os protocolos de processamento que foram utilizados e o grau de adesão a esses protocolos. Ele encontrou estudos, principalmente da década de 70 e 80, que relataram transmissão de bactérias, como *Salmonella species*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Helicobacter pylori*. Esse mesmo autor descreve que os casos de transmissão cruzada de *Pseudomonas aeruginosa* e *Helicobacter pylori* também ocorreram em estudos da década de 90 e em relatos mais atuais, entretanto, com menor número de publicações quando comparados às décadas anteriores. Cita dois estudos que documentaram a transmissão de várias cepas de enterobactérias durante colangiopancreatografia retrógrada, como *Escherichia coli*, *Enterobacter* e *Serratia marcescens*. Refere que não há estudos publicados sobre a transmissão de *Salmonella species* a partir de 1988, época em que foram estabelecidas as recomendações para limpeza e desinfecção de endoscópios pelas várias sociedades especializadas. Por outro lado, afirma que a transmissão de *Pseudomonas aeruginosa* ainda representa um desafio ao processamento dos endoscópios.

No estudo analisado por Nelson (2003), os autores elencaram como causas mais freqüentes de transmissão de microrganismos a não adesão a todas as etapas do processamento e o inadequado tempo de exposição do endoscópio ao desinfetante. Por ser um processo com

múltiplas etapas, o processamento é suscetível a inúmeros erros, quer seja no método manual ou no automatizado.

Quanto aos vírus, ele verificou que oito estudos descrevem a ocorrência de transmissão do vírus da hepatite C. No entanto, em apenas três deles a genotipagem foi realizada, confirmando essa correlação. Essas pesquisas foram quase todas publicadas na década de 90 e os estudos epidemiológicos têm sugerido uma associação entre endoscopia gastrointestinal e infecção pelo vírus da hepatite C em vários países, mas sem conseguir estabelecer uma forte correlação entre a infecção e o procedimento.

Ainda, nesse levantamento bibliográfico, o autor citado encontrou cinco estudos que descrevem a transmissão do vírus da hepatite B, na década de 80 e 90, atribuída a falhas na desinfecção do equipamento entre os pacientes, ao uso inadequado do desinfetante e à falha na limpeza de todos os canais do endoscópio. Contudo, Meyer (2006) afirma que apenas um caso de transmissão desse vírus foi comprovado e não há publicação de casos de transmissão do vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) por endoscópios.

Há na literatura uma preocupação especial com a transmissão de microrganismos que têm como característica um prolongado período de incubação, como os vírus das hepatites B e C e o HIV. Entretanto, em revisão de literatura a ocorrência de transmissão cruzada desses patógenos é muito baixa ou inexistente (VANHEMS et al., 2006, CIANCIO et al., 2005; SANTOS et al., 2004, ISHINO et al., 2004 e CHANZY et al., 1999). Talvez a dificuldade do seguimento pós-procedimento seja a responsável pela subnotificação de ocorrências.

Segundo Costa e Leite (2003), um dos fatores de risco que pode contribuir para infecção relacionada à endoscopia é a baixa imunidade dos pacientes, tornando-os suscetíveis a eventos adversos. Tytgat (2006) destaca que pacientes com síndrome de imunodeficiência adquirida, neutropenia grave, uso de quimioterapia e portadores de válvulas cardíacas artificiais compõem a lista dos mais suscetíveis à infecção cruzada relacionada à endoscopia digestiva.

Contudo, Nelson (2003) não registra relatos de transmissão do vírus da imunodeficiência humana adquirida (HIV), bem como do coronavírus (SARS) e o vírus influenza A (H5N1) pelos endoscópios gastrointestinais.

A base de dados fornecida pelo *FDA-USA* e analisada por Nelson (2003), trata de relatos de casos de transmissão de infecção ou eventos adversos, proveniente do uso dos endoscópios gastrointestinais, que são registrados em programas de computador, tanto pelos usuários, quanto pelos fabricantes de endoscópios. Assim, a revisão dessa base de dados permitiu um acréscimo de 12 casos de possível transmissão de infecção, mas que não foram publicados em periódicos científicos. Esses relatos descrevem casos de septicemia por *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella*, um possível caso de transmissão de *Clostridium difficile* e em outros cinco pacientes não foi identificado o microrganismo envolvido. Citam como causas: a contaminação da lavadora processadora, contaminação do recipiente de água e falha na desinfecção do canal elevador do duodenoscópio.

Nelson (2003) conclui que, embora as recomendações para processamento pareçam estar adequadas, elas necessitam de revisão contínua, pois a adesão a todas as etapas não é uniforme e esforços devem ser direcionados à meta de adesão universal.

Em 2006, Nelson e Muscarella realizaram uma nova revisão da literatura com o objetivo de verificar as evidências da transmissão de infecção durante endoscopia gastrointestinal, os fatores relacionados ao processamento dos endoscópios, as etapas que necessitariam ser aperfeiçoadas e os recentes desenvolvimentos e avanços no campo. Nessa revisão, citam os artigos já descritos por Nelson em 2003 e acrescentam outros publicados de 2003 a 2006. Concluem que a transmissão de infecção está associada a partes específicas ou violação de, no mínimo, uma das várias etapas do processamento dos endoscópios. Ressaltam a ocorrência da transmissão de bactéria Gram negativa do ambiente para o paciente durante colangiopancreatografia retrógrada e comentam que esse exame é provavelmente mais vulnerável à infecção bacteriana devido, em parte, à

anatomia, fisiologia e natureza estéril do trato biliar e ao canal elevador do duodenoscópio, que é de difícil limpeza.

Os autores dessa revisão encontraram como causa da transmissão do microrganismo a água de enxágüe usada durante o processamento. Afirmaram que a etapa de secagem e estocagem do endoscópio na prevenção de transmissão de infecção é, algumas vezes, negligenciada, conforme publicações que indicam que nem todas as unidades realizadoras de endoscopia secam o endoscópio após o enxágüe e antes do reuso ou estocagem. Nelson e Muscarella (2006) esclarecem que a água do enxágüe não removida durante a secagem e que permanece nos canais internos do endoscópio, entre os procedimentos nos pacientes ou durante a estocagem, propicia um ambiente úmido, ideal para a colonização e multiplicação de microrganismos transportados pela água, podendo ocasionar alguns surtos.

Em muitos serviços, não se conhece a qualidade microbiológica da água de enxágüe, entretanto, a importância de monitorar essa água não está muito bem estabelecida na literatura. Existe o risco da água de enxágüe conter microrganismos capazes de recontaminar o endoscópio, comprometendo a eficácia do processamento e invalidando a desinfecção. As organizações de profissionais e as agências governamentais devem ser encorajadas a desenvolver padrões que estabeleçam o nível permitido de bactéria e endotoxina na água de enxágüe, para minimizar o risco de infecção durante a endoscopia. (NELSON e MUSCARELLA 2006).

Em recente publicação do guia do comitê da Sociedade Americana para Endoscopia Gastrointestinal (BANERJEE et al., 2008), os autores descrevem que o microrganismo causador da infecção relacionada ao endoscópio pode ser transmitido entre pacientes por equipamentos contaminados (infecção exógena) ou do trato gastrointestinal para órgãos suscetíveis ou próteses por meio da corrente sanguínea. Esses autores citam, também, que os microrganismos podem se disseminar para tecidos adjacentes devido a lesões provenientes do próprio procedimento endoscópico (infecção endógena). De acordo com os autores desse guia, quando infecções bacterianas são transmitidas aos pacientes geralmente

são reconhecidas, porque o período de incubação é freqüentemente curto e os pacientes desenvolvem sintomas clínicos evidentes. Ressaltam que a maioria das publicações de transmissão de infecção bacteriana foi publicada antes de 2003, abrangendo os seguintes microrganismos: *Salmonella sp*, *Pseudomonas sp*, *Escherichia coli*, *Helocobacter pylori*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* e *Staphylococcus*. Citam que não há registro de transmissão de mycobactéria e esporos de *Clostridium difficile* por endoscópios gastrointestinais publicados até o momento. Esse fato demonstra que o processamento estabelecido pelos guias atuais mostra estar adequado na erradicação desses últimos microrganismos (BANERJEE et al., 2008). Entretanto, como descrito anteriormente, há um relato de possível transmissão de *Clostridium difficile* que foi enviado para a base de dados do FDA – USA, mas não publicado.

Banerjee e seus colaboradores (2008), esclarecem que a documentação de transmissão de infecções virais através dos endoscópios gastrointestinais é mais difícil porque elas têm um período de incubação elevado e os pacientes podem permanecer assintomáticos. Nesse guia destacam a publicação de Bronowicki e colaboradores (1997), que relataram a transmissão de hepatite C de um paciente para outros dois subseqüentes, após colonoscopia, onde foi utilizado o mesmo equipamento, elencando como possíveis causas de transmissão do microrganismo a falha na limpeza mecânica do canal do endoscópio, antes da desinfecção e a falha na esterilização da pinça de fórcepe. Os autores descrevem que suspeitaram que a transmissão desse vírus ocorreu, mais provavelmente, na utilização de medicamento multidoses e seringas contaminadas do que do próprio colonoscópio. Citam, ainda, um estudo multicêntrico, do tipo coorte, prospectivo, com seguimento de 8260 pacientes, publicado em 2005, e outro do tipo coorte, prospectivo com 859 pacientes, publicado em 2007, que não mostraram transmissão do vírus da hepatite C através dos endoscópios gastrointestinais.

Seoane-Vazquez e colaboradores (2007), realizaram uma revisão sistemática da literatura científica, publicada entre 1966 e 2004, e do banco de dados do FDA-USA, sobre infecções relacionadas aos endoscópios e

encontraram um total de 140 surtos publicados em 134 artigos e cartas. Desses, 69 (49,3%) ocorreram nos Estados Unidos da América e 71 (50,7%) aconteceram em outros 19 países, incluindo uma publicação do Brasil, datada de 2003, sobre uma pseudoinfecção (quando o paciente não desenvolveu sintomas clínicos) devido a um broncoscópio cujas causas de contaminação foram uma prática inadequada na etapa da desinfecção e a contaminação da água. Os agentes identificados foram a *Pseudomonas aeruginosa* e a *Serratia marcescens*; o surto durou 670 dias, com 324 pacientes expostos e 41 contaminados.

Os autores estabeleceram um protocolo para a coleta dos dados no qual constava o tipo de endoscópio utilizado, o país, o tipo de contaminação, ou seja, se infecção, pseudoinfecção ou reação tóxica, causa da contaminação, número de pacientes expostos e contaminados, resultados, entre outros dados. Esse estudo evidenciou as ocorrências relacionadas aos endoscópios, publicadas no mundo, em língua inglesa, apresentando um panorama geral sobre os riscos e que elas só não são identificadas pela falta de um sistema de vigilância adequado que permita mostrá-las.

Nessa revisão sistemática, os autores ilustram, em uma Tabela, a distribuição das ocorrências por tipo de endoscópio. Destacam-se nos dados apresentados, a presença do endoscópio gastrointestinal (incluindo a colangiopancreatografia retrógrada endoscópica e endoscópios do trato gastrointestinal alto e baixo), que foram utilizados em 78 dos 140 surtos, ocorrendo 48 casos de infecção, cinco casos de pseudoinfecção e 25 casos de reações tóxicas. As bactérias foram as responsáveis pela maioria das infecções e pseudoinfecções nos Estados Unidos e em outros países, e a *Pseudomonas aeruginosa* foi isolada em 25 desses casos.

De acordo com os autores, quase dois terços dos surtos, nos Estados Unidos da América, e aproximadamente três quartos dos surtos em outros países, foram relacionados a práticas inadequadas em alguma das etapas do processamento. Outras causas foram o mau funcionamento do equipamento, contaminação de acessórios, contaminação da água, soluções contaminadas, ambiente contaminado e inadequado treinamento da equipe.

Apesar de existirem recomendações já muito bem estabelecidas pelos guias internacionais, há riscos para os pacientes. Essa revisão demonstrou que 16.520 pessoas foram expostas e 922 foram contaminadas.

Segundo Banerjee e colaboradores (2008), após o ano de 2003, com a publicação do guia da multisociedade para o processamento dos endoscópios gastrointestinais flexíveis e, na ausência de defeitos no equipamento, todos os relatos subseqüentes de casos de transmissão de infecção ocorrerão se houver falhas na adesão desse guia.

Para Rutala e Weber (2007), o endoscópio é uma ferramenta valiosa para o diagnóstico e tratamento de doenças na medicina moderna e embora a incidência de infecção seja muito baixa (cerca de 1 caso por 1,8 milhões de procedimentos), muitos surtos de infecção têm sido associados a endoscópios contaminados quando comparados a outros dispositivos médicos. Segundo os autores, auditores têm mostrado que a equipe de saúde freqüentemente não adere às recomendações dos guias de processamento e, em razão disso, surtos de infecção continuam a ocorrer.

2.3 PROCESSAMENTO DOS ENDOSCÓPIOS FLEXÍVEIS

Para evitar a transmissão de microrganismos de um paciente para outro através do endoscópio, esse equipamento deve ser submetido a um processo que inclui várias etapas, como a limpeza manual ou automatizada, a desinfecção de alto nível (manual ou automatizada) como procedimento mínimo, com vistas a destruição do microrganismo, o enxágüe, secagem e a estocagem.

2.3.1 Limpeza

As superfícies dos materiais necessitam estar limpas antes do processo de desinfecção ou esterilização, para facilitar o contato dessas superfícies com o agente microbicida, pois a sujidade pode proteger os microrganismos da ação antimicrobiana destes.

Limpeza significa remoção de toda matéria orgânica e inorgânica dos materiais e superfícies. Pode ser realizada manualmente ou automatizada, com água e detergente com pH neutro ou com detergente composto por enzimas que funcionam como desincrostantes, quebrando as ligações da matéria orgânica aderida aos materiais. Há outras associações de detergentes, por exemplo, com peróxido de hidrogênio, porém, ainda não comercialmente disponíveis no território nacional.

Segundo Rey e colaboradores (2008), os detergentes que não fazem espuma são os mais indicados na etapa de limpeza, pois permitem a visualização do equipamento que está sendo limpo e propiciam maior atrito da escova com as superfícies dos lúmens.

Os objetivos da limpeza consistem na remoção da sujidade, remoção ou redução de microrganismos e de substâncias pirogênicas (RUTALA e WEBER, 2008; BASSO e GIUNTA, 2004; ALFA, DEGAGNE e OLSON, 1999).

A ciência do processamento dos artigos reutilizáveis valoriza a limpeza como passo inicial e fundamental para garantir a fase posterior da desinfecção ou da esterilização. A limpeza reduz 99,99% do *bioburden*¹ inicial presente no artigo, além de remover ou diminuir a presença de substratos que propiciam a formação dos biofilmes (RUTALA e SHAFER, 1996).

Cronmiller e seus colaboradores (1999), estudando a eficácia do procedimento de desinfecção de endoscópios, demonstraram que a pré-limpeza manual reduziu o número absoluto do microrganismo desafio numa proporção de 3 logs (de 10^7 para 10^4 UFC/mL). Comentam que, embora ela não possibilite a remoção completa dos microrganismos, certamente reduz o seu número e aumenta a eficácia do procedimento subsequente. A demora em limpar o endoscópio também pode resultar em secagem da sujidade e, conseqüentemente, dificultar a limpeza.

¹ Bioburden: “é o termo utilizado pelos produtores de artigos médico-cirúrgicos para designar a contaminação dos mesmos durante o processo de fabricação ou após o uso” ZANON, U. Esterilização. In: Zanon U.; Neves J. Infecções hospitalares: prevenção, diagnóstico e tratamento. Rio de Janeiro, Medsi, 1987. cap. 30, p. 833.

Dois métodos podem ser empregados para executar essa limpeza: o método manual e o automatizado. No método manual, utilizam-se artefatos, como escovas, esponjas e fluidos sob pressão. Em situações nas quais não é possível utilizar escovas para limpeza interna, a sujidade é removida pela ação do detergente e água sob pressão (BASSO e GIUNTA, 2004).

Segundo RUTALA e WEBER (2008), dois componentes são essenciais para a limpeza manual: a fricção, que consiste em limpar uma área suja utilizando escova e o fluido sob pressão, que é utilizado para remover a sujidade de um local onde não foi possível realizar a escovação, ou em local onde não há acesso à introdução de artefatos para a limpeza. Já a limpeza automatizada é realizada por meio de três tipos de lavadoras: ultra-sônicas, lavadoras-descontaminadoras/desinfetadoras e lavadoras-esterilizadoras, que apresentam controle da temperatura, do produto químico e do tempo necessário ao processamento.

As lavadoras que realizam limpeza através do ultra-som produzirão o efeito desejado, se os espaços internos do equipamento estiverem repletos com água, porque o ultra-som age sobre a água. O detergente escolhido deve produzir pouca espuma e pode-se optar por produtos que contenham enzimas. Entretanto, a limpeza através de ultra-som não deve ser utilizada em endoscópios rígidos ou flexíveis, pois pode danificar o sistema ótico (Barboza, 2003).

As lavadoras descontaminadoras/desinfetadoras utilizam a circulação de água e detergente para remover as sujidades. São equipadas para lavar, desinfetar e secar dispositivos médicos com ou sem lúmen. Quando utilizadas para o processamento de endoscópios elas não eliminam a necessidade da limpeza manual das superfícies internas e externas do equipamento, mas apresentam como vantagem realizar a completa irrigação de todos os canais – biópsia, sucção, ar, água, e canal de CO₂. Contudo, as máquinas, atualmente disponíveis no mercado, não são capazes de irrigar o canal elevador do duodenoscópio, que deve ser submetido à limpeza manual. Mesmo assim, o processamento automatizado é mais seguro, reprodutível, é mais conveniente para a equipe, pois minimiza a

probabilidade de exposição dos olhos, pele e trato respiratório aos desinfetantes e evita contaminação cruzada, por permitir um único uso das soluções, quando necessário. Para tanto, deve-se requerer a manutenção periódica da máquina, para assegurar que todos os seus componentes estejam livres de resíduos e biofilme. Os problemas relacionados a essas processadoras podem residir na recontaminação do endoscópio, proveniente da contaminação da máquina ou do suprimento de água; excessiva diluição do desinfetante, ocasionando redução da potência do princípio ativo; encaixe inadequado do endoscópio, prejudicando a irrigação de todos os canais, entre outros (REY et al., 2008; RUTALA e WEBER, 2008).

Para Rey e seus colaboradores (2008), ao adquirir uma processadora de endoscópio, deve-se considerar as seguintes características: o número de endoscópios que podem ser processados simultaneamente; a presença de um contador de ciclo e um indicador de falha ou erro; um sistema de tratamento de água para prevenir a recontaminação do endoscópio durante o enxágüe; realizar secagem dos canais ao final do ciclo e teste de vazamento automático; limpar, desinfetar e enxaguar todos os canais internos e superfícies externas do equipamento.

Alfa, Olson e DeGagne (2006), pesquisaram a eficácia de uma lavadora descontaminadora, denominada “*Reliance EPS*”, que possibilita a seleção de uma ou duas fases de lavagem, com duração de cinco a dez minutos, a ser programada pelo usuário, em três diferentes tipos de endoscópios flexíveis, incluindo um broncoscópio, um duodenoscópio e um colonoscópio. Essa máquina, programada para executar a lavagem em seis minutos, mostrou-se eficaz para limpeza dos modelos de endoscópios flexíveis testados no estudo.

As sociedades especializadas em endoscopia afirmam que o uso de detergente enzimático na pré-limpeza e na limpeza manual propriamente dita é suficiente na remoção da matéria orgânica. Esses limpadores enzimáticos contêm enzimas como a protease, lipase, amilase e carboidrase que vão quebrar as ligações das moléculas das proteínas, lipídeos, amidos e carboidratos, respectivamente. Há um grande número de detergentes enzimáticos disponíveis no mercado nacional e cabe ao enfermeiro verificar

o melhor produto, com base em protocolos estabelecidos na instituição, no conhecimento da concentração ideal de enzimas presentes no detergente e na concentração e qualidade do tensoativo. Cabe salientar que os fabricantes de detergente enzimático recomendam manter o material imerso de três a cinco minutos, orientação esta nem sempre seguida. Vale destacar que Alfa e Jackson (2001) afirmaram que as enzimas que compõem o detergente enzimático podem aumentar o nível de proteínas nos materiais quando o enxágüe é insuficiente.

As recomendações atuais para o processamento de endoscópios incluem a imersão do endoscópio em um detergente, escovação dos canais de maior calibre e injeção de água com detergente em todos os canais, seguida, no mínimo, pela desinfecção de alto nível. Detergentes contendo enzimas tais como a protease e amilase são recomendados para aumentar a eficácia em remover sujidade orgânica. Como há dificuldade em escovar os canais de menor calibre, utiliza-se a injeção de água e detergente. Para Vickery, Pajkos e Cossart (2004), o agente ideal de limpeza deve remover toda a sujidade das superfícies, incluindo o biofilme, sem a necessidade de escovação.

Alfa, Olson e DeGagne (1999) afirmaram que os lúmens estreitos representam um desafio para adequada limpeza e que o íon sódio ou a proteína residual podem interferir na esterilização dos endoscópios flexíveis. Apontaram a necessidade urgente de validar protocolos para a limpeza, permitindo assim a confirmação de que o endoscópio foi limpo adequadamente, o que assegura a eficaz desinfecção e/ou esterilização. Técnicas e métodos para validar e monitorar o processo de limpeza devem ser desenvolvidos, considerando que esse processo tem sido o ponto essencial do processamento.

Segundo Banerjee (2008), a limpeza manual diminui a chance de formação do biofilme bacteriano que pode se desenvolver dentro dos canais do endoscópio; para ele a eficácia da limpeza e desinfecção é “pessoal dependente”, isto é, as falhas nessa etapa sugerem erro humano. Enfatiza também a necessidade de assegurar a qualidade do processamento, validar o processo e realizar extensivo treinamento da equipe.

2.3.2 Desinfecção de alto nível

A decisão de submeter um material ao processo de desinfecção ou esterilização, está baseada no sistema de classificação proposto por Spaulding (1968), que dividiu os artigos em três categorias, segundo o risco potencial de transmissão de infecção. Segundo esse autor, os itens, como os endoscópios gastrointestinais que entram em contato com membrana mucosa ou pele não íntegra, são classificados como semicríticos e, portanto, necessitam estar isentos de microrganismos vegetativos, vírus, fungos, micobactéria, mas não necessariamente de todos os esporos. A recomendação mínima para esses materiais é que sejam submetidos à desinfecção de alto nível, com um produto esterilizante/desinfetante, seja ela manual ou automatizada, aprovada pelo *FDA* (ALVARADO e REICHELDERFER, 2000).

É importante ressaltar que a etapa mais crítica no processamento dos materiais é a limpeza. É pouco provável que haja sucesso na desinfecção ou mesmo na esterilização de um equipamento inadequadamente limpo, pois a matéria orgânica pode fixar-se e facilitar a formação de biofilme, principalmente em canais de biópsia de endoscópios se a limpeza manual, escovação e enxágüe não foram executados apropriadamente. Alguns guias europeus recomendam uma dupla escovação a fim de remover todas as partículas protéicas de maneira mais eficaz. Esse cuidado deve-se a ocorrência da doença de Creutzfeld-Jacob (CJD) ou sua variante (vDCJ) (REY et al. 2008).

Os desinfetantes de alto nível são agentes químicos capazes de destruir todos os microrganismos, com exceção de alguns esporos (BANERJEE, 2008). Devido a sua estabilidade química, geralmente são soluções reusáveis e com isso sofrem diluições durante os repetidos usos entre os procedimentos, necessitando de um controle da sua concentração antes de cada uso para assegurar adequado desempenho do produto químico.

Assim, os endoscópios gastrointestinais, por serem sensíveis ao calor, são submetidos à desinfecção de alto nível ou esterilização, por meio

desses produtos químicos, com tempo de contato variável conforme a recomendação de cada fabricante. A esterilização de endoscópios por meio do óxido de etileno é rara porque requer um tempo prolongado para o processamento e aeração, prática difícil de ser executada na maioria dos serviços especializados. Todavia, não há dúvidas de que o endoscópio deverá ser submetido à esterilização quando for utilizado em campo operatório.

Rutala e Weber (2007) afirmam que alguns dos fatores que afetam a eficácia da desinfecção ou esterilização são a limpeza prévia do material, a carga orgânica e inorgânica presente, o tipo e nível de contaminação microbiana, a concentração e duração da exposição ao germicida, a natureza do material (isto é, presença de fendas, dobradiças ou lúmens), a presença de biofilmes, a temperatura e o pH do processo de desinfecção.

Atualmente, há cinco princípios ativos de germicidas químicos aprovados pelo *FDA* para realizar o processo de desinfecção ou esterilização dos endoscópios. São eles: glutaraldeído, ácido peracético, peróxido de hidrogênio, associação de ácido peracético com o peróxido de hidrogênio e ortoftaldeído. Vale reforçar que no reuso, os produtos químicos devem ser avaliados a cada novo uso a fim de assegurar a mínima concentração efetiva do princípio ativo (HOLTON, 2004; MEYER, 2006; RUTALA e WEBER, 2008).

Dentre os produtos químicos citados para a desinfecção de endoscópios, dispomos, atualmente no Brasil, do glutaraldeído a 2%, do ácido peracético com concentrações e formulações variadas, da água eletrolítica ácida, gerada somente por meio de uma máquina, para a desinfecção dos endoscópios e, mais recentemente, o ortoftaldeído.

O peróxido de hidrogênio a 7,5% proporciona desinfecção de alto nível em 30 minutos a 20 graus Celcius e possui atividade contra bactérias, fungos, vírus e esporos. O produto não é compatível com endoscópios fabricados pela *Olympus*TM, *Pentax*TM ou *Fujinon*TM, sendo essas marcas as mais utilizadas nos serviços especializados (MEYER, 2006).

A composição de ácido peracético com peróxido de hidrogênio é compatível com alguns endoscópios na concentração de 0,08% de ácido peracético e 1% de peróxido de hidrogênio. A desinfecção de alto nível é atingida após 25 minutos de contato à temperatura de 20 graus Celcius. O ácido peracético pode ser reutilizado por até 21 dias, entretanto, a Sociedade Européia de Enfermeiros em Gastroenterologia e Associados (SGNA), descreve, em seu guia, que esse produto químico não tem sido compatível com endoscópios gastrointestinais fabricados pela *Olympus*TM, *Pentax*TM e *Fujinon*TM. Atualmente, há no mercado o ácido peracético a 0,09% da Anions®, cujo produtor responsável afirma compatibilidade com todas as marcas de endoscópios, desde que não tenha sido utilizado previamente o glutaraldeído para o processamento desses equipamentos (MEYER, 2006).

Alguns desses agentes químicos podem ser utilizados em máquinas processadoras de endoscópios que apresentam mecanismos de irrigação dos canais, controle do tempo de contato com o desinfetante, controle da temperatura, sistemas de alarmes e de controle do número de reutilizações do desinfetante. Embora apresentem custo elevado inicial, são úteis em clínicas com alta demanda de exames, além de reduzir a exposição ocupacional ao produto químico. Salienta-se que meticulosa limpeza manual dos equipamentos deve preceder o uso da máquina processadora (ALVARADO e REICHELDERFER, 2000).

Para Rutala e Weber (2008), o processamento dos endoscópios em uma máquina automatizada padroniza várias etapas, diminuindo a possibilidade de erros humanos e reduzindo a exposição ocupacional ao desinfetante, sendo mais vantajoso, quando comparado ao manual. Entretanto, falhas no processamento podem ocorrer devido a problemas no sistema de filtração da água de enxágüe ou ausência de conectores entre a processadora e o dispositivo, o que não assegura um fluxo completo do desinfetante e da água de enxágüe nos canais dos endoscópios. Vale ressaltar que o duodenoscópio contém características estruturais que requerem uma pressão maior na limpeza do canal elevador que não é

atingida pela máquina automática. Nesse caso, está indicada a limpeza manual desse dispositivo.

A seguir, serão destacados alguns dos princípios ativos citados:

1. Glutaraldeído a 2%

O glutaraldeído tem sido o desinfetante/esterilizante mais utilizado no mundo devido ao amplo espectro de ação, atividade por tempo prolongado e compatibilidade com os materiais.

Trata-se de um dialdeído saturado que, quando ativado através de agentes alcalinizantes, torna-se esporocida. Após a ativação, tem durabilidade mínima de 14 dias, devido à polimerização das moléculas, que bloqueiam os locais ativos que são responsáveis pelo poder biocida do germicida. O glutaraldeído pode ser diluído durante o seu uso devido à umidade presente nos endoscópios que não ficam inteiramente secos após a limpeza, diluindo o produto químico. Assim, a concentração do princípio ativo vai diminuindo após poucos dias de uso, tanto no método manual, como em processadoras automáticas de endoscópios. Nessas situações, indica-se a utilização de fita-testes, que controlam a mínima concentração efetiva, fornecidas pelos fabricantes. A concentração do produto químico deve ser considerada inaceitável ou não segura quando a fita-teste indicar uma concentração em torno de 1,0 a 1,5% (RUTALA e WEBER, 2008).

O glutaraldeído a 2% é o produto químico preferencialmente recomendado pelas diversas sociedades especializadas para a desinfecção de endoscópios, com tempo de exposição que varia de 10 a 20 minutos, dependendo do país. Segundo BASSO e GIUNTA (2004), a indicação do fabricante é de 20 a 30 minutos para se obter a desinfecção de alto nível e de 10 a 12 horas para esterilização, no uso manual. O glutaraldeído é capaz de eliminar bactérias, fungos, vírus, micobactérias e esporos, mas tem a desvantagem de fixar a matéria orgânica, de ser retido em materiais com porosidade, de permitir a formação de biofilme, além da toxicidade e do dano para o meio ambiente (MEYER, 2006; ALFA, OLSON e DEGAGNE, 1999; KELSEY et al., 2007).

Segundo Loukili e seus colaboradores (2004 e 2006), produtos químicos derivados de aldeídos são freqüentemente utilizados para desinfecção de alto nível em dispositivos médicos sensíveis ao calor, especialmente para o processamento de endoscópios gastrointestinais. Entretanto, tem sido relatada recentemente a diminuição de sua atividade contra algumas cepas de micobactérias. Além disso, podem causar irritação na pele ou dermatite, irritação da membrana mucosa (olhos, nariz e garganta), sintomas pulmonares, epistaxe, asma, rinite em trabalhadores da área da saúde expostos ao germicida, além de colite, cólicas abdominais e diarreia nos pacientes, proveniente de resíduos de glutaraldeído após enxágüe insuficiente do endoscópio (RUTALA e WEBER, 2008).

Outros agentes estão atualmente disponíveis no mercado para desinfecção de alto nível com algumas vantagens sobre o glutaraldeído, como maior poder microbida, menor toxicidade e menor tempo de ação, apesar de alguns apresentarem um custo mais elevado ou serem mais corrosivos aos equipamentos (HOLTON, 2004).

Por ocasião da ocorrência de surtos de infecção por micobactéria de crescimento rápido após cirurgia plástica por videoscopia e outras cirurgias realizadas por escopia, a Agência Nacional de Vigilância sanitária (Anvisa) publicou uma Nota Técnica, recomendando a substituição do glutaraldeído a 2%, aplicado aos instrumentais utilizados nessas cirurgias, diante da ocorrência de resistência da *Micobactéria massiliense* a esse princípio ativo (BRASIL, 2007). Cabe lembrar que esses artigos, denominados críticos, entram em contato com tecidos estéreis e, portanto, devem ser submetidos à esterilização. Já os endoscópios gastrointestinais são artigos semi-críticos, podendo ser, no mínimo, submetidos à desinfecção de alto nível. Até o momento, a Anvisa não determinou a suspensão desse princípio ativo para a desinfecção desses endoscópios.

2. Ortoftaldeído

O ortoftaldeído foi aprovado pelo *FDA* em 1999, podendo ser utilizado como desinfetante de alto nível ou esterilizante e contém 0,55% de 1,2 - benzenodicarboxaldeído. É mais eficaz que o glutaraldeído contra micobactéria e a recomendação do tempo de contato do material com o desinfetante vai variar de cinco minutos (como na Europa, Ásia e América Latina) a 12 minutos (nos EUA). Países como o Canadá e Austrália recomendam o tempo de contato de 10 minutos. Rutala e Weber (2008) descrevem que as discordâncias referentes ao tempo de contato do desinfetante com o material devem-se às diferenças nas metodologias de cada país ao testar o produto. Em máquina processadora de endoscópios, a desinfecção de alto nível é atingida em cinco minutos a uma temperatura de 25 Graus Celsius (Rutala e Weber, 2008). O ortoftaldeído tem um pH próximo ao neutro, de 7,2 a 7,8, o que permite-lhe ser compatível com vários tipos de endoscópios e outros dispositivos médicos. O produto causa poucas reações adversas aos trabalhadores, e não requer ativação. Entretanto, à semelhança do glutaraldeído, é capaz de fixar matéria orgânica e permite a formação de biofilme. Deve ser utilizado em áreas bem ventiladas e em recipientes com tampa, pois pode causar irritação nos olhos, pele e trato respiratório. Há poucos dados disponíveis sobre os efeitos do produto químico na saúde do trabalhador, se for exposto por um tempo prolongado, mas há um alerta do fabricante sobre relatos de reações do tipo anafilática, em pacientes com câncer de bexiga, submetidos a repetidas cistoscopias com a presença do resíduo do agente químico no equipamento (HOLTON, 2004; MEYER, 2006; RUTALA e WEBER, 2008; REY, 2008).

3. Ácido peracético

O ácido peracético desponta como uma possível alternativa para desinfecção de alto nível de endoscópios, em substituição ao glutaraldeído, por apresentar rápida ação contra todos os microrganismos, inclusive micobactéria e esporos bacterianos. Tem como vantagens decompor-se em produtos que não causam danos ao meio ambiente, não deixa resíduos nos materiais e é eficaz na presença de matéria orgânica. Pode corroer cobre, latão, bronze aço e ferro, mas são efeitos que podem ser reduzidos por aditivos e modificações no pH da solução (RUTALA e WEBER, 2008).

O ácido peracético apresenta-se em diferentes formulações químicas e, portanto, pode ser considerado como um grupo de produtos. Todavia, as características apresentadas por uma determinada formulação não podem ser extrapoladas para as demais, pelo fato de exibirem diferentes concentrações. O ácido peracético pode ser corrosivo, dependendo da formulação, tem odor semelhante ao vinagre e possui fita reagente para detectar a mínima concentração efetiva. Não há relatos, na literatura, de induzir resistência aos microrganismos (REY, 2008).

Comparado ao glutaraldeído, o ácido peracético tem igual ou melhor ação biocida. Em locais com ventilação adequada, é menos irritante para a equipe de saúde, e seguro para o meio ambiente. A propriedade oxidativa do ácido peracético de algumas formulações pode ocasionar a presença de fendas nos canais internos de endoscópios, especialmente se forem previamente desinfetados com glutaraldeído (REY, 2008). A empresa Olympus® não autoriza o uso do ácido peracético referindo incompatibilidade com os seus endoscópios. Já a Pentax® e a Fujinon® listam o sistema *Steris*® como compatível com seus endoscópios (KELSEY et al., 2007).

O ácido peracético na concentração de 0,09% a 0,15% é derivado da molécula acetilcaprolactam (50%) mais peróxido de hidrogênio a 3%, com um pH entre 5,5 e 7,0. É bactericida, fungicida, viruscida, tuberculicida e micobactericida em 10 minutos de contato e esporocida em 30 minutos.

Essa formulação apresenta como vantagem não ter ácido acético e vem acompanhada de fitas reagentes que permitem verificar a concentração do ácido peracético antes de cada reuso da solução. Vale frisar que o produtor ressalta a compatibilidade do germicida com todos os endoscópios.

Já o concentrado esterilizante *Steris 20*, exclusivo para uso na máquina reprocessadora *Steris™ System 1* e comercializado pela *Steris Corporation*, apresenta em sua composição o ácido peracético a 35%, o ácido acético a 40%, o peróxido de hidrogênio a 6,5%, o ácido sulfúrico a 1%, sais e aditivos. A máquina dilui e mistura esse concentrado com água, a uma temperatura que varia de 50 a 60 Graus Celsius, até atingir uma concentração final de 0,2%, com pH neutro, o qual é esporocida a 50 Graus Celsius. O ciclo do processamento é de, aproximadamente, 30 minutos, incluindo múltiplos enxágües. (REY, 2008; RUTALA e WEBER, 2008; KELSEY et al., 2007). Uma fita reagente para monitorar a concentração do produto químico é colocada dentro da bandeja onde fica o endoscópio e acusa concentração apropriada do esterilizante após a diluição. Assim, o risco de exposição dos usuários ao vapor do produto químico é bastante reduzido (SATTAR et al., 2006). O processamento ocorre em 28 minutos, mas a máquina não executa as etapas do teste de vazamento do endoscópio e nem a secagem do equipamento após o ciclo. Esse processador tem como finalidade principal o uso em centro cirúrgico, pois executa a esterilização dos materiais para pronto uso.

O ácido peracético na concentração de 0,3% a 0,1% é gerado por meio da perhidrólise de radicais acetil a partir da tetraacetiletilenodiamina (TAED), com pH entre 7,0 e 8,5, seguro para endoscópios, com baixa toxicidade, enxágüe fácil, esporocida em 30 minutos, biodegradável e não tóxico aos usuários. Entretanto, o produto é vendido em pó e o ácido peracético é gerado durante a diluição do produto e necessita ser agitado por 15 minutos para ocorrer a dissolução do TAED. Quando diluído, tem validade de 24 horas.

A Portaria nº 122, de 29 de novembro de 1993, incluiu o ácido peracético na portaria nº. 15, de 23 de agosto de 1988, para uso como desinfetante ou esterilizante hospitalar (BRASIL, 1993).

4. Água eletrolítica ácida

A água eletrolítica ácida é um desinfetante produzido a partir do cloreto de sódio em solução aquosa (0,1%). Essa solução é submetida à eletrólise dentro de uma máquina (Cleantop WM-S®), produzindo uma água ácida, com pH de 2,7 e um potencial de óxido-redução acima de 1120 mV, ocasionando oxidação da membrana celular dos microrganismos, inativação das enzimas e desnaturação dos ácidos nucleicos dos microrganismos (TSUJI et al., 1999). Esse novo processo de desinfecção foi aprovado pela Resolução RE nº 342, de 03 de novembro de 2003 (BRASIL, 2003), para uso no processamento de endoscópios e, conforme a literatura pesquisada, é eficaz contra bactérias, fungos, vírus, micobactéria e esporos (ZINCKEVICH, 2000; SELKON, BABB e MORRIS 1999, LEE et al., 2004).

A desinfecção dentro da máquina ocorre em sete minutos, incluindo o enxágüe, mas não executa a secagem do endoscópio. O desinfetante é injetado no canal de sucção/biópsia e no canal de ar/água através das conexões existentes na máquina e, ao mesmo tempo, jatos de água ácida são projetados para as superfícies externas do endoscópio. A água ácida tem mínima toxicidade, é pouco irritante para pele e mucosa humana, apesar da sua acidez, e inócua ao meio ambiente. (MACHADO, FISCHMAN e GEOCZE, 2005).

Dentro da máquina são produzidas soluções ácidas e alcalinas, armazenadas em recipientes diferentes e que, ao final do processo de desinfecção, escoam-se simultaneamente, ocorrendo a neutralização para o descarte. As substâncias químicas decorrentes da eletrólise do cloreto de sódio, como o cloro (em torno de 10 ppm), podem ficar aderidas ao endoscópio após a desinfecção. Não causam danos aos tecidos do trato gastrointestinal e seus resíduos podem ser diminuídos pelo enxágüe com água esterilizada. A água ácida tem baixo custo requerendo somente sal, água de torneira e eletricidade (MACHADO, FISCHMAN e GEOCZE, 2005; REY et al., 2008).

Para Rey e colaboradores (2008), o alto potencial de óxido-redução, a presença de cloreto de sódio e o baixo pH da solução podem danificar os componentes do endoscópio após um longo período de exposição.

Há dois tipos de água eletrolítica ácida: a água eletrolítica ácida forte, já descrita e a água eletrolítica ácida fraca, também denominada de água superoxidada. A forma ativa primária é o ácido hipocloroso que é um desinfetante forte, não tóxico, produzido por eletrólise, em uma célula eletroquímica patenteada. É gerado conforme a demanda e só pode ser estocado por 24 horas.

Allison e seus colaboradores (2008), no guia da Sociedade Britânica para desinfecção de endoscópios gastrointestinais e REY e seus colaboradores (2008), em Nota Técnica de Limpeza e Desinfecção, elaborada pela Sociedade Européia de Endoscopia Gastrointestinal, afirmam que a eficácia da água ácida é reduzida na presença de matéria orgânica e biofilme.

2.3.3 Enxágüe, secagem e estocagem

Após o processo de desinfecção, o endoscópio deve ser submetido ao enxágüe (para remover os resíduos tóxicos dos produtos químicos), à secagem interna e externa (para prevenir crescimento de microrganismos) e estocagem adequada (para prevenir recontaminação ou dano no equipamento).

Banerjee (2008) observa que o enxágüe requer introdução de um grande volume de água, através de todos os canais, para realizar completa eliminação do produto químico. Declara que a água utilizada para o enxágüe pode ser a água da torneira potável ou água filtrada. Como nenhuma dessas águas é isenta de microrganismos, há risco de recontaminação do endoscópio após o enxágüe.

A água da torneira pode conter baixos níveis de microrganismos e a sugestão para minimizar esse problema é submeter os canais do endoscópio a uma rinsagem com álcool e secagem posterior com ar

comprimido medicinal. Já as processadoras automatizadas geram água filtrada através da passagem da água da torneira por um filtro bacteriano de 0,2 micras, produzindo uma água de melhor qualidade.

A umidade nos canais do endoscópio propicia um ambiente favorável à colonização e multiplicação dos microrganismos (BANERJEE, 2008). Portanto, recomenda-se a secagem do endoscópio para minimizar a proliferação dos microrganismos provenientes da água, durante a estocagem. Alguns guias internacionais que estabelecem recomendações para processamento dos endoscópios, indicam realizar uma rinsagem com álcool 70%, seguida de nova secagem com ar comprimido, ao término dos exames do dia, a fim de evitar a formação de biofilme. Já Rutala e Weber (2008), recomendam essa rinsagem com álcool, após cada processamento, e também ao término do dia. O autor cita que os endoscópios devem ser estocados em armários ventilados, limpos, sem umidade e calor excessivo, na posição vertical. Relatam, ainda, haver poucos dados quanto ao prazo que eles podem permanecer estocados, sem uso.

Banerjee (2008) afirma que, se um endoscópio foi adequadamente limpo, desinfetado, seco e estocado, conforme recomendação dos guias atuais, não há evidência de que um novo ciclo de processamento, antes do primeiro exame do dia seguinte, seja necessário.

A monitorização microbiológica periódica de endoscópios é uma recomendação da Sociedade de Gastroenterologia da Austrália, a fim de assegurar a qualidade da limpeza e desinfecção de endoscópios, havendo controvérsias quanto à frequência necessária para a realização dessa monitorização. Por ocasião dessa falta de consenso, Gillespie, Kotsanas e Stuart (2008), realizaram um estudo de revisão para verificar a periodicidade dessa recomendação em dois hospitais do país. Os autores acessaram os registros dos testes microbiológicos no período de 2002 a 2006. Durante esse período, foram realizados anualmente mais de 3500 procedimentos endoscópios. Verificaram que o processamento dos endoscópios havia sido realizado em máquina automatizada, com etapa de limpeza manual e automatizada, usando o glutaraldeído a 24%, como desinfetante, a uma temperatura de 45 Graus Celsius, que dentro da

processadora atingia a concentração de 0,2%. O ciclo padrão da máquina consistia de pré-lavagem com o detergente enzimático, o enxágüe, a desinfecção propriamente dita, outro enxágüe e a secagem, que demorava 15 minutos para outros endoscópios e 17 minutos, com dobro da concentração de glutaraldeído, para processar broncoscópios e duodenoscópios. Ao final do dia, todos os endoscópios eram submetidos a um ciclo de secagem extra por três minutos com álcool, antes da estocagem. Os autores citados referem que os broncoscópios e duodenoscópios foram monitorados a cada quatro semanas e os gastroscópios e colonscópios a cada três meses. Como achados, verificaram que foram realizados 2374 testes microbiológicos que incluíam: 287 testes provenientes das máquinas com resultado negativo; 631 testes provenientes dos broncoscópios com resultados negativos para micobactéria e 1456 oriundos dos demais endoscópios, obtendo-se como resultado seis testes positivos. Em todos estes seis testes haviam crescido bactérias, como a *Burkholderia sp* e a *Pseudomonas sp*, microrganismos bem conhecidos por formar biofilmes. Entretanto, verificaram que três dessas seis amostras, haviam sido coletadas de endoscópios estocados por mais de 24 horas e não reprocessados. Os autores constataram que a processadora de endoscópios realiza com eficácia a limpeza e desinfecção e que esses testes microbiológicos consomem tempo e são caros pois requerem repetidas amostras.

2.4 BIOFILME

Os microrganismos podem se apresentar de forma livre (no estado planctônico) ou aderidos a uma superfície. Segundo Donlan e Costerton (2002), o biofilme caracteriza-se por microrganismos que estão irreversivelmente ligados a um substrato, a uma interface ou uns aos outros, por uma substância extracelular amorfa, composta de exopolímeros (EPS) de origem bacteriana, que têm por função unir as células firmemente às superfícies e entre as mesmas, formando uma matriz extracelular.

Esta matriz é composta fundamentalmente de carboidratos e proteínas, mas tem sido observada também a presença de DNA extracelular e detritos de células mortas. Os constituintes da matriz mais citados são os polissacarídeos. A matriz concede proteção aos microrganismos residentes dentro do biofilme o que os torna mais resistentes do que em suspensão (forma planctônica). Essa situação pode afetar a cinética da ação de um desinfetante. (PAJKOS, VICKERY e COSSART, 2004, BRANDA et al., 2005; DONLAN E COSTERTON, 2002; LINDSAY e VON HOLY, 2006).

A bactéria é o microrganismo mais estudado com respeito à colonização de superfícies e subsequente formação de biofilme, embora fungos, leveduras, algas, protozoários e vírus também tenham sido encontrados em biofilmes de ambientes industriais e na área da saúde (LINDSAY e VON HOLY, 2006).

Muitos processos industriais são afetados por problemas relacionados ao biofilme em tubulações e ele pode ocorrer também em um grande número de ambientes e dispositivos médicos, pois os microrganismos presentes no biofilme podem aderir ao aço inoxidável, ao alumínio, ao vidro, à borracha, ao teflon, ao náilon, à fórmica, ao polipropileno e ao ferro (BOARI, 2008).

Lindsay e Von Holy (2006) relatam que há algumas teorias que procuram explicar a formação do biofilme como um processo que envolve dois tipos de interação da bactéria com a superfície: a reversível e a irreversível. O mecanismo de adesão bacteriana inclui algumas condições do meio como temperatura, pH, a hidrofobicidade da superfície (capacidade de repulsão à água), a disponibilidade de nutrientes e a presença de compostos orgânicos e inorgânicos. O desenvolvimento do biofilme dá-se em diversas etapas consecutivas, como a adesão, crescimento, produção do polissacarídeo, maturação e descolamento do biofilme. (Figura 4).

Segundo Lappin-Scott e Bass (2001), muitos processos físicos, biológicos e químicos determinam a formação do biofilme. Inicialmente, moléculas e pequenas partículas são transportadas à superfície por difusão, formando um filme condicionante. Essa camada influencia na adsorção, atração e transporte dos microrganismos e nutrientes para a superfície. De

acordo com esses autores, alguns microrganismos aderem à superfície e outros rapidamente retornam à fase planctônica. Eles são observados movimentando-se independentemente, geralmente em direção oposta ao fluxo e, nesse estágio inicial de colonização da superfície, a taxa de adesão é maior do que a taxa de crescimento ou do que a taxa de desprendimento.

Figura 4. Adesão, colonização e crescimento do biofilme. As bactérias estão em laranja e o EPS do biofilme em amarelo. Harrison-Balestra et al., 2003

Para Schneider (2007), a superfície que servirá de suporte para o biofilme deve dispor de uma quantidade adequada de compostos orgânicos necessária à formação do EPS. Nos ambientes em que há pouco carbono, os biofilmes são formados por células individuais, dispersas ou em grupos, mas que permanecem aderidas à superfície. Dependendo dos nutrientes disponíveis, os microrganismos aderidos iniciam a formação do biofilme pela fabricação e excreção dos constituintes da matriz de EPS. Os polissacarídeos que fazem parte dessa matriz são higroscópicos, tornando-a viscoelástica.

Embora a limpeza mecânica ou a escovação sejam geralmente eficazes em remover sujidades e biofilme, a resistência da bactéria dentro de biofilmes é 1000 vezes maior do que a mesma bactéria em suspensão (VICKERY, PAJKOS e COSSART, 2004). O uso de detergente enzimático

pode colaborar na remoção do biofilme aderido à superfície que, ao ser desprendido, fica mais exposto à ação dos desinfetantes.

Pajkos, Vickery e Cossart (2004), ao examinarem os canais de endoscópios flexíveis, prontos para o uso, provenientes de um serviço de endoscopia em Sidney, na Austrália, detectaram que um canal de sucção/biópsia apresentava grande formação de biofilme, e os microrganismos encontravam-se presentes em forma de bacilos, tanto em microcolônias aderidas como em suspensão. Nos canais de ar/água havia sujidades e, também, a presença de bactérias em forma de bacilos e cocos, além do biofilme. Observaram que a limpeza não removeu toda a sujidade dos canais de ar/água e que a escovação do canal de sucção/biópsia também não foi suficiente, constatação feita pela presença de matéria orgânica, mesmo após o processamento ter sido realizado por protocolos validados. Concluíram que a sujidade e o biofilme, vistos nas superfícies dos canais dos endoscópios, provavelmente interferem significativamente na eficácia do desinfetante. Essa conclusão pode explicar a ocorrência de transmissão de microrganismos por meio dos endoscópios, relatados por vários estudos já mencionados.

Os endoscópios flexíveis, por entrarem em contato direto com as mucosas e secreções do trato gastrointestinal, densamente colonizados por vários microrganismos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus*, *Cândida albicans*, entre outros, e por serem usados e submetidos à limpeza mecânica e desinfecção centenas de vezes, estão sujeitos à formação de biofilme. Ele vai se depositando nas superfícies da parede interna dos canais, principalmente onde há presença de pontos de corrosão como vãos, fendas, sulcos e orifícios (MARION et al., 2006). Problemas semelhantes também foram visualizados por Pajkos, Vickery e Cossart (2004), no estudo citado, constatando a presença desses mesmos defeitos, até mesmo nos canais novos utilizados para o grupo-controle. Sbrissa e seus colaboradores (2001), analisando os endoscópios flexíveis quanto ao tempo de uso e o tempo parado para conserto, no período de fevereiro de 1997 a novembro de 1999, verificaram que após seis meses de uso (em média 360 exames), a borracha

da ponta do tubo flexível apresentava microfuros e havia desgaste da parede do canal de biópsia.

Vickery, Pajkos e Cossart (2004), afirmam que as bactérias aderem prontamente às superfícies molhadas dos materiais e formam colônias organizadas, protegidas por uma camada de expolissacarídeos, que protege os microrganismos da ação dos produtos de limpeza e desinfetantes. Comentam que, recentemente, têm observado biofilme em endoscópios, mas que não publicaram esses achados. Os autores acima destacam que os agentes de limpeza deveriam remover toda a sujidade, incluindo biofilme, sem a necessidade de escovação.

Esses autores estudando, experimentalmente, os diversos tipos de detergentes recomendados para a limpeza do endoscópio com relação à capacidade de remoção do biofilme, encontraram que o detergente sem enzimas, representado por *Matrix*TM com diluição de 1:25 e o detergente contendo alta atividade enzimática, representado pelo *Epizyme rapid*TM foram capazes de remover mais do que 70% e 60% do biofilme presente no tubo do experimento, respectivamente, sem limpeza manual. O detergente *Matrix*TM reduziu 4 log₁₀ do número de bactérias viáveis que se encontravam no biofilme. Todos os outros produtos testados, que continham baixa atividade enzimática (*Medizyme*TM e *Cidezime*TM), não foram capazes de remover todas as bactérias viáveis, persistindo mais do que 10³ unidades formadoras de colônia/cm² das mesmas. Ressalta-se que o detergente *Matrix*TM contém uma quantidade significativa do composto quaternário de amônio, o que pode ter contribuído para a remoção do biofilme (SAVA, 2008).

Machado e seus colaboradores (2006) verificaram a carga microbiana de endoscópios após o uso no paciente e após as etapas de limpeza e desinfecção e constataram que os esofagogastroduodenoscópios foram os que tiveram maior taxa de contaminação, sendo a *Pseudomonas aeruginosa* o microrganismo mais frequentemente isolado das amostras dos endoscópios, apontando o próprio paciente como principal fonte. Atribuem como causa dessa ocorrência a limpeza inadequada e as variações no tempo de contato do endoscópio com o desinfetante, que foi menor do que o

recomendado pela Anvisa (30 minutos). Apesar dos fabricantes apresentarem laudos microbiológicos de morte microbiana e registro da Anvisa da eficácia dos princípios ativos em tempo menor que 30 minutos, esse mesmo órgão determina que os rótulos dos germicidas mantenham a recomendação de imersão do equipamento por esse período para a desinfecção de alto nível.

A maioria dos estudos consultados descreve que a transmissão de infecção ocorre quando há falhas na etapa de limpeza, prejudicando assim a desinfecção. A conformação do endoscópio permite a aderência de microrganismos nos canais internos e, portanto, favorece a formação de biofilmes, que dificultam o processamento eficaz. Por isso, a limpeza torna-se a etapa mais importante nesses equipamentos.

Embora a aderência bacteriana possa ser baixa durante a endoscopia, o acúmulo de bactéria pode iniciar o desenvolvimento de um biofilme maduro dentro dos canais, responsável por diminuir a eficácia do processamento. O processamento, por sua vez, torna-se menos apto a remover o crescimento do biofilme, criando-se, assim, um círculo vicioso (ALLISON et al., 2008).

Vickery, Pajkos e Cossart (2004) comentam que há dificuldade em verificar se o biofilme foi removido, até mesmo após a limpeza ter sido realizada com lavadora ultra-sônica. Afirmam que muitos detergentes enzimáticos não conseguem reduzir a carga microbiana dos endoscópios ou as camadas de polissacarídeos formadas pelas bactérias. Essas camadas são verdadeiros escudos de proteção para os microrganismos, podendo ser responsáveis pela transmissão de infecção, pois são difíceis de remover e abrigam bactérias. Os autores ressaltam a necessidade de atenção à eficácia dos detergentes utilizados no processo de limpeza.

Para Rutala e Weber (2008) os microrganismos podem se proteger dos desinfetantes pela produção do biofilme – uma densa camada de células e material extracelular. O biofilme contém comunidades microbianas fortemente aderidas às superfícies e que não podem ser facilmente removidas. Uma vez formadas essas camadas, os microrganismos tornam-se resistentes aos desinfetantes por vários

mecanismos. Os autores afirmam que novos métodos de desinfecção estão sendo investigados para remover biofilme, mas que o cloro pode efetivamente inativar a bactéria do biofilme. A presença de biofilme pode proporcionar sérias implicações em pacientes imunocomprometidos e pacientes submetidos a dispositivos invasivos.

Os autores mencionados afirmam que algumas enzimas e detergentes podem degradar o biofilme ou reduzir o número de bactéria viável dentro do biofilme, mas nos Estados Unidos da América nenhum produto é registrado para essa finalidade.

Segundo DONLAN e COSTERTON (2002), pesquisas estão sendo desenvolvidas com a finalidade de interromper a sinalização entre as células bacterianas dentro do biofilme (*quorum sensing*), o que proporcionará a ruptura da estrutura, e conseqüentemente, inativação e remoção do biofilme.

2.5 PROCESSAMENTO DE ENDOSCÓPIOS FLEXÍVEIS: RECOMENDAÇÕES DAS SOCIEDADES CIENTÍFICAS INTERNACIONAIS, NACIONAL E A LITERATURA RECENTE

As recomendações de limpeza e desinfecção dos endoscópios flexíveis se apresentam-se muitas vezes diversificadas, por estarem baseadas em regulamentos específicos (oficiais) de cada país. Em revisão da literatura, as seguintes sociedades estabelecem normas para o processamento dos endoscópios: Sociedade Britânica de Gastroenterologia – BSG (ALLISON et al., 2008), Sociedade de Enfermeiros em Gastroenterologia e Associados – SGNA (KELSEY et al., 2007), Guia da Multi-Sociedade composta por membros da *American Society for Gastrointestinal Endoscopy (ASGE)*, *Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA)*, *University of North Carolina Health Care System*, *American College of Gastroenterology (ACG)*, *American Society of Colon Rectal Surgeons*, *Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology (APIC)*, *Society of Gastroenterology Nurses and Associates (SGNA)*, *Association of Peroperative Registered Nurses*, *Federal ambulatory*

Surgery Association e New York State Department of Health (NELSON et al., 2004) e a Sociedade Brasileira de Enfermagem em Endoscopia Gastrointestinal – SOBEEG (MULLER; GRAZIANO e HOEFEL, 2006).

O Guia para desinfecção e esterilização do CDC-USA, recentemente disponível *on-line*, também estabelece recomendações para o processamento de endoscópios flexíveis (RUTALA e WEBER, 2008).

Geralmente, o processamento envolve cinco etapas, após o teste de vazamento, que incluem a limpeza, a desinfecção, o enxágüe, a secagem e a estocagem do equipamento. Entretanto, o endoscópio deve ser submetido a uma pré-limpeza a ser realizada na sala do exame, imediatamente após o término do procedimento, a fim de evitar ressecamento da matéria orgânica, dificultando a limpeza e, conseqüentemente, obstrução dos canais internos. O endoscópio, então, é encaminhado à sala onde será iniciada a etapa de limpeza propriamente dita.

Para os autores citados, a limpeza é a etapa fundamental que vai determinar a eficácia do processo de desinfecção. Nesse estágio, deve-se realizar o teste de vedação do endoscópio para certificar-se da integridade do endoscópio. A limpeza mecânica das superfícies internas e externas inclui escovação e lavagem de cada canal com água e detergente neutro ou com detergente enzimático. A Sociedade Brasileira de Enfermagem em Endoscopia Gastrointestinal, a Sociedade Britânica de Gastroenterologia, a Sociedade de Enfermeiros em Gastroenterologia e Associados (americana) e a Multi-Sociedade determinam somente o uso de detergente enzimático. As duas últimas sociedades e o guia desenvolvido por Rutala e Weber (2008), descrevem a necessidade de descartar o detergente enzimático após cada uso, justificando que o mesmo não possui ação microbicida e, portanto, não retarda o crescimento microbiano na solução.

O enxágüe intermediário é realizado com água abundante para remover os resíduos dos detergentes. Nessa etapa, a secagem dos canais internos e das superfícies externas tem como meta evitar a diluição da solução desinfetante.

Para a desinfecção, os guias recomendam utilizar produtos químicos conforme as orientações do fabricante. O endoscópio deve ser totalmente imerso no desinfetante e os canais devem ser preenchidos com o produto químico para eliminar bolhas de ar e assegurar o contato do desinfetante com as superfícies dos canais internos. Orientam também obedecer ao tempo de imersão estabelecido pelo fabricante do produto utilizado. A Sociedade Britânica não admite a desinfecção manual, apenas a automatizada.

Esses guias recomendam, também, enxaguar o endoscópio e todos os seus canais com água estéril ou água filtrada (geralmente usada nas lavadoras-desinfetadoras), ou água de torneira potável. Todos os canais devem ser rigorosamente irrigados, evitando os riscos de intoxicação química para os pacientes. Na secagem do endoscópio, verifica-se que há controvérsias quanto à rinsagem com álcool nos canais do endoscópio. Enquanto a Multi-Sociedade e o recente guia sobre desinfecção elaborado por Rutala e Weber (2008) recomendam injetar álcool nos canais seguindo-se de nova secagem com ar comprimido, após a desinfecção do equipamento, entre os pacientes e antes da estocagem, a Sociedade Britânica orienta que o álcool não deve ser utilizado, por apresentar propriedades fixativas, e estabelece que a secagem deve ocorrer em salas designadas para essa etapa, que possuam filtros de alta eficiência ao liberarem o ar. A Sociedade Brasileira recomenda secar os canais com ar comprimido e utilizar o álcool somente no término do período de trabalho. Segundo Rutala e Weber (2008), o álcool reduz a probabilidade de contaminação do endoscópio com microrganismos provenientes da água de enxágüe, além de facilitar a secagem do mesmo.

Os endoscópios devem ser armazenados em armários ventilados, sem umidade, de fácil limpeza, em temperatura ambiente, na posição vertical, com o cuidado de não tracionar o cabo do tubo conector e proteger de danos ou contaminação.

O CDC-USA, categoriza as recomendações de boas práticas de acordo com as evidências científicas em cinco categorias que variam de “fortemente recomendada”, por ser sustentada por estudos experimentais

bem desenhados ou estudos epidemiológicos (categoria IA), a “questões não resolvidas”. Entre esses dois extremos, há as categorias intermediárias, sendo a “IB” sustentada por alguns estudos experimentais, clínicos ou epidemiológicos e forte racional teórico; a categoria “IC” onde a recomendação é sustentada por regulamentos federais e a categoria “II”, sugerida para implementação por estudos clínicos ou epidemiológicos ou pelo racional teórico.

Assim, segundo o guia elaborado por Rutala e Weber (2008), as seguintes recomendações para o processamento dos endoscópios gastrointestinais flexíveis devem ser adotadas: limpar o endoscópio com detergente enzimático e artefatos imediatamente após o uso (IA); desconectar e desmontar todos os componentes do endoscópio e submetê-los à limpeza com detergente enzimático (IB); descartar o detergente enzimático após cada uso (IB); realizar desinfecção de alto nível com um germicida registrado após o uso (IA); expor o endoscópio ao tempo mínimo eficaz determinado pelo fabricante (IB); obedecer ao tempo de exposição de 20 minutos se utilizar o glutaraldeído a 2% (IB); enxaguar o endoscópio com água estéril ou filtrada ou de torneira potável, injetar álcool etílico ou isopropílico a 70% ou a 90% e completar a secagem com ar comprimido (IB); esterilizar ou desinfetar o frasco de água e a conexão utilizados para injetar soluções durante o procedimento, no mínimo uma vez ao dia. Preencher o frasco com água estéril (IB); checar a concentração do germicida a cada dia de uso (com o indicador químico adequado) e documentar o resultado. Descartar a solução se a concentração for menor que a mínima eficaz. Não exceder o prazo de validade do desinfetante recomendado pelo fabricante (IA); utilizar equipamentos de proteção individual ao manipular o produto químico (IB); conectar corretamente o endoscópio na processadora automática para assegurar exposição de todas as superfícies dos canais internos ao germicida (IB); certificar-se de que todas as etapas do processamento com a processadora automática foram executadas (IB) e relatar surtos de infecção relacionados aos procedimentos endoscópios para os responsáveis pelo controle de infecção e gerenciamento de risco (IB).

Salienta-se que a Sociedade de Enfermeiros em Gastroenterologia e Associados e a Sociedade Européia de Endoscopia Gastrointestinal referem a não necessidade de processar novamente os endoscópios imediatamente antes do primeiro uso da programação diária, se o mesmo foi adequadamente processado após o último uso no dia anterior.

3. OBJETIVOS

Objetivo geral

- Avaliar a ação da desinfecção de alto nível após limpeza prévia com escovação na remoção de biofilme em corpos amostrais, simulando os canais de endoscópios flexíveis.

Objetivo específico

- Comparar a eficácia dos produtos e tecnologias comercialmente disponíveis no mercado nacional para o processamento de endoscópios, na remoção do biofilme.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 TIPO DE PESQUISA

Trata-se de uma pesquisa experimental, laboratorial e comparativa. Apresenta como variável independente os diversos métodos de desinfecção de alto nível e como variável dependente, o efeito sobre o biofilme.

4.2 LOCAL

O estudo foi realizado em três etapas: para a formação do biofilme, utilizou-se o Laboratório do Departamento de Microbiologia Ambiental do Instituto de Biociências II da Universidade de São Paulo; para a etapa de limpeza e desinfecção dos corpos amostrais, utilizou-se a área física do Serviço de Endoscopia do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo e para a etapa de avaliação dos efeitos do processamento sobre os biofilmes dos corpos amostrais por meio da microscopia eletrônica de varredura utilizou-se do Laboratório de Caracterização Tecnológica da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.

Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão de Ensino e Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (Anexo 3).

4.3 VALIDAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA EM CANAIS DE ENDOSCÓPIO

Para validação desse procedimento, obtiveram-se canais de sucção/biópsia e ar/água de endoscópios usados, provenientes de uma Empresa de manutenção de endoscópios que, espontaneamente, concordou em colaborar com a pesquisa. Um canal original, limpo, também foi cedido por essa mesma empresa. Os canais foram analisados pela microscopia eletrônica de varredura, com a finalidade de verificar a composição química do tubo e validar esse método para a visualização de biofilmes bacterianos.

O canal novo e os usados foram submetidos a um método descrito por Schneider e seus colaboradores (2005). Primeiramente, o canal limpo foi seccionado, com estilete, com uma espessura de aproximadamente dois milímetros, e foi realizada uma abertura para visualização da parede interna do mesmo (vista lateral), para análise de sua composição química. Assim, pela microscopia eletrônica, verificou-se que os canais eram de politetrafluoretileno (teflon®), por apresentar o elemento químico flúor em maior quantidade (Figura 5).

Figura 5. Análise dos elementos químicos do canal do endoscópio novo. Laboratório de Caracterização Tecnológica da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2009.

O mesmo procedimento foi realizado com os canais de ar/água e sucção/ biópsia usados, seccionando uma amostra a 15 centímetros de ambas as extremidades.

Esses pedaços foram colocados no amostrador de ponto crítico com auxílio de uma pinça, em um total de nove amostras (o amostrador é circular e contém nove espaços enumerados de 1 a 9). O amostrador foi imerso totalmente em solução fixadora composta de formaldeído a 4% e glutaraldeído a 8%, por 2 horas. Após o tempo determinado, o amostrador foi retirado da solução fixadora e deu-se início ao processo de desidratação, que consiste em imergir o amostrador em solução de álcool a 30%, 50%,

70%, 90%, e, por três vezes, em solução a 100%, respeitando o tempo de 10 minutos em cada etapa.

A próxima etapa consistiu em encaminhar o amostrador para o Instituto de Ciências Biológicas III. Ele foi colocado em uma máquina denominada secador de ponto crítico (Figura 6). O amostrador permaneceu dentro da máquina por aproximadamente três horas.

Figura 6. Secador de Ponto crítico ("Critical PointDryer").
Fonte: www.ufv.br/ccb/nmm/aparelhos.htm

Figura 7. Microscópio Eletrônico de Varredura
Fonte: www.ufv.br/ccb/nmm/aparelhos.htm

Após esta etapa, o amostrador com as amostras foi encaminhado ao Laboratório de Caracterização Tecnológica da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo – Departamento de Engenharia de Minas e de Petróleo, para o preparo final e leitura no microscópio eletrônico de varredura (Figura 7). As amostras foram fixadas em um suporte e submetidas a um banho de platina, pelo técnico responsável pelo equipamento. Por meio da imagem projetada pelo computador, pôde-se observar e mensurar a estrutura do biofilme formado no canal de ar/água, conforme ilustrado na Figura 8, validando, assim, o método de visualização do biofilme em superfícies de politetrafluoretileno, pela microscopia eletrônica de varredura. Não foi observada a presença de biofilme nas amostras do canal de sucção/biópsia.

Figura 8. Visualização e espessura do biofilme do canal de ar/água. Laboratório de Caracterização Tecnológica do Departamento de Engenharia de Minas e Energia da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, 2007.

No momento em que foram encaminhados os corpos amostrais desta pesquisa para a análise, o Laboratório de Caracterização Tecnológica do Departamento de Engenharia de Minas e Petróleo da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, havia adquirido um microscópio de melhor qualidade que permitiu adequada visualização de toda a superfície da amostra, sem preparo prévio. No entanto, optou-se em manter a descrição do método para o preparo das amostras como contribuição para outras pesquisas.

4.4 MATERIAL

Como corpos amostrais, foram utilizados tubos com revestimento interno de politetrafluoretileno (teflon®), matéria prima que compõe os canais originais dos endoscópios, com 1,20 m de comprimento, novos,

transparentes, com diâmetro interno de 2,8 mm, para simular o canal de sucção/biópsia do endoscópio

A escolha em executar o experimento simulando esse canal deve-se ao fato deste manter maior contato com matéria orgânica durante a endoscopia e, segundo pesquisas o *bioburden* em gastroscópios após o uso foi de $7,0 \times 10^9$ (VICHERY, PAJKOS e COSSART, 2004; CHU, McALISTER e ANTONOPLOS, 1998). *A priori*, no planejamento do estudo, seriam utilizados os canais de sucção/biópsia originais das empresas credenciadas que comercializam esses materiais. Entretanto, devido a um fator interveniente – falta de disponibilidade para comercialização, o que prejudicaria o cronograma da pesquisa – foram obtidos tubos de uma empresa produtora de teflon®, que possui licença da marca Dupont® para produzir esse tipo de material, respeitando as diretrizes de possuir tamanho de lúmen e matéria prima de teflon® iguais aos originais. Para garantir a similaridade dos tubos que foram produzidos para esta pesquisa, as amostras foram submetidas à análise da composição química, através da microscopia eletrônica de varredura, que confirmou a similaridade aos originais, ou seja, apresentam o elemento flúor como principal componente químico (Figuras 9, 10 e 11).

Figura 9. Composição química do canal de sucção/biópsia, marca Olympus®. São Paulo, HU-USP, 2009

Figura 10. Composição química do canal de sucção/biópsia, marca Pentax® São Paulo, HU-USP, 2009

Figura 11. Composição química do canal de sucção/biópsia, da marca Dupont® utilizado nos experimentos. São Paulo, HU-USP, 2009

Teflon® é uma marca comercial, registrada pela DuPont®, e corresponde ao polímero denominado politetrafluoretileno (PTFE), descoberto por Roy J. Plunkett em 1938. É um produto similar ao polietileno, no qual os átomos de hidrogênio foram substituídos pelos átomos de flúor. O PTFE é uma substância praticamente inerte, que costuma não reagir com outras substâncias, é impermeável, tem baixa toxicidade, baixo coeficiente de atrito, baixa aderência, e por ser bem aceito pelo corpo humano, é usado na elaboração de próteses (WIKIPÉDIA, 2008). Apesar de todas essas propriedades favorecerem seu uso, o PTFE possui uma superfície

hidrofóbica, isto é, não consegue ser molhado pela água, característica esta que origina forças de interação da superfície com os microrganismos, favorecendo a sua adesão (VICKERY, PAJKOS e COSSART, 2004).

4.4.1 Cálculo do tamanho da amostra

O tamanho da amostra foi calculado com ajuda de um profissional estatístico, que estabeleceu uma probabilidade de 99,98% de se poder afirmar que há diferença entre os produtos químicos, utilizados no processo de desinfecção dos endoscópios, na remoção do biofilme. Assim, estabeleceu-se um total de 70 corpos amostrais, independentes entre si. Como se optou em testar cinco métodos de desinfecção, dividiu-se o total de 70 em 14 corpos amostrais para cada método de processamento. Cada um dos 14 corpos amostrais foi dividido em três segmentos, que representaram o início, meio e fim de cada tubo, totalizando 42 segmentos amostrais que foram submetidos a cada um dos métodos de processamento (12).

Para o controle positivo, um corpo amostral foi contaminado não sendo realizada a limpeza e desinfecção deste. Um outro tubo, novo, limpo, foi submetido ao processo de esterilização em autoclave a vapor úmido, representando o controle negativo.

Figura 12. Esquema dos métodos empregados para o processamento dos corpos amostrais contaminados com biofilme como o desafio

4.5 PROCEDIMENTO PARA A COLETA DE DADOS

4.5.1 Inóculo

Como microrganismo capaz de produzir biofilme nos lúmens dos corpos amostrais, foi escolhido a bactéria *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), obtida do estoque de culturas do Laboratório de Microbiologia do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo.

A *Pseudomonas aeruginosa* é um bacilo Gram negativo, não fermentador, encontrado em vários ambientes como o solo, a água, os vegetais, os animais e os alimentos. É um importante agente de infecção hospitalar, principalmente em indivíduos imunodeprimidos. Quando presente no corpo humano, prefere locais úmidos como o períneo, axilas e ouvido. Segundo os autores, o ser humano pode ser um portador normal desse microrganismo, com taxas de colonização que variam de 0% a 2% na pele; 0% a 3% na mucosa nasal; 0% a 6% na garganta e 2% a 24% nas fezes. A *Pseudomonas aeruginosa* pode ser encontrada em flores, verduras, materiais respiratórios, torneiras, chuveiros, endoscópios, entre outros. É um microrganismo que apresenta qualidades múltiplas e variadas, pois cresce em meios simples, em temperaturas que variam de 4°C a 42°C, necessita de poucos nutrientes para sobreviver e forma biofilme (LINCOPAN e TRABULSI, 2008).

A bactéria sintetiza o alginato - um polissacarídeo responsável pela formação de uma matriz hidrofóbica que prende as bactérias a uma superfície o que constitui a matriz exopolissacarídea. Tem sido causa de contaminação de endoscópios relacionada à transmissão de infecção após colangiopancreatografia retrógrada. (FRASER et al. 2004, RANJAN et al., 2005, BISSET et al. 2006, MACHADO et al., 2006, BALSAMO et al., 2008).

As *Pseudomonas spp* são bactérias mais frequentemente associadas à contaminação de desinfetantes devido a sua habilidade em permanecer viável ou crescer em soluções diluídas; apresentam uma versatilidade nutricional e uma membrana externa que constitui uma efetiva barreira contra a passagem dos germicidas (RUTALA e WEBER, 2008).

Harrison-Balestra e seus colaboradores (2003), estudando o tempo de crescimento de biofilme da *Pseudomonas aeruginosa*, isolada de secreção de uma ferida crônica, observaram que, em três horas, a bactéria havia aderido à superfície e, em cinco horas, verificou-se a presença da matriz de exopolissacarídeos. Nesse estudo justificam a utilização de uma concentração de 10^5 UFC por ser esta a quantidade freqüentemente usada para definir a presença de infecção.

A *Pseudomonas aeruginosa* foi repicada em placa de ágar *McConkey* no dia anterior ao preparo da suspensão. Na data do experimento, preparou-se uma suspensão com 1×10^6 unidades formadoras de colônias por mililitro desse microrganismo (UFC/mL), em nutriente TSB (caldo peptona de caseína-peptona de farinha de soja) a 10% (3 gramas de TSB diluídas em 1 litro de água destilada), com auxílio do colorímetro (Figura 13). Esse equipamento faz parte do sistema automatizado denominado Vitek® da *Biomérie*, que tem como função a identificação de bactérias e leveduras e testes de sensibilidade. No Manual da VITEK (2003, p.3-4), consta que o colorímetro “é um fotocolorímetro de filtros de feixe único com um filtro de 450-nm”, utilizado para indicar a concentração de microrganismos de uma solução através da turvação do meio, equivalente à escala de *Mac Farland*, precisando a faixa vermelha como indicativa de que a suspensão de microrganismo contém a concentração desejada (Figuras 14 e 15).

Para se calcular a quantidade de suspensão que deveria ser introduzida em cada lúmen do corpo amostral, foi calculado o volume interno em relação ao comprimento, obtendo-se como resultado cerca de oito mililitros para cada tubo.

Figura 13. Colorímetro

Figura 14. Coleta da *Pseudomonas aeruginosa* da placa de cultura

Figura 15. Faixa vermelha indicando a concentração do inóculo

4.5.2 Formação do biofilme nos corpos amostrais

Os 70 corpos amostrais, novos, foram previamente submetidos a limpeza manual com água e detergente neutro e secagem. Nas extremidades de cada tubo foi conectado um segmento de silicone, de aproximadamente três centímetros de comprimento, envolto em papel Kraft e fixado com fita adesiva. Esse conjunto foi encaminhado à esterilização em autoclave a vapor, embalado em papel grau cirúrgico, a uma temperatura de 134 graus por 5 minutos (Anexos 1 e 2).

Para a formação do biofilme, foi montado um sistema experimental (Figura 16 e Apêndice A) com os seguintes materiais: frascos para reagentes do tipo “Schoot” de 2 litros com tampa, extensões de policloreto de vinila (PVC) e de silicone, clampes e um filtro de 0,2 micras.

Figura 16. Fotografia do modelo experimental utilizado para a formação do biofilme.

Os experimentos foram realizados em um dia da semana, em 14 corpos amostrais de cada vez. Assim, construíram-se dois sistemas, pois o volume dos frascos comporta apenas um total de oito corpos amostrais (sendo um para o grupo-controle), além do filtro de 0,2 micras para passagem do ar no sistema. Essa sistemática foi repetida por várias semanas, até que todos os métodos de desinfecção propostos na pesquisa

tivessem sido realizados nos 70 corpos amostrais estabelecidos para este estudo.

Foram introduzidas oito extensões de PVC nos oito orifícios existentes em cada tampa e estas foram fixadas à tampa com cola tipo *epóxi* Araldite® *rapide*. Esse conjunto de peças foi esterilizado em autoclave a vapor, a uma temperatura de 134 graus por 5 minutos.

Foi preparada a solução com TSB a 10% (conforme descrito anteriormente) em vidros de dois litros esterilizados em autoclave a vapor, a 121 graus por 15 minutos, conforme orientação do fabricante.

No dia do experimento, o inóculo de *Pseudomonas aeruginosa* 10^6 UFC/mL foi preparado e imediatamente encaminhado ao ICB, sendo introduzido cerca de oito mililitros em cada corpo amostral, com auxílio de uma seringa esterilizada, utilizando-se de técnica asséptica próximo ao bico de Bunsen. Após a contaminação dos corpos amostrais, as extremidades foram ligadas, uma à outra, em forma de círculo, e deixadas em estufa a temperatura de 37 graus Celsius por 1 hora. Esse procedimento proporciona a interação do microrganismos com a superfície dos corpos amostrais (MURGA, MILLER e DONLAN, 2001)

Sempre sob técnica asséptica, próximo ao bico de Bunsen, as extremidades das extensões de PVC foram cuidadosamente introduzidas no meio nutriente e a tampa foi rosqueada no bocal do vidro. A proteção das outras extremidades das extensões de PVC foi removida e estas foram totalmente preenchidas com o nutriente, com o auxílio de uma seringa esterilizada de 20 ml, de forma a evitar a formação de bolhas. Em uma extremidade da extensão, foi conectado o filtro.

Após o tempo estabelecido de uma hora, retiraram-se os 14 corpos amostrais da estufa e estes foram sendo conectados, um a um, nas extensões de PVC. Todo o sistema foi montado próximo a um bico de Bunsen, a fim de evitar a contaminação com microrganismos do meio ambiente. Os clampes foram montados em fragmentos de PVC que foram conectados às extensões para o controle do gotejamento do nutriente.

Na oitava extensão (de comprimento menor) de cada tampa que serviu como respiro, foi instalado o filtro com a finalidade de filtrar o ar, prevenindo a contaminação externa do nutriente (TSB).

Os clampes foram abertos, um a um, e o nutriente foi escoando pelas extensões de PVC, passando pelos corpos amostrais que continham o inóculo até atingir a extremidade distal de todo o sistema, permitindo um fluxo lento e constante, por seis horas. A escolha deste período de seis horas foi feita para simular o tempo de uso de um endoscópio, em ambiente hospitalar, que funciona em plantão de seis horas. Após esse período, os clampes foram sendo fechados, um a um, os corpos amostrais retirados do sistema e suas extremidades conectadas em forma de círculo para serem transportadas ao Serviço de Endoscopia do HU-USP, iniciando-se assim a etapa do processamento.

4.5.3 Processamento dos corpos amostrais

A pesquisadora submeteu os corpos amostrais contaminados aos processos de limpeza e desinfecção manual. O processo de desinfecção automatizada seguiu o protocolo estabelecido pelo fabricante das máquinas. Para submeter os corpos amostrais à desinfecção automatizada, foi criado um protótipo que permitiu o adequado encaixe do canal nas conexões da máquina, garantindo o contato do desinfetante nos lúmens internos dos corpos amostrais. Tanto a limpeza, quanto a desinfecção, foram realizadas de acordo com as recomendações do Manual de Processamento de Endoscópios da SOBEEG (MULLER, GRAZIANO e HOEFEL, 2006), reconhecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária que implantou esse em nível nacional, e estabelece os seguintes passos:

- Vestir óculos de proteção, máscara, luva e avental;
- Aspirar detergente enzimático, através do corpo amostral até preencher todo o lúmen, com a ajuda de uma seringa de 10 ml, para simular a pré-limpeza realizada ainda dentro da sala de exames;

- Lavar o corpo amostral externamente com água e detergente enzimático com ajuda de esponja e enxaguá-lo;
- Injetar o detergente enzimático em cada corpo amostral com ajuda da seringa de 10 ml por duas vezes;
- Proceder à limpeza com uso de escova própria (marca Olympus®) e introduzi-la até a saída na porção distal;
- Limpar a escova de limpeza a cada saída para evitar o retorno de resíduo;
- Repetir essas duas etapas por duas vezes;
- Enxaguar o corpo amostral e o lúmen em água corrente, com auxílio da pistola de água;
- Secar o tubo internamente com auxílio da pistola de ar comprimido medicinal e externamente com pano limpo, para evitar a diluição do desinfetante;
- Imergir o corpo amostral no desinfetante teste preenchendo todo o lúmen;
- Aguardar o tempo de desinfecção recomendado de cada fabricante;
- Após, retirar o corpo amostral da solução injetando ar no canal para retirar a solução desinfetante;
- Proceder ao enxágüe com água da torneira externamente e internamente com o auxílio da pistola de água;
- Secar o tubo internamente com ar comprimido medicinal e externamente com auxílio de pano limpo

Na desinfecção manual, os corpos amostrais foram imersos no desinfetante teste e os lúmens preenchidos com auxílio de uma seringa estéril de 10 ml. Manteve-se o tempo de desinfecção estabelecido pelos fabricantes. Após essa etapa, o corpo amostral foi retirado da solução, injetando-se ar no canal para remover o desinfetante. O enxágüe foi realizado interna e externamente com água corrente e com auxílio da pistola

d'água. A secagem interna ocorreu com ar comprimido medicinal e a externa com auxílio de pano limpo.

No processamento automático, as etapas de limpeza descritas foram realizadas previamente. No dia do experimento, o pesquisador preencheu os recipientes com detergente enzimático e com desinfetante. Os 14 corpos amostrais foram conectados, um a um, no orifício de entrada do canal de sucção/biópsia do protótipo e o ciclo da máquina foi iniciado (Figuras 17 e 18 e Apêndice B).

Figura 17. Protótipo do endoscópio

Figura 18. Visualização do canal de sucção/biópsia

Ao final do processo, as etapas de secagem dos corpos amostrais seguiram como descrito, com exceção de uma máquina que realizou a secagem automaticamente.

Para o processamento dos corpos amostrais, foi utilizada a área física do Serviço de Endoscopia do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, que possui locais específicos para os processos de limpeza e de desinfecção dos endoscópios. A etapa da limpeza propriamente dita, enxágüe e secagem é realizada em uma área e, em outra área física, ocorre a imersão do endoscópio no produto desinfetante, enxágüe e secagem.

Ao término do processo de limpeza e desinfecção, foram extraídos três segmentos, de aproximadamente três milímetros, que representaram o início, o meio e o fim do corpo amostral (Figura 19)

Figura 19. Segmento extraído do corpo amostral após o processamento

Os materiais foram encaminhados para o Laboratório de Caracterização Tecnológica do Departamento de Engenharia de Minas e Petróleo da Escola Politécnica da USP, juntamente com mais seis segmentos correspondentes ao grupo-controle positivo e negativo. No laboratório, todos os segmentos foram cobertos com platina em alto vácuo e guardados em dessecador até serem examinados pela microscopia eletrônica de varredura.

4.5.4 Métodos e produtos químicos utilizados para a limpeza e desinfecção dos corpos amostrais

Optou-se em utilizar o detergente enzimático da procedência Rioquímica pelo baixo custo e ampla distribuição para todo o território nacional. O detergente enzimático é um produto classificado como de risco um e, portanto, isento de registro junto aos órgãos competente bastando à notificação do produto junto a Anvisa. De acordo com a ficha técnica do produto, ele é composto por três enzimas: a protease, amilase e lipase.

Quanto aos desinfetantes, foram utilizados o glutaraldeído a 2%, solução básica (Cidex® - Jonhson&Jonhson) no método manual e automatizado, o ácido peracético com concentração de 0,09% a 0,15% (Anioxyde 1000® da Anios) no método manual, o sistema Steris® (concentrado esterilizante de ácido peracético, automatizado), e a água eletrolítica ácida em máquina automatizada (Cleantop®). Outros desinfetantes não foram testados por serem contra indicados por alguns

fabricantes de endoscópios ou por não estarem disponíveis no Brasil no momento desta pesquisa.

Para o processamento manual, foram adquiridos recipientes de plástico com tampa, exclusivos para cada produto químico. Os corpos amostrais foram enxaguados com a água da torneira do setor de Endoscopia. A água da Instituição é analisada a cada seis meses. Quando as processadoras automáticas foram utilizadas, seus representantes instalaram filtros de retenção de bactérias para a etapa de enxágüe.

Neste estudo, utilizamos a reprocessadora da empresa Lifemed, denominada Endolav® para testar o glutaraldeído a 2% em máquina automatizada. A reprocessadora apresenta a vantagem de executar diversas fases do processamento de acordo com a necessidade do usuário, como o teste de infiltração, um ciclo de limpeza com detergente enzimático, enxágüe, secagem após o enxágüe, a etapa de desinfecção, novo enxágüe e a secagem final do endoscópio. Optou-se em programar a máquina incluindo todas as fases descritas e o tempo total do processamento foi de 30 minutos.

O sistema *Steris*® (concentrado esterilizante de ácido peracético) foi desenvolvido para ser utilizado somente na processadora comercializada pela *Steris Corporation*®, denominada *Steris System*®. A máquina dilui e mistura esse concentrado até atingir uma concentração final de 0,2% de ácido peracético, com um pH neutro. O ciclo é de aproximadamente 30 minutos e atinge uma temperatura que varia de 50 a 55° Celsius. A máquina executa múltiplos enxágües, mas não realiza a secagem do endoscópio.

A água eletrolítica ácida é gerada na processadora *Cleantop*® e operou com os seguintes parâmetros (conforme padronização do fabricante): potencial de óxido-redução > 1000 mV, pH < 2,7 e o tempo de desinfecção foi de sete minutos, incluindo o enxágüe.

4.6 APRESENTAÇÃO E TRATAMENTO DOS DADOS

Os resultados obtidos na coleta de dados foram apresentados em Tabelas e Figuras, segundo a frequência absoluta e relativa, usando o programa Microsoft Excel®. Foi utilizado o teste da razão de verossimilhança (Abramson, 2006) para comparar, entre si, os segmentos representativos da porção inicial, do meio e da porção final dos corpos amostrais em cada método de desinfecção, a fim de verificar se havia diferença estatisticamente significativa quanto a localização do fragmento. Esse teste permitiu, também, a comparação entre os cinco métodos propostos neste estudo para responder ao objetivo específico da pesquisa. Em todas as comparações foi estabelecido um nível de significância de 5% (ou $p = 0,05$), e um poder estatístico de 95%.

5. RESULTADOS

De cada um dos 70 corpos amostrais de 1,20 m de comprimento, foram extraídos três segmentos de aproximadamente três milímetros de comprimento, sendo um segmento representativo do início do corpo amostral, um do meio e um do seu final, totalizando 42 segmentos para cada método testado. A opção em retirar três segmentos está justificada para aumentar a probabilidade de detectar a presença do biofilme.

Em todos os métodos, foi realizado o grupo controle. O biofilme foi gerado de forma sistemática e, portanto, considera-se que apresentava um padrão de crescimento semelhante, como demonstrado nas Figuras de 20 a 24 que representam cada um dos métodos estudados. Verificou-se que foi gerado um biofilme de espessura fina, podendo-se visualizar a formação da camada de EPS sobre e entre os microrganismos. Em vista disso, deduz-se que o desafio foi semelhante para os cinco métodos investigados nesta pesquisa.

Figura 20. Visualização do biofilme formado como teste desafio para o processamento manual com ácido peracético de 0,09 a 0,15%

Figura 21. Visualização do biofilme formado como teste desafio para o processamento com o sistema Steris®

Figura 22. Visualização do biofilme formado como teste desafio para o processamento manual com glutaraldeído 2%

Figura 23. Visualização do biofilme formado como teste desafio para o processamento automatizado com glutaraldeído 2%

Figura 24. Visualização do biofilme formado como teste desafio para o processamento com a água eletrolítica ácida

No início dos experimentos não se registrou a localização dos três segmentos que faziam parte de cada corpo amostral, ou seja, se eram do início, do meio ou do fim de cada um dos respectivos corpos amostrais, mas a partir do penúltimo método estudado passou-se a realizar esse controle. Verificou-se que a presença do biofilme em cada segmento dos corpos amostrais foi casual e se distribuiu aleatoriamente

Nesta investigação, o biofilme foi definido como a presença de bactérias envoltas pela camada de EPS ou aderidas entre si por esta camada. Considerou-se ausência de biofilme em duas situações: falta da camada de EPS (visualizaram-se somente bactérias) ou inexistência de bactérias (visualizou-se somente a camada de EPS).

A apresentação dos resultados está organizada em cinco Tabelas distintas que correspondem aos cinco métodos de desinfecção utilizados no processamento de endoscópios, propostos nesta pesquisa, como segue:

1. limpeza manual e desinfecção manual com ácido peracético com concentração de 0,09% a 0,15%;
2. limpeza manual e desinfecção automatizada com ácido peracético a 35% (concentrado esterilizante – sistema *Steris®*);
3. limpeza manual e desinfecção manual com glutaraldeído a 2%;
4. limpeza manual e desinfecção automatizada com glutaraldeído a 2%;
5. limpeza manual e desinfecção automatizada com água eletrolítica ácida.

Foram também elaborados Figuras correspondentes a cada Tabela, para melhor visualização dos resultados obtidos.

A Tabela 1 refere-se aos segmentos representativos dos 14 corpos amostrais que foram submetidos à limpeza manual e à desinfecção manual com ácido peracético a 0,09%, por 10 minutos.

Tabela 1. Distribuição da freqüência da presença de biofilme após a limpeza manual e desinfecção manual com ácido peracético com concentração de 0,09% a 0,15%. São Paulo, HU-USP, 2009.

Segmentos dos corpos amostrais	Biofilme					
	Presença	%	Ausência	%	total	%
Início	10	71,43	4	28,57	14	100
Meio	12	85,71	2	14,29	14	100
Fim	10	71,43	4	28,57	14	100
Total	32	76,19	10	23,81	42	100

Figura 25. Presença de biofilme nos diferentes segmentos extraídos dos 14 corpos amostrais após a limpeza manual e desinfecção manual com ácido peracético com concentração de 0,09% a 0,15%. São Paulo, HU-USP, 2009.

A Tabela 1 e Figura 25 indicam que esse método não foi suficiente para remover grande parte do biofilme presente nos segmentos retirados dos corpos amostrais, estando presentes em 76,19%. Comparando-se a localização do biofilme - início, meio e fim - observou-se

que não existem diferenças significativas entre esses fragmentos (início x meio, $p = 0,802$; início x fim, $p = 0,999$; meio x fim, $p = 0,802$) e que permite afirmar que o biofilme permaneceu aderido igualmente entre as diferentes porções dos corpos amostrais.

A Figura 26 ilustra um exemplo de biofilme que permaneceu nos corpos amostrais após a limpeza e desinfecção pelo método em análise. Nesse método, apenas dois segmentos realmente estavam sem biofilmes e resíduos (células isoladas ou a matriz de exopolissacarídeos) (Figura 27). Alguns apresentavam fragmentos da camada de EPS (Figura 28) ou células bacterianas sem o EPS (Figura 29).

Figura 26. Visualização do biofilme após a desinfecção com ácido peracético de 0,09% a 0,15%.

Figura 27. Visualização do segmento sem biofilme e resíduos após a desinfecção com ácido peracético de 0,09% a 0,15%.

Figura 28. Visualização do fragmento da camada de EPS após a desinfecção com ácido peracético de 0,09% a 0,15%.

Figura 29. Visualização de células bacterianas sem EPS após a desinfecção com ácido peracético de 0,09% a 0,15%.

A Tabela 2 e a Figura 30 apresentam resultados dos segmentos representativos dos 14 corpos amostrais que foram submetidos à limpeza manual e à desinfecção automatizada com ácido peracético a 35% (concentrado esterilizante - sistema *Steris®*)

Tabela 2. Distribuição da frequência da presença de biofilme após a limpeza manual e desinfecção automatizada com o sistema *Steris®* (concentrado esterilizante de ácido peracético), São Paulo, HU-USP, 2009.

Segmentos dos corpos amostrais	Biofilme					
	Presença	%	Ausência	%	total	%
Início	5	35,71	9	64,29	14	100
Meio	2	14,28	12	85,72	14	100
Fim	3	21,42	11	78,58	14	100
Total	10	23,80	32	76,20	42	100

Figura 30. Presença de biofilme nos diferentes segmentos extraídos dos 14 corpos amostrais após a limpeza manual e desinfecção automatizada com o sistema *Steris®* (concentrado esterilizante STERIS 20), São Paulo, HU-USP, 2009.

Em relação à Tabela 2 e Figura 30, a presença de biofilme distribuiu-se igualmente não havendo diferenças estatisticamente significantes quanto a presença do biofilme nos diferentes segmentos dos

corpos amostrais (início x meio, $p = 0,487$; início x fim, $p = 0,222$; meio x fim, $p = 0,487$).

As Figuras 31, 32 e 33 ilustram os resultados descritos na Figura 30. A Figura 31 representa a presença de biofilme que não foi removido, enquanto que as Figuras 32 e 33 demonstram o segmento limpo e o segmento que apresentou fragmentos da camada de exopolissacarídeos, respectivamente. Nesse método, nenhum segmento apresentou células bacterianas sem a presença do EPS. Com o uso dessa processadora, obteve-se uma proporção de 28 segmentos limpos em 42 unidades amostrais (66,66%).

Figura 31. Visualização do biofilme após a desinfecção com o sistema *Steris®*

Figura 32. Visualização da superfície sem biofilme ou resíduos, após a desinfecção com o sistema *Steris®*

Figura 33. Visualização do fragmento de EPS após a desinfecção com o sistema *Steris®*

A Tabela 3 e a Figura 34 a seguir, apresentam os segmentos representativos dos 14 corpos amostrais que foram submetidos à limpeza manual e à desinfecção manual com glutaraldeído a 2%.

Tabela 3. Distribuição da frequência da presença de biofilme após a limpeza manual e desinfecção manual com glutaraldeído a 2%, São Paulo, HU-USP, 2009.

Segmentos dos corpos amostrais	Biofilme					
	Presença	%	Ausência	%	total	%
Início	14	100,00	0	0,00	14	100
Meio	11	78,57	3	21,42	14	100
Fim	5	35,71	9	64,28	14	100
Total	30	71,42	12	28,58	42	100

Figura 34. Presença de biofilme nos diferentes segmentos extraídos dos 14 corpos amostrais após a limpeza manual e desinfecção manual com glutaraldeído a 2%, São Paulo, HU-USP, 2008.

Verifica-se, na Tabela 3 e na Figura 34, que a desinfecção manual com glutaraldeído a 2%, não foi capaz de remover todo o biofilme dos 42 segmentos analisados. A análise estatística demonstrou que houve diferença significativa ao se comparar a presença do biofilme entre os segmentos da porção inicial com a final ($p < 0,001$), demonstrando que o biofilme permaneceu em maior quantidade na porção inicial do corpo amostral. Esse foi um resultado não esperado, pois, conforme o racional teórico, o atrito da escova no momento da fricção, na porção inicial possivelmente foi maior na etapa de limpeza. Quando se comparou o

fragmento inicial com o segmento do meio, observou-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre eles ($p = 0,067$).

Entre os segmentos que representam o meio e o final dos corpos amostrais, também houve diferença estatisticamente significativa na permanência do biofilme nessas superfícies. O biofilme permaneceu aderido, em maior quantidade, na porção do meio dos segmentos amostrais. ($p = 0,039$).

As Figuras 35a e 35b ilustram alguns resultados visualizados nas amostras estudadas. Em apenas uma unidade amostral havia fragmento da camada de EPS (Figura 36) e, em somente 11 segmentos analisados (11/42), a superfície encontrava-se sem biofilme e resíduos (Figura 37). Não foi visualizada bactéria aderida à superfície sem o EPS.

Figura 35a. Visualização do biofilme após a desinfecção manual com glutaraldeído 2%

Figura 35b. Visualização do biofilme após a desinfecção manual com glutaraldeído 2%

Figura 36. Visualização do fragmento de EPS após a desinfecção manual com glutaraldeído 2%

Figura 37. Visualização da superfície sem biofilme ou resíduos, após a desinfecção manual com glutaraldeído 2%

A Tabela 4 sintetiza os resultados dos 14 corpos amostrais que foram submetidos à limpeza manual e desinfecção automatizada com glutaraldeído a 2%.

Tabela 4. Distribuição da frequência da presença de biofilme após a limpeza manual e desinfecção automatizada com glutaraldeído a 2%. São Paulo, HU-USP, 2009.

Segmentos dos corpos amostrais	Biofilme					
	Presença	%	Ausência	%	total	%
Início	1	7,14	13	92,86	14	100
Meio	1	7,14	13	92,86	14	100
Fim	0	-	14	-	14	-
Total	2	4,76	40	95,24	42

Figura 38. Presença de biofilme nos diferentes segmentos extraídos dos 14 corpos amostrais após a limpeza manual e desinfecção automatizada com glutaraldeído a 2%, São Paulo, HU-USP, 2009.

Observa-se, na Tabela 4 e Figura 38, resultados bastante satisfatórios na remoção do biofilme. O processamento removeu quase a totalidade do inóculo desafio dos segmentos representativos dos corpos amostrais. Neste, não houve diferenças significativas ao comparar a presença do biofilme nos três segmentos representativos dos corpos amostrais (início x meio, $p = 0,999$; início x fim, $p = 0,466$; meio x fim, $p = 0,466$). Apesar de terem sido visualizados biofilmes, o método em questão

foi o melhor para remover biofilme, comparativamente aos métodos anteriores ($p < 0,05$).

A Figura 39 ilustra um exemplo do biofilme visualizado nas unidades amostrais. Nas outras Figuras, visualizam-se fragmentos da camada de EPS e células bacterianas sem a camada de EPS (Figuras 40 e 41). A Figura 42 representa um dos oito segmentos que encontravam-se limpos. Apesar desse método ter removido proporções elevadas de biofilme, somente 19,04% (8/42) dos fragmentos encontravam-se realmente limpos.

Figura 39. Visualização do biofilme após a desinfecção automatizada com glutaraldeído 2%

Figura 40. Visualização do fragmento de EPS após a desinfecção automatizada com glutaraldeído 2%

Figura 41. Visualização de células bacterianas sem o EPS após a desinfecção automatizada com glutaraldeído 2%

Figura 42. Visualização da superfície sem biofilme ou resíduos após a desinfecção automatizada com glutaraldeído 2%

Como descrito no capítulo material e método, no processamento automatizado com glutaraldeído a 2% e no próximo (água eletrolítica ácida), foi possível registrar os segmentos do início, meio e fim de cada respectivo corpo amostral, a fim de verificar se a presença de biofilme seguia uma

distribuição lógica, ou seja, quando o biofilme permanecia aderido em um determinado segmento do corpo amostral, implicava na presença também em outros segmentos do mesmo corpo amostral, devido ao não alcance da escova ou uma menor força de fricção na superfície dos tubos longos.

Constata-se no Quadro 1 que o biofilme foi removido em quase todos os segmentos dos corpos amostrais, permanecendo apenas no segmento inicial do sétimo corpo amostral e no segmento do meio do décimo corpo amostral. Apesar da conhecida propriedade do glutaraldeído em fixar a matéria orgânica, observa-se que nesse processamento, essa afirmação não foi constatada.

Quadro 1. Distribuição da presença de biofilme nos diferentes segmentos dos respectivos 14 corpos amostrais submetidos à desinfecção automatizada com glutaraldeído a 2%. São Paulo, HU-USP, 2009.

Corpo amostral	Presença de biofilme		
	Início	Meio	Fim
1	não	não	não
2	não	não	não
3	não	não	não
4	não	não	não
5	não	não	não
6	não	não	não
7	sim	não	não
8	não	não	não
9	não	não	não
10	não	sim	não
11	não	não	não
12	não	não	não
13	não	não	não
14	não	não	não

A Tabela 5 e a Figura 43 apresentam os resultados dos segmentos representativos dos 14 corpos amostrais que foram submetidos à limpeza manual e desinfecção automatizada com água eletrolítica ácida

Tabela 5. Distribuição da frequência da presença de biofilme após a limpeza manual e desinfecção automatizada com água eletrolítica ácida. São Paulo, HU-USP, 2009.

Segmentos dos corpos amostrais	Biofilme					
	Presença	%	Ausência	%	total	%
Início	11	78,57	3	21,43	14	100
Meio	4	28,57	10	71,43	14	100
Fim	10	71,43	4	28,57	14	100
Total	25	59,52	17	40,48	42	100

Figura 43. Presença de biofilme nos diferentes segmentos extraídos dos corpos amostrais após a limpeza manual e desinfecção automatizada com água eletrolítica ácida. São Paulo, HU-USP, 2009.

Constatou-se que houve uma diferença significativa na remoção do biofilme entre os segmentos iniciais e a porção do meio dos corpos amostrais ($p=0,039$). Os outros pares não apresentaram diferenças significativas entre si.

Nesse método também foi possível registrar os três segmentos que faziam parte de cada corpo amostral e, observa-se no Quadro 2, que a presença do biofilme distribuiu-se aleatoriamente nos vários segmentos de um mesmo corpo amostral.

Quadro 2. Distribuição da presença de biofilme nos diferentes segmentos dos 14 corpos amostrais submetidos à desinfecção com água eletrolítica ácida. São Paulo, HU-USP, 2009.

Corpo amostral	Presença de biofilme		
	Início	Meio	Fim
1	sim	não	não
2	sim	não	não
3	sim	sim	sim
4	sim	não	sim
5	sim	não	não
6	sim	sim	sim
7	sim	sim	sim
8	sim	sim	sim
9	não	não	sim
10	não	não	sim
11	sim	não	não
12	sim	não	sim
13	sim	não	sim
14	não	não	sim

As Figuras 44a e 44b representam o biofilme que permaneceu nas unidades amostrais após o processamento com água eletrolítica ácida automatizada. Observa-se que, mesmo nos fragmentos em que a superfície se mostrava mais lisa, houve retenção do biofilme. Constatou-se que os segmentos que não apresentaram biofilme, não se encontravam limpos. Havia inúmeras bactérias isoladas ou em grupos, mas sem a presença da camada de EPS (Figuras 45a e 45b). Na Figuras 46a e 46b verifica-se a presença somente da camada de EPS, sem a presença da bactéria. De fato, nenhum segmento dos corpos amostrais submetidos à desinfecção com água eletrolítica ácida encontrava-se limpo.

Figura 44a. Visualização do biofilme após a desinfecção com água eletrolítica ácida

Figura 44b. Visualização do biofilme após a desinfecção com água eletrolítica ácida

Figura 45a. Visualização de células bacterianas após a desinfecção com água eletrolítica ácida

Figura 45b. Visualização de células bacterianas após a desinfecção com água eletrolítica ácida

Figura 46a. Visualização do fragmento de EPS após a desinfecção com água eletrolítica ácida

Figura 46b Visualização do fragmento de EPS após a desinfecção com água eletrolítica ácida

O Quadro 3 sumariza a distribuição da presença do biofilme nos diferentes segmentos dos corpos amostrais no método de desinfecção automatizada com glutaldeído e no método com água ácida, demonstrando que a permanência do biofilme nos diferentes segmentos distribuiu-se aleatoriamente.

Quadro 3. Distribuição da presença de biofilme nos diferentes segmentos dos corpos amostrais submetidos à desinfecção automatizada com glutaraldeído a 2% e com água eletrolítica ácida, segundo a localização do segmento. São Paulo, HU-USP, 2009.

Segmento amostral	PRESENÇA DE BIOFILME					
	INÍCIO		MEIO		FIM	
	Glutaral.	Água ácida	Glutaral.	Água ácida	Glutaral.	Água ácida
1	não	sim	não	não	não	não
2	não	sim	não	não	não	não
3	não	sim	não	sim	não	sim
4	não	sim	não	não	não	sim
5	não	sim	não	não	não	não
6	não	sim	não	sim	não	sim
7	sim	sim	não	sim	não	sim
8	não	sim	não	sim	não	sim
9	não	não	não	não	não	sim
10	não	não	sim	não	não	sim
11	não	sim	não	não	não	não
12	não	sim	não	não	não	não
13	não	sim	não	não	não	não
14	não	não	não	não	não	não

Com o auxílio da microscopia eletrônica de varredura, pôde-se observar que, **em um mesmo segmento amostral**, havia a presença da camada de EPS em uma extremidade da unidade amostral e na outra extremidade, havia somente células bacterianas (Figuras 47 e 48). Esses achados só foram visualizados no processamento com a água eletrolítica ácida.

Figura 47. Visualização da camada de EPS após a desinfecção com água eletrolítica ácida

Figura 48. Visualização de células bacterianas sem a camada de EPS

A Tabela 6 e a Figura 49 sintetizam os resultados obtidos na presente pesquisa quanto à presença de biofilme e resíduos nos diferentes segmentos dos corpos amostrais, após o processamento com os cinco métodos testados. Constata-se que o biofilme permaneceu aderido em grande parte no método com ácido peracético de 0,09% a 0,15% e em menor proporção na desinfecção automatizada com o glutaraldeído.

Tabela 6. Distribuição da frequência da presença de biofilme e outros resíduos, após a limpeza manual e desinfecção com os diferentes métodos. São Paulo, HU-USP, 2009.

MÉTODO	ÁCIDO PERACÉTICO				GLUTARALDEÍDO				ÁGUA ELETROLÍTICA ÁCIDA	
	Manual [0,09% a 0,15%]		Sistema Steris®		Manual [2%]		Automatizada [2%]			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Sem resíduos	2	4,762	28	66,67	11	26,19	8	19,05	0	0
Biofilme	32	76,19	10	23,81	30	71,43	2	4,762	25	59,52
EPS	2	4,762	4	9,524	1	2,381	30	71,43	3	7,14
Bactéria	6	14,29	0	0	0	0	2	4,762	9	21,43
EPS + Bactéria	0	0	0	0	0	0	0	0	5	11,90
Total	42	100	42	100	42	100	42	100	42	100

Figura 49. Distribuição da frequência dos diferentes segmentos extraídos dos corpos amostrais quanto à presença de biofilme e outros resíduos entre os cinco métodos de desinfecção. São Paulo, HU-USP, 2009.

Para responder ao objetivo específico da pesquisa, realizou-se comparações entre os cinco métodos de desinfecção de endoscópios e constatou-se que houve diferenças significativas entre alguns desses, na remoção do biofilme.

Ao comparar-se a desinfecção automatizada com ácido peracético (concentrado esterilizante - sistema *Steris®*) em relação ao método manual com o ácido peracético na concentração de 0,09% a 0,15%, verificou-se que o sistema *Steris®* removeu maior quantidade de biofilme ($p = 0,002$). Este fato também ocorreu ao comparar-se esse método com relação à desinfecção manual com glutaraldeído a 2% ($p = 0,002$). Esse resultado é esperado uma vez que se relata na literatura que o glutaraldeído apresenta a propriedade de fixar matéria orgânica.

Todavia, o uso do glutaraldeído em processadora automatizada, foi o método que removeu quase a totalidade do inóculo desafio dos segmentos representativos dos corpos amostrais. Ao comparar-se com os demais processamentos realizados nesta pesquisa, o glutaraldeído em processadora automatizada foi o método mais eficaz na remoção do biofilme, provavelmente justificado pelo “*double brushing*”, uma vez que o equipamento tem uma fase de limpeza no início de seu ciclo ($p < 0,05$).

O método que se mostrou mais eficaz na remoção de biofilme e outros resíduos constituídos de células bacterianas ou da matriz de exopolissacarídeos, foi o sistema *Steris®*.

Ao comparar-se o processamento da água eletrolítica ácida em relação ao sistema *Steris®*, não obteve-se diferença estatisticamente significativa pelo teste adotado, em que o “p” foi de 0,06, considerado como limítrofe. Mesmo assim, a tendência é afirmar que o sistema *Steris®* obteve melhores resultados, complementando essa afirmação com os dados visuais constatados pela microscopia eletrônica de varredura.

O sistema *Steris®* foi o que eliminou o biofilme, células bacterianas e a camada de EPS em 66,66% (28/42) dos segmentos, seguido do processamento com a máquina automatizada com glutaraldeído, 19,04% (8/42); do ácido peracético manual, 4,76% (2/42) e, por final, a água eletrolítica ácida que não foi capaz de remover os sedimentos, seja biofilme, camada de EPS em fragmentos/filamentos, ou células bacterianas isoladas à superfície.

O método que se mostrou menos eficaz na remoção do biofilme e outros resíduos foi a água eletrolítica ácida.

Quanto à localização dos três segmentos que faziam parte de cada corpo amostral (início/meio/fim), não existem diferenças significativas entre eles no processamento manual com o ácido peracético de 0,09% a 0,15%, no uso do sistema *Steris®* e na desinfecção automatizada com o glutaraldeído a 2%.

A análise estatística demonstrou que o biofilme se manteve mais na porção inicial e do meio do segmento amostral quando comparado à sua porção final ($p < 0,001$ e $p = 0,039$, respectivamente), no método manual com o glutaraldeído a 2%. No caso da desinfecção com água eletrolítica ácida, a porção inicial também foi a que mais conteve o biofilme ($p = 0,039$). Esses achados foram inesperados, uma vez que a escova de limpeza atingiu, com maior facilidade a porção inicial do corpo amostral na etapa de limpeza.

6. DISCUSSÃO

Os resultados desta pesquisa propiciaram a constatação de que as etapas do processamento dos endoscópios flexíveis devem ser revistas, discutidas e constituem-se em um desafio para os órgãos competentes e as instituições de saúde, quer seja nos artefatos utilizados na limpeza manual, na eficácia dos agentes de limpeza, na atividade microbiana dos desinfetantes e, principalmente, na competência de todo esse aparato em remover biofilme.

Este estudo mostrou que a limpeza manual com detergente enzimático e a desinfecção com os produtos usualmente utilizados no país não foram capazes de remover a totalidade dos biofilmes dos corpos amostrais, as células bacterianas e as camadas de EPS que ficaram aderidas às superfícies dos lúmens. Todo o processamento seguiu as etapas preconizadas pelo Manual da Sociedade Brasileira de Enfermagem em Endoscopia Gastrointestinal (2006). Conforme mencionado no capítulo sobre o material e método, na etapa de limpeza, optou-se em utilizar o detergente enzimático composto por três enzimas: amilase, protease e lipase, cujo nome comercial é Ryzime III E® (Rioquímica) e a escova de limpeza de canal, com cerdas de oito milímetros em uma das extremidades, recomendada por fabricantes de endoscópios. Johansen, Falholt e Gram (1997) comentaram que as enzimas podem ser usadas para degradar biofilmes, mas em razão da heterogeneidade da matriz de EPS uma mistura específica de enzimas pode ser necessária para essa etapa.

A água de enxágüe foi a de torneira, potável, proveniente da caixa d'água da Instituição, que é limpa e desinfetada a cada seis meses (anexo 3). Foi utilizada água filtrada quando o processamento ocorreu nas processadoras automáticas de endoscópios e os filtros foram cedidos e instalados pelos responsáveis pelas máquinas. A secagem dos corpos amostrais deu-se através de ar comprimido medicinal (na Instituição há filtros na rede de ar comprimido) para as superfícies internas, e compressas limpas, para as superfícies externas.

Rutala e Weber (2008), Greenwald (2007) e Catalone e Koss (2005) recomendam a rinsagem dos canais com álcool a 70% após cada processamento e não somente antes da guarda dos endoscópios. Cronmiller

e seus colaboradores (1999) demonstraram que a limpeza manual, seguida da imersão do endoscópio em glutaraldeído por 20 minutos, e secagem com álcool, durante um minuto de exposição, foram suficientes para atingir a completa desinfecção de um colonoscópio, após contaminação desafio com 10^7 UFC de *Enterococcus spp.* Afirmaram que o uso do álcool rapidamente seca o colonoscópio, previne a água residual e minimiza a possibilidade de crescimento de microrganismos oportunistas, em serviços de endoscopia onde se utiliza a água da torneira para o enxágüe. Muscarella (2006) mostrou a importância da secagem do endoscópio para minimizar o risco de transmissão de infecção. Afirmou que o álcool a 70% tem duplo valor, pois auxilia a secagem do equipamento e tem ação bactericida, principalmente no caso da *Pseudomonas aeruginosa*, um comum contaminante da água de torneira e que pode multiplicar-se em um ambiente úmido. Foi demonstrada por Alvarado, Stolz e Maki (1991) evidência de redução de infecção hospitalar por *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes submetidos à colangiopancreatografia retrógrada após *flush* manual de todos os canais com álcool isopropílico a 70%.

Contudo, Cooke e Kerry (2007) referem que o *flush* com álcool, realizado manualmente expõe a equipe. Comentam, que há uma falsa suposição que o ar forçado seca adequadamente o lúmen do endoscópio, o que não é verdade. Não há até o momento um equipamento de processamento automático de endoscópio que faça um *flush* com álcool, sugerindo que as equipes dos serviços de endoscopia requeiram dos fabricantes de processadoras automáticas de endoscópios a etapa de rinsagem dos canais, com o álcool.

Alguns germicidas testados na presente investigação necessitavam de ativação prévia, que foi realizada momentos antes do início da etapa de limpeza dos corpos amostrais. Mesmo assim, antes da imersão desses nos produtos desinfetantes, foi realizado o teste com fita para a verificação da concentração do germicida, de acordo com a recomendação de cada fabricante. Os recipientes para cada produto químico foram individualizados e os germicidas foram descartados após o uso. Todas as etapas foram realizadas pelo pesquisador e na fase de formação do biofilme

em laboratório, obteve-se a colaboração de um aluno do laboratório de microbiologia do ICB.

Neste presente estudo foi possível demonstrar o crescimento de biofilme gerado pela *Pseudomonas aeruginosa*, em uma hora e no período de seis horas, em superfícies de teflon®, componente utilizado na fabricação dos canais de ar/água e sucção/biópsia dos endoscópios. A concentração de bactérias foi de 1×10^6 para o teste desafio, preparada momentos antes do ensaio do dia e, segundo a literatura, esse *bioburden* pode ser até mais alto após o uso clínico, dependendo do tipo de matéria orgânica que entrar em contato com a superfície do endoscópio (CHU, MACALISTER e ANTONOPLOS, 1998, ALFA, DEGAGNE e OLSON, 1999, ZUHLSDORF et al. 2002).

Segundo Rutala e Weber (2004), o “*bioburden*” dos endoscópios gastrointestinais, após o uso, varia de 10^5 a 10^{10} UFC sendo os níveis altos encontrados nos canais de sucção. A limpeza tem reduzido o nível de contaminação microbiana de 4 a 6 $\log_{10}$.

Chu, McAlister e Antonoplos (1998), analisando a carga microbiana de 10 colonoscópios imediatamente após o uso (antes da limpeza), recuperaram um *bioburden* que variou de $1,3 \times 10^7$ a $2,0 \times 10^{10}$ UFC nos canais de sucção, identificando os seguintes agentes: *Escherichia coli*, *Bacteróides spp*, *Pseudomonas spp*, *Enterobacter spp*, *Pasteurella spp* e *Klebsiella spp*. Após a limpeza manual e antes da desinfecção, recuperaram $1,3 \times 10^3$ a $4,3 \times 10^5$ UFC, indicando que a limpeza manual reduziu 5 ½ logs de carga microbiana. Os microrganismos isolados nesta etapa foram *Pseudomonas spp*, *Xanthomonas spp* e *Aeromonas spp*. Esses dados demonstram o desafio enfrentado pelo processo de desinfecção.

A pesquisa realizada por Bisset e seus colaboradores (2006), encontrou uma taxa de contaminação de 1,9% em gastroscópios e 1,8% em colonoscópios prontos para o uso, ou seja, após o processamento habitual, evidenciando a presença de *Pseudomonas aeruginosa*, tanto em gastroscópios como nos colonoscópios. Citam que as amostras foram obtidas da superfície interna dos endoscópios e, portanto, é pouco provável que o material tenha sido proveniente da equipe que manipulava o endoscópio. Esses mesmos autores recuperaram de um gastroscópio, após

o processamento, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococo spp*, e *Staphylococcus aureus metilino* resistente, que havia sido utilizado em um paciente com infecção por esses microrganismos. Em três colonoscópios, também foram recuperados a *Pseudomonas aeruginosa* e outros microrganismos Gram negativos. A análise com regressão linear indicou que o número de vezes que o endoscópio estava contaminado foi diretamente proporcional ao número de ocasiões que o equipamento foi utilizado. Os autores concluem que esses achados refletem a capacidade de sobrevivência do microrganismo ao processo de limpeza e desinfecção. Destacam que em 40% dos endoscópios havia presença de ácidos nucléicos, indicando a existência de microrganismos provenientes de biofilmes. Todavia, nenhum dos pacientes apresentou alguma complicação após um mês da realização do procedimento.

A pesquisa realizada por Machado e seus colaboradores (2006), em dois hospitais do Brasil, revelou que a *Pseudomonas aeruginosa* foi o microrganismo mais freqüentemente isolado das amostras dos endoscópios. Os autores comentam que esse microrganismo apresenta capacidade em resistir a enzimas e detergentes catiônicos e alcalinos, além da habilidade em formar biofilme.

Todos esses estudos fortaleceram a decisão de ter escolhido esse microrganismo para o teste-desafio, pois freqüentemente é isolado de endoscópios e apresenta a capacidade de formar biofilme, independente da oferta de nutrientes disponíveis no ambiente.

Pajkos, Vickery e Cossart (2004) bem como Vickery, Pajkos e Cossart (2004) referiram que as bactérias rapidamente aderem em superfícies úmidas e formam colônias organizadas de células circundadas por uma matriz composta por exopolissacarídeos que auxiliam na adesão da bactéria à superfície e entre si, referindo que esse modo de organização denomina-se biofilme. Citam que esse modo de organização denomina-se biofilme. O biofilme pode ser formado em muitos dispositivos utilizados na assistência à saúde e é bem conhecida a sua presença em cateteres venosos centrais e cateteres urinários. Quando instalado, é de difícil remoção, mas a limpeza mecânica com escovação é geralmente eficaz.

Entretanto, alguns desinfetantes não são capazes de remover o biofilme, outros sim.

Vickery, Pajkos e Cossart (2004) referiram ter encontrado mais do que 2% de taxa de contaminação bacteriana em endoscópios prontos para o uso, a despeito da boa aderência aos guias de processamento. Nessas circunstâncias afirmam que falhas na desinfecção dos endoscópios podem ser devidas à formação de biofilme na superfície interna dos canais. Os autores citados descrevem que encontraram biofilme em 13 canais de biópsia e em 12 canais auxiliares de endoscópios, mas que esses dados não foram publicados.

Em uma análise conjunta da presença de biofilme em todos os corpos amostrais submetidos aos cinco métodos de desinfecção escolhidos para a presente investigação (totalizando 210 segmentos), obteve-se que em 47,14% (99/210) desses, o biofilme permaneceu aderido, ou seja, quase em 50% dos corpos amostrais não foi possível remover o biofilme.

Citando ainda o estudo desenvolvido por Vickery, Pajkos e Cossart (2004) os autores elaboraram um sistema para gerar biofilme em 16 horas, utilizando a bactéria *Escherichia coli*, em tubos de teflon®, usados para canais de endoscópio. O propósito desses autores foi verificar a eficácia de detergentes recomendados para a limpeza de endoscópios, sendo que três continham enzimas e um sem enzimas. Após a formação do biofilme, retiraram unidades de cinco centímetros de comprimento e estas foram colocadas em frascos estéreis contendo os detergentes-teste. Não utilizaram escova para realizar a fricção das superfícies, apenas imersão por 8 minutos. Utilizaram a microscopia eletrônica de varredura para avaliar as amostras e verificaram que o detergente sem enzima e um dos detergentes enzimáticos com altos níveis de enzima removeram mais do que 50% do biofilme, sem limpeza manual. Essa pesquisa fortalece nosso estudo demonstrando a possibilidade de formar biofilme em laboratório e de verificar a ação dos produtos sobre o mesmo.

Os autores citados afirmaram que os produtos apresentaram diferenças no contato com o biofilme, pois o detergente sem enzima removeu mais a camada de exopolissacarídeos e o detergente enzimático

removeu mais as células bacterianas e menos a camada de exopolissacarídeos. Comentam que os testes com detergentes têm sido realizados contra sujidades secas sobre uma superfície e, em menor número, contra biofilmes, o que pode explicar a ocorrência de falhas no processamento apesar da estrita adesão aos protocolos.

Sava (2008) publicou no tópico “Cartas para o editor” da revista *American Journal Infection Control* que o detergente sem enzimas, denominado *Matrix®*, testado na pesquisa realizada por Vickery, Pajkos e Cossart (2004), contém uma quantidade significativa do composto quaternário de amônio (não citado pela autora), resultando na remoção do biofilme dos tubos de teflon®. Ele afirma que o biofilme foi reduzido em virtude da associação do detergente com o desinfetante.

Guias internacionais e o nacional ressaltam a importância da limpeza manual dos canais do endoscópio, independente do método de desinfecção que será utilizado, confiantes de que essa limpeza prévia removerá os microrganismos que possam estar presentes nos canais. Entretanto, a literatura demonstra a presença de microrganismos, logo após a etapa de desinfecção.

Para Marion e colaboradores (2006) os agentes de limpeza são mais eficazes na remoção de biofilme do que os desinfetantes, pois os primeiros apresentam habilidade em desprender o biofilme da superfície. Em nossa pesquisa verifica-se que o processamento que obteve o melhor resultado foi aquele em que houve duas etapas de limpeza com o detergente enzimático. Assim, cabe ao desinfetante não fixar a sujidade e promover a morte microbiana.

Deva e seus colaboradores (1998) pesquisaram a presença de bactérias e vírus de 123 canais internos de endoscópios nas seguintes situações: após o uso clínico, após a limpeza manual e após a desinfecção com glutaraldeído a 2% nos métodos manual e automatizado. Pesquisaram também a presença de microrganismos nos endoscópios, após a utilização da processadora com o concentrado esterilizante de ácido peracético (sistema *Steris®*), provenientes de quatro centros de endoscopia na Austrália. Os autores conseguiram isolar $2,8 \times 10^4$ /mL de bactérias depois do

procedimento de esofagogastroduodenoscopia; $1,6 \times 10^4$ /mL após uma colangiopancreatografia retrógrada; $6,8 \times 10^4$ /mL posterior à ultra-sonografia endoscópica e $1,3 \times 10^5$ /mL após colonoscopia. Verificaram que houve uma redução de 3 $\log_{10}$ da contagem bacteriana após a limpeza manual em todos os endoscópios pesquisados. A *Pseudomonas aeruginosa* foi isolada em 10 amostras dos procedimentos descritos. Afirmam que a contaminação por esse agente pode ser devida à fonte ambiental ou à presença de um biofilme nos canais internos dos equipamentos.

Ainda com relação a Deva e seus colaboradores (1998), eles manifestaram grande preocupação por ocasião da presença de bactérias mesmo após a desinfecção dos endoscópios, tanto com o uso do glutaraldeído no sistema manual ou automatizado, quanto com o uso do concentrado esterilizante de ácido peracético (sistema *Steris®*), semelhante ao que ocorreu no presente estudo. O pior resultado foi terem encontrado os vírus da hepatite B e C após o processamento. Concluem que esses achados ocorreram em razão da limpeza manual inadequada (falha no procedimento de escovação dos canais) e que a presença dos vírus pode ser proveniente de abrasões ou biópsias realizadas nas mucosas, durante o exame, que possibilitam o contato do endoscópio com o sangue dos pacientes. Afirmam que o desinfetante químico age no contato direto com o microrganismo e que, se houver sujidade, a morte bacteriana não será completa. Descrevem que um dos pontos importantes no processamento dos endoscópios deve ser o treinamento adequado da equipe que realiza a limpeza manual e não apenas o tipo de produto químico utilizado, pois se os endoscópios forem imprópriamente limpos a desinfecção não será eficaz, mesmo que o tempo de imersão seja respeitado ou sejam utilizadas as máquinas automáticas.

De qualquer maneira, não se conhece com exatidão os eventos adversos que podem ocorrer nos indivíduos no contato com biofilmes, mas sabe-se que microrganismos viáveis são recuperados de endoscópios prontos para o uso (DEVA et al., 1998, MACHADO et al. 2006). Embora baixos níveis de bactérias não possam ser suficientes para causar infecção em pessoas híginas, elas podem ser uma ameaça para pacientes

imunocomprometidos ou serem liberadas em órgãos estéreis, tais como o trato hepatobiliar. Machado, Fischman e Geocze (2005) recuperaram acima de 10^3 UFC/mL de microrganismos viáveis após a limpeza e desinfecção dos endoscópios, principalmente dos esofagastroduodenoscópios. Citam que os microrganismos mais isolados foram a *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *E.coli spp*, entre outras, os *Staphylococcus spp*, os fungos (*Candida albicans*, *tropicalis*, *glabrata* e *guilliermondii*), e o *Corynebacterium spp*.

Nesse contexto, as ações a serem desenvolvidas para minimizar possíveis eventos adversos nos indivíduos submetidos a um exame endoscópico devem variar, desde testar novos agentes de limpeza, artefatos comercialmente disponíveis, novos desinfetantes, suportes mecânicos e principalmente educação continuada da equipe com supervisão das práticas por gestores interessados em se atualizar a partir de conceitos e práticas de fontes primárias.

No estudo realizado por Pajkos, Vickery e Cossart (2004) os autores analisaram 13 canais de biópsia e 12 de ar/água provenientes de 13 endoscópios gastrointestinais fornecidos por 13 diferentes hospitais da região metropolitana de Sidney, na Austrália, que se encontravam prontos para uso, ou seja, haviam sido submetidos ao processo de limpeza e desinfecção. Foi retirado um segmento de cada canal (a 10 cm da ponta) e constataram a presença de biofilme em cinco das amostras do canal de biópsia e em todas as amostras dos canais de ar/água. Esses autores relataram que foram visualizados defeitos na superfície interna dos tubos, como fendas e sulcos, inclusive nos seis canais novos de teflon® adquiridos do fabricante para serem utilizados como grupo-controle. Referiram que esses defeitos podem propiciar acúmulo de sujeira e favorecer a retenção de bactérias. Nesse estudo, examinaram um fragmento de um centímetro de cada canal e afirmaram que esse segmento não pode ilustrar as características de toda a extensão do canal, mas pode gerar importante informação sobre a eficácia dos métodos de limpeza.

Os tubos novos utilizados na presente pesquisa também apresentaram fendas e sulcos na superfície. No entanto, o biofilme, bactérias isoladas ou a camada de EPS encontrados localizavam-se tanto nas superfícies mais lisas como naquelas com defeitos. Em nosso estudo, optou-se em remover três segmentos de três centímetros de tamanho de cada corpo amostral para aumentar a possibilidade de análise de toda a extensão dos corpos amostrais.

Em recente relato, Perret-Vivancos e seus colaboradores (2008) descrevem a dificuldade em remover os microrganismos de um colonoscópio que originalmente estava contaminado com mais de 500 bactérias. Após realizarem seis processamentos, que incluíam duas etapas de limpeza e uma etapa de desinfecção com os produtos atuais, significativa contaminação persistiu, mas houve uma redução para 195 bactérias, sendo isoladas, principalmente, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella ornithinolytica* e *Microccus spp.* Referem que a hipótese da presença de biofilme foi prontamente sugerida. Após realizarem a imersão do endoscópio em uma solução multi-enzimática, por 30 minutos, com preenchimento dos canais, enxágüe, secagem e novamente imersão em solução detergente por mais 30 minutos, novo enxágüe e nova secagem, a contaminação dos canais foi quase totalmente erradicada após a terceira vez em que esse procedimento foi realizado. Sugerem que se use regularmente esse detergente (multi-enzimático) para evitar acúmulo das bactérias que aderem à superfície dos canais.

A literatura pesquisada aponta a recorrência de biofilme nas superfícies internas dos endoscópios, apesar da existência de protocolos muito bem estabelecidos no mundo todo. Os biofilmes representam um reservatório de microrganismos que podem se desprender e contaminar o paciente, além de ser uma fonte de endotoxinas que podem atingir a circulação sanguínea se houver o contato com a mucosa não íntegra (PAJKOS, VICKERY e COSSART, 2004, VICKERY, PAJKOS e COSSART, 2004; MARION et al., 2006).

Para Martiny, Floss e Zuhlsdorf e (2004), o número de casos de infecção identificados é certamente subestimado, pois nenhum serviço de endoscopia estará interessado em documentar essas infecções. Referem que esse dado tornará conhecido o nome da Instituição, da clínica ou do médico que realizou o exame e poucos pacientes retornarão a esse médico ou ao local que foi responsável pela transmissão de infecção.

A falta de uma vigilância sistemática e do registro dos casos de infecção relacionados aos endoscópios pode explicar a ausência de ocorrências nesses serviços. No Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, foi possível identificar um surto por *Pseudomonas aeruginosa* após colangiopancreatografia retrógrada, por meio da vigilância de exames de culturas. Essa sistemática é realizada diariamente pelos membros executivos da Comissão de Controle de Infecção Hospitalar dessa Instituição. Como os pacientes apresentavam um estado imunológico deficitário, desenvolveram infecção após o procedimento endoscópico, caracterizando um surto. A equipe da CCIH detectou inadequação na limpeza e desinfecção do reservatório de água utilizado para a limpeza das lentes. A bactéria foi encontrada na água desse reservatório e, conseqüentemente, no fluido proveniente de um duodenoscópio. Após revisão dos procedimentos junto à equipe do serviço de Endoscopia, o surto foi resolvido. (BALSAMO et al., 2008).

Alguns autores descrevem a ocorrência de surtos de colangite por *Pseudomonas aeruginosa* em pacientes submetidos à colangiopancreatografia retrógrada e concluíram que o microrganismo foi transmitido de um paciente para o outro por um mesmo endoscópio (FRASER et al. 2004, RANJAN et al., 2005). Ranjan e seus colaboradores (2005) encontraram inadequações no procedimento de limpeza manual do endoscópio e verificaram que o reservatório de água não era trocado há várias semanas. Já Fraser e seus colaboradores (2004) encontraram como causa a inadequada desinfecção do endoscópio, mas não relatam qual processamento era realizado no duodenoscópio.

Allison e seus colaboradores (2007) descrevem que o endoscópio deve ser processado com o mesmo rigor, após o término de cada

procedimento, conforme determinam as precauções padrão: todo paciente deve ser considerado potencialmente de risco para infecção. Comentam que é difícil estimar o risco de infecção após endoscopia, porque as complicações (tais como a septicemia), após a colangiopancreatografia retrógrada, podem ser devidas à infecção endógena e não ao endoscópio; o início de uma complicação infecciosa pode ser tardio, desenvolvendo-se após a alta do paciente e a ocorrência de transmissão de microrganismos com tempo de incubação prolongado que não será associada ao procedimento. Esses autores comentam que entre os riscos potenciais para transmissão de infecção estão: o uso de endoscópios velhos com superfícies externas e canais de trabalho irregulares, a manutenção inadequada das processadoras automáticas, o uso de desinfetantes não padronizados e inadequada secagem e/ou estocagem dos endoscópios.

Para Rutala e Weber (2007) a membrana mucosa íntegra do trato gastrointestinal é geralmente resistente à infecção por esporos bacterianos, mas suscetível a outros microrganismos como as bactérias, micobactérias e vírus. Apesar da taxa de infecção relacionada à endoscopia ser baixa (estimada em um caso a cada 1,8 milhões de procedimentos), a maioria dos surtos de infecção tem ocorrido mais em virtude da contaminação de endoscópios do que de outros dispositivos médicos e isso se deve à não adesão aos guias de processamento já estabelecidos.

Dietze e seus colaboradores (2001) afirmaram que o principal problema do processamento dos endoscópios está na limpeza e desinfecção dos canais internos. Embora seja possível escovar o canal de sucção/biópsia, há dificuldades em acessar e limpar o canal de ar/água que é submetido somente a jatos de água e detergente. Concluíram que a contaminação pode permanecer nos canais e que o desenho do equipamento tem importante influência no processamento do endoscópio. Donlan e Costerton (2002) ressaltam que o ambiente ideal para a adesão e crescimento de microrganismos é o que ocorre entre uma superfície e um meio aquoso (água ou sangue). A superfície do material, que está exposta a um meio aquoso, imediatamente tornar-se-á coberta por substâncias orgânicas ou inorgânicas provenientes do meio, propiciando modificações na superfície do

material, formação do filme condicionante e, conseqüentemente, favorecendo à adesão microbiana.

Na presente investigação, houve facilidade em acessar e realizar a escovação dos corpos amostrais na etapa de limpeza, por haver disponível a escova recomendada para remover a sujidade e pela facilidade em visualizar o preenchimento dos tubos com o desinfetante (eram transparentes), garantindo o contato do germicida com as superfícies. Mesmo assim, os resultados mostraram que houve deficiência do processamento frente aos biofilmes.

Cabe lembrar que a presença de matéria orgânica seca na superfície do endoscópio torna a limpeza mais difícil e propicia o surgimento de biofilmes. Estes, por sua vez, dificultam a penetração do agente químico e, portanto, não há morte microbiana. Na prática, esse fato pode ocorrer em serviços onde não há equipe de enfermagem para realizar a limpeza e desinfecção dos equipamentos imediatamente após o uso, como no horário noturno ou no atendimento às emergências em que o endoscópio fica aguardando o processamento pela equipe regular, no próximo dia de trabalho. Assim, a superfície do endoscópio fica exposta à matéria orgânica por um período de tempo prolongado e suficiente para a formação de biofilmes. As Figuras 50 (aumento de 10.000 vezes) e 51 (aumento de 20.000 vezes), demonstram um biofilme formado pela *Pseudomonas aeruginosa*, no período de uma hora, como parte de nosso teste piloto.

Figura 50. Visualização do biofilme formado em 1 hora. (aumento de 10.000 vezes)

Figura 51. Visualização do biofilme formado em 1 hora. (aumento de 20.000 vezes)

O endoscópio deve ser transportado para a área de limpeza antes que a matéria orgânica presente nas superfícies dos canais resseque, o que ajuda a reduzir a formação de biofilme. Imediata limpeza diminui a quantidade de contaminação microbiana e, conseqüentemente, a formação de biofilme.

A literatura demonstra que o uso das processadoras automáticas têm como finalidade reduzir ou eliminar erros humanos que possam ocorrer em alguma etapa do processamento. A máquina, quando usada adequadamente, assegura que os canais sejam irrigados totalmente, propicia menor diluição ou contaminação do desinfetante, diminui a exposição dos profissionais aos produtos químicos, é programável, ou seja, os ciclos de limpeza, desinfecção, enxágüe e secagem são previamente estabelecidos, tornando segura a reprodutibilidade do processo. Além disso, as máquinas vêm acompanhadas de filtros de água, o que favorece o enxágüe do endoscópio com uma água de melhor qualidade.

As máquinas processadoras de endoscópios oferecem vantagens quando comparadas ao processamento manual: elas automatizam e padronizam importantes etapas do processamento, reduzem a probabilidade de uma etapa ser “pulada” e minimizam a exposição da equipe aos produtos químicos. Entretanto, surtos de infecção relacionados às máquinas podem ter como causas intercorrências com o filtro de água (que não proporciona uma água de enxágüe livre de bactérias) problemas com conectores que não se adaptam adequadamente aos canais e que, portanto, não asseguram o fluxo do desinfetante e da água de enxágüe nos mesmos. Destaca-se que essas ocorrências não poderão ser visualmente detectadas ao término do processamento.

Segundo Muscarella (1996), a processadora automática de endoscópios diminui a probabilidade de alguma etapa do processamento ser omitida ou de se ter um tempo de duração menor do que o estabelecido. Algumas marcas possuem registro de todo o processo, sinais sonoros ou visuais que são ativados quando uma falha é detectada em alguma etapa e propiciam o processamento de dois endoscópios, simultaneamente. O autor

cita que a máquina minimiza a exposição dos usuários ao produto químico e diminui a concentração do vapor no meio ambiente. Geralmente pode ser conectada a sistemas de filtração de água, o que evita a contaminação do endoscópio por microrganismos oportunistas encontrados na água de reservatórios. Propicia enxágüe do endoscópio com água fresca em uma quantidade significativamente maior do que a realizada manualmente.

Apesar das máquinas exibirem algumas desvantagens, favorecem outros aspectos importantes, como os descritos por Muscarella (1996), além de beneficiarem a segurança dos usuários e dos pacientes, quando comparadas ao processamento manual.

Como desvantagens, esse mesmo autor descreve que a limpeza manual prévia, com escova, pode ser mais eficaz do que a limpeza automatizada, e que esta aumenta uma etapa no tempo total do processamento. Relata ainda que as máquinas não realizam o *flush* com álcool a 70% e que o tempo do processamento de todas as etapas vai variar de 40 a 60 minutos. Além disso, não monitora automaticamente a concentração do produto químico e os compartimentos da máquina devem ser avaliados freqüentemente para evitar acúmulo de sujeira e formação de biofilme em seus circuitos internos.

Mesmo assim, em nosso estudo, o melhor resultado na remoção do biofilme foi obtido no processamento com a processadora automática, que inclui uma etapa de limpeza com detergente enzimático.

O Quadro a seguir demonstra as diversidades no processamento dos endoscópios nos países da Europa. Observa-se uma predominância do uso da processadora automática quando se compara com o processamento manual. Países como a Bélgica e a Itália realizam os dois tipos de processamento.

Quadro 4. Tipos de processamentos realizados nos países da Europa. São Paulo, HU-USP, 2009.

PAÍS	PROCESSAMENTO MANUAL	PROCESSAMENTO AUTOMATIZADO
Áustria	-	x
Bélgica	x	x
Croácia	-	x
República Tchecoslováquia	x	-
Dinamarca	-	x
Finlândia	-	x
França	-	x
Alemanha	-	x
Islândia	-	x
Itália	x	x
Jordânia	x	-
Luxemburgo	-	x
Mônaco	-	x
Holanda	-	x
Noruega	-	x
Eslovênia	-	x
Espanha	-	x
Suécia	-	x
Suíça	-	x
Reino unido	-	x
Total	4	18

Fonte: Beilenhoff, U. et al. ESGE-ESGENA guideline for quality assurance reprocessing: microbiological surveillance testing in endoscopy. Endoscopy, v. 39, p. 181 (extraído parcialmente).

Martiny, Loss e Zuhlsdorf (2004) afirmaram que o método automatizado é o mais seguro para o processamento dos endoscópios. A máquina apresenta várias etapas (limpeza, enxágüe, secagem, desinfecção, novo enxágüe e secagem) que elimina as inadequações humanas.

Alfa, Olson e DeGagne (2006), objetivando comparar a limpeza manual com a limpeza em máquina automatizada, concluíram que ambos os procedimentos reduziram mais de 90% do inóculo preparado para o experimento, que consistia de níveis altos de hemoglobina, proteína, carboidrato, endotoxina e 10^8 UFC de *Enterococcus faecalis* e

Pseudomonas aeruginosa. Afirmam que esse resultado é significativo, pois demonstra que o processo de limpeza automatizado pode ser eficiente para a limpeza dos endoscópios. Entretanto os autores deixam claro que o estudo não avaliou a eficácia da processadora em remover biofilme.

Considera-se oportuno salientar que o tempo de limpeza manual descrito no estudo dos autores citados variou de 15 a 25 minutos, dependendo do tipo de endoscópio a ser limpo, compondo-se das seguintes fases:

1. Injetar detergente enzimático através dos canais por três vezes com auxílio de uma seringa;
2. Manter o endoscópio imerso por 2 minutos;
3. Usar escova descartável e escovar os canais em movimentos de “vai” e “vem” por três vezes em cada canal;
4. Repetir a introdução do detergente enzimático, 30 ml por três vezes;
5. Deixar o endoscópio novamente imerso em detergente enzimático por mais 2 minutos (o que assegura um tempo de exposição de 5 minutos).

É provável que esse protocolo remova o biofilme, mas ele se torna pouco viável devido às altas demandas dos serviços especializados. Mesmo assim, o risco existe e nossos protocolos de limpeza devem ser revistos e reformulados. Se o tempo necessário para a limpeza manual não puder ser rigorosamente seguido, parece bastante racional lançar mão das processadoras automáticas de endoscópios, que executam uma etapa de limpeza com tempo programável, conforme a necessidade de cada serviço, sem eliminar a limpeza manual prévia.

Apesar da conhecida propriedade do glutaraldeído em fixar a matéria orgânica, verificou-se em nossa pesquisa que esse princípio ativo em processadora automática foi capaz de remover 95,24% do biofilme (40/42). Essa máquina apresenta como diferencial possuir diversos tempos

de programação para a limpeza dos canais (que varia de um a 15 minutos) e, inclusive, a opção de não executar essa etapa. Para o nosso estudo, optou-se em programar a fase de limpeza por um minuto, com o mesmo detergente enzimático utilizado na limpeza manual e com dois enxágües. Outra etapa importante, também realizada por essa máquina, foi a secagem ao término do processamento, sendo possível eliminar a secagem manual com ar comprimido medicinal.

Os achados desta pesquisa nos permitem inferir que a diferença está, não no produto químico utilizado no processamento, mas sim na realização de outra etapa de limpeza. Uma questão importante é que as máquinas processadoras de endoscópio possuem dispositivos próprios que se encaixam nos orifícios do endoscópio garantindo o contato do agente de limpeza e do produto químico nos canais internos do equipamento, por meio de um fluxo direto, pressurizado e sem retorno.

Rey e seus colaboradores (2008) referem que alguns guias de recomendação para o processamento de endoscópios incluem o *double-brush*, que significa realizar uma dupla escovação para remover todas as partículas protéicas com maior eficiência. Essa recomendação se deve à preocupação com a contaminação do equipamento por partículas de *prion*.

Na presente investigação, avaliou-se o processamento como um todo e obtiveram-se resultados ora satisfatórios, ora preocupantes. Verificou-se que há diferenças na remoção de biofilme conforme os métodos empregados. A processadora automática com glutaraldeído a 2% foi a que mais removeu o biofilme; porém, manteve um percentual elevado de fragmentos de camadas de EPS, mais de 60%. Já o processamento manual com ácido peracético na concentração de 0,09% a 0,15% e o processamento manual com o glutaraldeído a 2% foram os que apresentaram maior retenção de biofilme.

Ao se analisar os segmentos amostrais quanto à presença de biofilme e/ou outros resíduos (bactéria livre ou EPS), verifica-se que o processamento com a máquina automatizada com ácido peracético a 35% - sistema *Steris®*, eliminou biofilme, células bacterianas e a camada de EPS

de 66,66% (28/42) das superfícies dos corpos amostrais (28/42). Apesar de obterem-se bons resultados com essa máquina constatou-se que, após o término do processamento, havia uma grande quantidade de água no lúmen, na superfície externa dos corpos amostrais e nos acessórios da máquina que se conectam ao endoscópio, pois não há o ciclo de secagem. Essa observação foi relatada ao responsável pela máquina, como uma contribuição, sugerindo uma revisão dos componentes internos da mesma.

Cronmiller e seus colaboradores (1999) estudando a eficácia do procedimento de desinfecção de endoscópios pela processadora automatizada que utiliza o concentrado esterilizante *Steris 20*, introduziram 5×10^7 UFC/mL de *Enterococcus spp* em canais de sucção/biópsia de dois colonoscópios, permitindo um contato do inóculo com a superfície interna do canal por 10 minutos, e os submeteram à desinfecção. Obtiveram como resultado, total eliminação do microrganismo dos canais do colonoscópios com e sem limpeza manual prévia. Salienta-se que essa máquina não possui ciclo de limpeza automatizado e esse tempo de contato com o microrganismo pode não ter sido suficiente para se iniciar a adesão bacteriana.

Sattar e seus colaboradores (2006) avaliaram a efetividade de uma processadora automática de endoscópio que gera ácido peracético dentro da máquina, frente a microrganismos multiresistentes (*Mycobacterium tuberculosis*, *Enterococcus spp*, *Staphylococcus aureus*) e esporos de *Clostridium difficile*, com um *biorbuden* que variou de 10^5 a 10^7 UFC. Com esse procedimento, concluíram que houve redução da carga microbiana a níveis indetectáveis, tanto nos canais internos quanto nas superfícies do endoscópio. Cabe salientar que a máquina utilizada por esses autores difere da testada neste estudo, porque possui ciclo de limpeza com detergente enzimático, enxágüe e secagem antes da desinfecção propriamente dita.

Tanto no estudo realizado por Cronmiller e seus colaboradores (1999) quanto no de Sattar e seus colaboradores (2006), a metodologia utilizada para a recuperação dos microrganismos foi através de *swab* das superfícies externas e de lavado dos canais internos. Hanson (1990) em seu estudo afirmou que o lavado representou somente 3% do inóculo teste e que

a escovação restaurou ainda menos os microrganismos. Afirma que a inabilidade desses métodos em detectar a carga microbiana não indica, por si só, a ausência de microrganismos.

Na avaliação da limpeza manual seguida da desinfecção manual com o ácido peracético de 0,09% a 0,15%, esse método não removeu 76,19% (32/42) do biofilme presente nos segmentos amostrais. Não houve diferenças significativas no que se refere à localização do fragmento (início, meio e fim). O biofilme se distribuiu uniformemente nessas três porções.

Segundo Loukili e seus colaboradores (2006), o ácido peracético tem sido recomendado como um desinfetante alternativo para desinfecção de alto nível, em substituição aos derivados dos aldeídos devido a sua baixa toxicidade, ser biodegradável e ter semelhante eficácia antimicrobiana. Contudo, esse mesmo autor em colaboração com outros autores em publicação anterior (2004), demonstraram que algumas formulações de ácido peracético fixaram biofilme e outras não. Verificaram que o ácido peracético estabilizado, ou seja, pronto para uso, não fixou o biofilme. Os autores concluem que, na escolha de um produto desinfetante para desinfecção de alto nível, deve ser considerada não só a atividade bacteriana, mas também a habilidade em não fixar biofilme.

Kampf, Blob e Martiny (2004) comentaram que, na Suíça, o ácido peracético é classificado como um produto que não fixa proteína em superfícies de metal, embora essa evidência seja baixa segundo estudo realizado por Vizcaino-Alcaíde, Herruzo-Cabrera e Fernandez-Aceñero (2003). Apesar disso, esse germicida tem sido recomendado para desinfecção de dispositivos médicos, inclusive para os endoscópios flexíveis em substituição ao glutaraldeído a 2%.

Esses mesmos autores também desenvolveram um estudo para verificar qual era o potencial de fixação de sangue seco após contato com glutaraldeído, ácido peracético, quaternário de amônio, quaternário de amônio com amina, fenol e um agente de limpeza contendo enzima. Dentre os produtos à base de glutaraldeído, conhecidos no Brasil, testaram o Steranios (Anios®) e dentre os produtos à base de ácido peracético experimentaram o NU Cidex (Jonhson&Jonhson®), Sekusept aktiv

(Ecolab®) e o Anioxide 1000 (Anios®). Todos os experimentos foram repetidos por oito vezes e verificaram que o glutaraldeído e o ácido peracético foram aqueles que mais fixaram o sangue seco. Demonstraram que algum resíduo de sangue pôde ser removido no contato com o ácido peracético por 15 minutos, mas o resíduo que permaneceu fixou-se fortemente à superfície e não foi possível removê-lo pelo processo de limpeza (que foi constatado remover mais do que 99% da mesma quantidade de sangue).

Loukili e seus colaboradores (2004), estudando quatro tipos de germicidas à base de ácido peracético e três à base de aldeído na remoção ou fixação de biofilme, concluíram que os desinfetantes Anyoxide 1000 (Anions®) e Nu Cidex (Johnson&Johnson®) fixaram o biofilme de *Escherichia coli* CIP 54127 (cepa do Instituto Pasteur) em materiais de vidro. Salientaram que apenas os germicidas que continham quaternário de amônio em sua formulação foram capazes de remover o biofilme.

Nesta pesquisa obtiveram-se repostas desfavoráveis na remoção do biofilme dos corpos amostrais. Este estudo desvendou até onde é possível eliminar biofilmes em canais de endoscópios com os métodos selecionados para a limpeza e desinfecção.

7. CONCLUSÕES

Esta pesquisa permitiu chegar às seguintes constatações:

- nenhum método testado removeu 100% dos biofilmes frente ao desafio imposto;
- a remoção de microrganismos, EPS e biofilmes das superfícies dos corpos amostrais depende da conjugação entre o método de limpeza e de desinfecção posterior;
- os desinfetantes têm ação contra os biofilmes;
- o método mais eficaz na remoção do biofilme foi o glutaraldeído em equipamento automatizado, provavelmente justificado pelo “*double brushing*”;
- o método que se mostrou mais eficaz na remoção de biofilme, células isoladas e EPS foi o ácido peracético a 35% (concentrado esterilizante Steris®) em equipamento automatizado;
- o método que se mostrou menos eficaz na remoção do biofilme, células isoladas e EPS foi a água eletrolítica ácida em equipamento automatizado;
- houve diferenças estatisticamente significativas entre a eficácia na remoção de biofilmes, segundo a localização do segmento (início/meio/fim), na desinfecção manual com glutaraldeído a 2% e com a água eletrolítica ácida em processadora automatizada. Nos demais métodos, a diferença não foi constatada.
- considerando a água como fonte de microrganismos capazes de formar biofilme, conclui-se a importância de se utilizar filtros para a água de enxágüe dos endoscópios;

- apesar da possibilidade do álcool fixar proteínas que não foram removidas pela limpeza, há forte indicativo da literatura em aderir à rinsagem final dos canais com álcool;
- há indicativos da literatura que o quaternário de amônio presente em algumas formulações de soluções enzimáticas e utilizado como desinfetante, apresentou propriedades de remoção do biofilme, o que merece investigações futuras;
- resta, portanto, recomendar que práticas baseadas em protocolos das sociedades sejam seguidas rigorosamente, apesar do tempo requerido para as boas práticas e optar, preferencialmente pelo processo automatizado, a fim de diminuir o erro humano.
- Este trabalho alerta a capacidade dos microrganismos em formar biofilme apenas em uma hora, reforçando a necessidade de limpar o endoscópio logo após o uso, evitando um ambiente propício para o seu desenvolvimento.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os endoscópios flexíveis representaram e representam uma nova era para a medicina diagnóstica e terapêutica. À medida que aumenta a demanda por esses exames, a limpeza e a desinfecção dos endoscópios vai se tornando difícil de realizar e inadequações podem ocorrer em progressão geométrica.

Em síntese, a literatura é controversa, pois, ao mesmo tempo em que demonstra a permanência de bactérias viáveis e biofilmes nos canais dos endoscópios prontos para uso, coloca como sendo baixa a incidência de transmissão de infecção, talvez pelo fato dos microrganismos encontrarem-se “estressados” por já terem sido submetidos a métodos antimicrobianos inúmeras vezes. Por outro lado, a maioria dos autores concorda que se os endoscópios estão contaminados após o processamento isso se deve a alguma falha ou inadequação em alguma etapa do processamento. A presença de danos nas superfícies internas dos canais dos endoscópios também pode contribuir para a retenção dos microrganismos e, conseqüentemente, à formação de biofilme.

Esta pesquisa evidenciou que há possibilidade de formação de biofilme em canais de endoscópios e que os microrganismos permanecem presentes após o processamento. Mesmo que não seja clara a repercussão da transmissão de infecção ou de pseudo-infecção após um procedimento endoscópico, o fato é que os serviços de endoscopia devem rever todas as etapas do processamento, o tempo necessário para executá-las e centrar esforços em busca de artefatos que permitam e facilitem uma eficiente limpeza dos canais, além de pessoal especializado e treinado na execução dessas etapas. Alguns autores recomendam e demonstram a eficácia da rinsagem dos canais com álcool após cada processamento, mas outros estabelecem essa etapa somente após o término dos exames, antes da estocagem dos endoscópios. Essas recomendações também necessitam ser revistas.

É importante também executar a limpeza logo após o uso do endoscópio para evitar ressecamento da matéria orgânica minimizando a formação de ambiente propício ao crescimento dos microrganismos. Vale a pena investir na melhoria da água do enxágüe e na eficiente secagem do

endoscópio. E, finalmente, vale envidar esforços para automatizar o processamento, mesmo que o tempo de espera do equipamento seja maior, pois as pesquisas relatam o erro humano como a principal causa de transmissão de infecção em endoscopia.

Os fabricantes de endoscópios devem ser encorajados a projetar equipamentos mais simples, que facilitem os processos de limpeza e desinfecção. É preciso que os idealizadores das máquinas de processamento sejam encorajados a elaborá-las de forma a diminuir a suscetibilidade a erros do usuário e que promovam uma secagem adequada do endoscópio, inclusive dos lúmens internos.

Esforços devem ser direcionados para melhorar os artefatos para a etapa de limpeza, mais do que os desinfetantes, pois esta pesquisa mostrou que com as etapas padronizadas pela sociedade, a limpeza e a desinfecção removeram parcialmente os biofilmes.

Cabe lembrar que o comportamento dos microrganismos que vivem em biofilmes difere significativamente daqueles que vivem de forma livre e, por isso, não invalida os processamentos até então estabelecidos. Faz-se necessário o entendimento, com mais profundidade, dos fatores que influenciam a formação de biofilmes, a fim de evitar ou minimizar a sua formação. Esta pesquisa não fecha a questão. São necessárias novas investigações nessa temática.

Mas o que realmente falta são as ferramentas para avaliar todo esse processamento na prática assistencial.

No panorama do ambiente hospitalar, o biofilme bacteriano é um problema a ser conhecido e gerenciado, particularmente para pacientes imunocomprometidos. Isso posto, parece que a solução para as práticas de processamento de endoscópios e conseqüentemente a formação de biofilme, seja desistir de tais equipamentos e avançar para novas tecnologias, por exemplo, a cápsula (PillCam® da Given Imaging®, Israel), que contém uma vídeo câmera e um sistema de flash eletrônico e, quando ingerida pelo paciente, fornece imagens para um

Figura 52. Cápsula PillCam®

receptor que se situa fora do corpo, mostrando a localização da cápsula e as possibilidades de doença ou alterações no sistema gastrointestinal (Figura 52). Esta nova tecnologia seria uma opção para o atual procedimento endoscópico, mas que apresenta ainda um custo elevado.

Enfim, a presente investigação é pioneira na área da enfermagem quanto a construção de um modelo para formação de biofilme, motivo de orgulho porque fortalece a enfermagem fazendo ciência.

O assunto é de alta relevância e prioridade para empresas que produzem máquinas e produtos para processamento de endoscópios.

Houve inúmeras dificuldades e limitações para desenvolver a pesquisa mas que foram todas superadas graças ao apoio incondicional conseguido dentro e fora da Universidade.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMSON, J. H. **Winpedi** (PEPI – for - windows): computer programs for epidemiologists. **Epidemiol. Perspect. Innov.**, London, v. 1, n. 1, p. 6, dec. 2004.

ALFA, M. J.; MEMES, R. Inadequacy of manual cleaning for reprocessing single-use, triple-lumen sphinctertomes: simulated-use testing comparing manual with automated cleaning methods. **Am. J. Infect. Control**, St. Louis, v. 31, n. 4, p. 193-207, jun. 2003.

ALFA, M.J.; DEGAGNE, P.; OLSON, N. Worst-case soiling levels for patient-used flexible endoscopes before and after cleaning. **Am. J. Infect. Control**, St. Louis, v. 27, n. 5, p. 392-401, nov. 1999.

ALFA, M.J.; JACKSON, M.A. A new hydrogen peroxidase-based medical-device detergent with germicidal properties: Comparison with enzymatic cleaners. **Am. J. Infect. Control**, St. Louis, v. 29, n. 3, p. 168-177, jun. 2001.

ALFA, M.J.; OLSON, N.; DeGAGNE, P. Automated washing with the reliance endoscope processing system and its equivalence to optimal manual cleaning. **Am. J. Infect. Control**, St. Louis, v. 34, n. 9, p. 561-570, nov. 2006.

ALLISON, M. C., et al. **BSG guidelines for decontamination of equipment for gastrointestinal endoscopy**. The report of a working party of the British Society of Gastroenterology Endoscopy Comitee. Disponível em: <www.bsg.org.uk/pdf_word_docs/decontamination_2008.pdf>. Acesso em: 20 jan. 2009.

ALVARADO CJ, REICHELDERFER M. APIC guideline for infection prevention and control in flexible endoscopy. **Am. J. Infect. Control**, St. Louis, v. 28, n. 3, p. 138-155, apr. 2000.

ALVARADO, C. J.; STOLZ, S. M.; MAKI, D.G. Nosocomial infections from contaminated endoscopes: a flawed automated endoscope washer. An investigation using molecular epidemiology. **Am J Med**, New York, v. 91, n3B, p. S272-S280, 1991.

BALSAMO A. C. et al. Surto de colangite por *Pseudomonas aeruginosa* após colangiopancreatografia retrógrada endoscópica. **The Brazilian Journal of Infections Diseases**, v. 12, p. 260, 20 a 23 de novembro de 2008. Número especial.[Apresentado no XI Congresso Brasileiro de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar, 2008, Rio de Janeiro].

BANERJEE S., et al. Infection control during GI endoscopy. **Gastrointest. Endosc.**, Denver, v. 67, n. 6, p. 781-790, may. 2008.

BARBOZA, L. F. **Manutenção e cuidados com o instrumental cirúrgico endoscópico**. guia de recomendações. Rio de Janeiro: H. Strattner, Stortz [2003?].

BASSO, M.; GIUNTA, A.P.N. Limpeza e desinfecção de artigos médico-hospitalares. In: ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE ESTUDOS E CONTROLE DE INFECÇÃO HOSPITALAR. **Limpeza, desinfecção de artigos e áreas hospitalares e anti-sepsia**. 2nd ed. São Paulo: APECIH; 2004. p. 1-12.

BISSET, L., et al.. A prospective study of the efficacy of routine decontamination for gastrointestinal endoscopes and the risk factors for failure. **Am. J. Infect. Control**, St Louis, v. 34, n. 5, p. 274-280, jun. 2006.

BLOB, R.; KAMPF, G. Test models to determine cleaning efficacy with different types of bioburden and its clinical correlation. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 56, suppl 2, p. 544-548, apr. 2004.

BOARI, C.A. **Formação de biofilmes em aço inoxidável por *Aeromonas Hydrophila* e *Staphylococcus aureus* sob diferentes condições de cultivo**. 2008. 80p. Tese [Doutorado em Ciências dos Alimentos] - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais.

BRANDA, S.S. et al. Biofilms: the matrix revisited. **Trends Microbiol.**, Cambridge, v. 13, n. 1, p. 20-26, jan. 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº. 122 de 29 de novembro de 1993. Inclui na Portaria n. 15, de 23/8/08, sub anexo I, alínea I, o princípio ativo ácido peracético, para uso das formulações de desinfetantes/esterilizantes. **Diário Oficial da União**, Brasília. 01/dez.1993. Disponível em <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=5334&word>>. Acesso em : 23 jan. 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 342 de 03 de novembro de 2003. Conceder o registro, a alteração e a ratificação dos produtos para a saúde. **Diário Oficial da União**, Brasília (DF). 05 nov 2003. Disponível em <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=7100&word>>= Acesso em 23/01/2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 343 de 13 de dezembro de 2002. Aprova o regulamento técnico para a obtenção, testagem, processamento e controle de qualidade de sangue e hemocomponentes para uso humano. **Diário Oficial da União**, Brasília (DF). 19 dez 2002. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=15335&word=>> Acesso em: 23/01/2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº. 153 de 14 de junho de 2004. Determina o regulamento técnico para os procedimentos hemoterápicos. **Diário Oficial da União**, Brasília (DF). 24 jun. 2004. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=11662&word=>> Acesso em: 23/01/2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Departamento de Vigilância Epidemiológica**. Nota Técnica nº. 2 de 05 de abril de 2007. Ocorrência de surto de infecções por *Mycobacterium* não tuberculosas pós-cirúrgicas no Rio de Janeiro/RJ. Brasília, DF. Disponível em <http://portal.saude.gov.br/portal/saude/visualizar_texto.cfm?idtxt=25831>. Acesso em 19/01/2009.

BRONOWICKI, J.P.; VENARD, V.; BOTTE, C.; et al.. Patient-to-patient transmission of hepatitis C virus during colonoscopy. **N. Engl. J. Med.**, Massachusetts, v. 337, p. 237-240, 1997.

CATALONE, B.; KOOS, G. Reprocessing flexible endoscopes. Avoiding reprocessing errors critical for infection prevention and control. **Man. Infect. Control**, Scottsdale, p. 74-80, jun. 2005.

CHANZY, B.; et al.. Effectiveness of a manual disinfection procedure in eliminating hepatitis C virus from experimentally contaminated endoscopes. **Gastrointest. Endosc.**, Denver v. 50, n. 2, p. 147-151, aug. 1999.

CHU, N.S.; MACALISTER, D.; ANTONOPLOS, P.A. Natural bioburden levels detected on flexible gastrointestinal endoscopes after clinical use and manual cleaning. **Gastrointest. Endosc.**, Denver, v. 48, n. 2, p. 137-148, aug., 1998.

CIANCIO, A., et al.. Digestive endoscopy is not a major risk factor for transmitting hepatitis C virus. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia, v. 142, n. 11, p. 903-909, jun. 2005.

COOKE, R. P. D.; KERRY, J. A. Improved endoscope drying standards are needed to prevent true and pseudo-outbreaks of infection. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 66, n. 2, p. 196-197, jun. 2007. Letter.

COSTA, M. L. M. Endoscopia. In: FERNANDES, T. A.; FERNANDES, M. O. V.; RIBEIRO FILHO, N. **Infecção Hospitalar e suas interfaces na área da saúde**. Rio de Janeiro: Ed.. Atheneu, 2000. p. 1061-1069.

COSTA, M.L.M. **Levantamento de rotinas de processamento de endoscópio gastrointestinal em hospitais do município de São Paulo**. 1996. 59 p Tese (Doutorado em Enfermagem) - Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal, São Paulo.

COSTA, M.L.M.; LEITE, R.C.B.O. Procedimentos invasivos com equipamentos especiais: endoscópios, videocirúrgicos e energizados. In: LACERDA, R.A. **Controle de infecção em centro cirúrgico** – fatos, mitos e controvérsias. São Paulo: Atheneu, 2003. p. 439-66.

CRONMILLER, J.R. et al. Antimicrobial efficacy of endoscopic disinfection procedures : a controlled, multifactorial investigation. **Gastrointest. Endosc.**, Denver, v. 50, n. 2, p. 152-158, aug. 1999.

DEVA, A. K. et al. Detection of persistent vegetative bacteria and amplified viral nucleic acid from in-use testing of gastrointestinal endoscopes. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 39, n. 2, p. 149-157, jun. 1998.

DIETZE, B. et al. Freely accessible endoscope channels improve efficacy of cleaning. **Endoscopy**, v. 33, n. 6, p. 523-528, jun. 2001.

DONLAN, R.M.; COSTERTON, W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clin. Microbiol. Rev.**, Washington, v. 15, n. 2, p. 167-193, apr. 2002.

FRASER, T. G. et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* cholangitis after endoscopic retrograde cholangiopancreatography : failure of routine endoscope cultures to prevent an outbreak. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Chicago, v. 25, n. 10, p. 856-859, oct. 2004.

GILLESPIE, E.E.; KOTSANAS, D.; STUART, R. L. Microbiological monitoring of endoscopes: 5-year review. **J. Gastroenterol. Hepatol.**, Melbourne, v. 23, p. 1069-1074, dec. 2008.

GRAZIANO, K. U. et al. Critérios para avaliação das dificuldades na limpeza de artigos de uso único. **Rev. Latino Am. Enferm.**, Ribeirão Preto v. 14, n. 1, p. 70-76, jan./fev. 2006.

GREENWALD, D. Risks of reprocessing endoscopes and reusable instruments. **Tech. Gastrointest. Endosc.**, Chicago, v. 9, n. 4, p. 233-235, out. 2007.

HANSON, P. J. V. Elimination of high titre HIV from fibreoptic endoscopes. **Gut.**, v. 31, n. 6, p. 657-659, jun. 1990.

HARRISON-BALESTRA, C.; CAZZANIGA, A. L.; DAVIS, S. C.; MERTZ, P. M. A wound-isolated *Pseudomonas aeruginosa* grows a biofilm in vitro within 10 hours and is visualized by light microscopy. **Dermatol. Surg.**, New York, v. 29, n. 6, p. 631-635, jun. 2003.

HOLTON, J. Infection risks of endoscopy. In: MAYHALL, C.G., (Ed.). **Hospital epidemiology and infection control**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2004. p. 1125-1137.

IMMERY M.B., et al.. Transmission of infection by gastrointestinal endoscopy. **Gastrointest. Endosc.**, Denver, v. 39, n. 6, apr., 1993. p. 885-888

ISHINO, Y.; IDO, K.; SUGANO, K. Contamination with hepatitis B virus DNA in gastrointestinal endoscope channels: risk of infection on reuse after on-site cleaning. **Endoscopy**, Stuttgart, v. 37, n. 6, p. 548-551, jun. 2004.

JOHANSEN, C.; FALHOLT, P.; GRAM, L. Enzymatic removal and disinfection of bacterial biofilms. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v. 63, n. 9, p. 3724-3728, set. 1997.

KAMPF, G.; BLOB, R.; MARTINY, H. Surface fixation of dried blood by glutaraldehyde and praziquantel. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 57, p. 139-143, jun. 2004.

KELSEY, L., et al. **Guideline for use high level disinfectants & sterilants for reprocessing flexible gastrointestinal endoscopes**. Chicago, 2007. Disponível em: <www.sgna.org/Resources/hldguidelinefinal2007v3.pdf> Acesso em 15 jan. 2009.

- KIMMERY, M. B. et al. Transmission of infection by gastrointestinal endoscopy. **Gastrointest. Endosc.**, Denver, v. 39, n. 6, p. 885-88, apr. 1993.
- LAPPIN-SCOTT, M. H.; BASS, C. Biofilm formation: attachment, growth and detachment of microbes from surfaces. **Am. J. Infect. Control**, St. Louis, v. 29, n. 4, p. 250-51, aug. 2001.
- LEE, J. H. et al.. Efficacy of electrolyzed acid water in reprocessing patient-used flexible upper endoscopes: comparison with 2% alkaline glutaraldehyde. **J. Gastroenterol. Hepatol**, Melbourne, v. 19, p. 897-903, aug. 2004.
- LEUNG, J.; ALLERO, R.; WILSON, R. Surveillance cultures to monitor quality of gastrointestinal endoscope reprocessing [editorial]. **Am. J. Gastroenterol.**, New York, v. 98, n. 1, p. 3-5, jan. 2003.
- LINCOPAN, N.; TRABULSI, L.R. *Pseudomonas aeruginosa*. In: Trabulsi, L.R., Alterthum F. **Microbiologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2008. p. 369-381.
- LINDSAY, D.; VON HOLY, A. Bacterial biofilms within the clinical setting: what healthcare professionals should know. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 64, n. 4, p. 313-325, dec. 2006.
- LOUKILI, N.H., et al.. Effect of different stabilized preparations of peracetic acid on biofilm. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 63, n. 1, p. 70-72, mar. 2006.
- LOUKILI, N.H., et al.. Effect of peracetic acid and aldehyde disinfectants on biofilm. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 58, n. 2, p. 151-154, aug. 2004.
- MACHADO, A.P.; FISCHMAN, O.; GEOCZE, S. Análise microbiológica de gastroscópios descontaminados em aparelho cleanop WM-1 por uso de água eletrolítica ácida. **Arq. Gastroenterol.**, São Paulo, v. 42, n. 1, p. 60-62, jan./mar, 2005.
- MACHADO, P.A. et al.. Microbiologic profile of flexible endoscope disinfection in two brazilian hospitals. **Arq. Gastroenterol.**, São Paulo, v. 43, n. 4, p. 255-258, oct./dez. 2006.
- MANUAL do aparelho e acessórios VITEK. Hazelwood: Biomérieu, 2003.

MARION, K. et al.. Using an efficient biofilm detaching agent: an essential step for the improvement of endoscope reprocessing protocols. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 64, n. 2, p. 136-142, oct. 2006.

MARTINY, H.; FLOSS, H.; ZUHLSDORF, B. The importance of cleaning for the overall results of processing endoscopes. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 56, n. Supl. 2, p. S17-S22, apr. 2004.

MEYER, G.W. **Endoscope disinfection**. Waltham: Up To Date®, 2006.

Disponível em:

<http://www.uptodateonline.com/utd/content/topic.do?topicKey=gi_endos/7991&type=A&selectedTitle=1~1>. Acesso em: 17 ago. 2006.

MULLER, S.; GRAZIANO, K. G.; HOEFEL, H. H. K. **Manual de limpeza e desinfecção de aparelhos endoscópicos**. Sociedade Brasileira de Enfermagem em Endoscopia Gastrointestinal, 2006.

MURGA, R.; MILLER, J. M.; DONLAN, R. M. Biofilm formation by gram-negative bacteria on central venous catheter connectors : effect of conditioning films in a laboratory model. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v. 39, n. 6, p. 2294- 2297, june, 2001.

MUSCARELLA, L. F. Advantages and limitations of automatic flexible endoscope reprocessors. **Am. J. Infect. Control**, St. Louis, v. 24, n. 4, p.304-309, aug. 1996.

MUSCARELLA, L. F. Inconsistencies in endoscope-reprocessing and infection control guidelines: the importance of endoscope drying. **Am. J. Gastroenterol.**, New York, v. 101, n. 9, p. 2147-2154, sept. 2006.

NELSON, D. B. Infectious disease complications of GI endoscopy: part II, exogenous infections. **Gastrointest. Endosc.**, v. 57, n. 6, p. 695-711, may 2003.

NELSON, D. B., et al. Multisociety guideline for reprocessing flexible gastrointestinal endoscopes. **Dis. Colon Rectum.**, Philadelphia, v. 47, n. 4, p. 413-421, 2004.

NELSON, D.B.; MUSCARELLA, L.F. Current issues in endoscope reprocessing and infection control during gastrointestinal endoscopy. **World J. Gastroenterol.**, Beijing, v. 12, n. 25, p. 3953-3964, jul. 2006.

OBEE, P.C., et al.. Real-time monitoring in managing the decontamination of flexible gastrointestinal endoscopes. **Am. J. Infect. Control**, St. Louis, v. 33, n. 4, p. 202-206, may 2005.

PAJKOS, A.; VICKER, Y. K.; COSSART, Y. Is biofilm accumulation on endoscope tubing a contributor to the failure of cleaning na decontamination? **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 58, n. 3, p. 224-229, nov. 2004.

PERRET-VIVANCOS, C. et al.. Efficient removal of attached biofilm in a naturally contaminated colonoscope using detachment-promoting agents. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 68, n. 3, p. 277-278, mar. 2008.

RANJAN, P., et al.. A report of post-ERCP *Pseudomonas aeruginosa* infection outbreak. **Indian J. of Gastroenterol.**, Bombay, v. 24, p.131-132, may/jun. 2005.

REICHERT, M.F.; SCHULTZ, J.K. Infection control with endoscopes. In: Block SS. **Disinfection, sterilization and preservation**. 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 967-977.

REY, J. F.; KRUSE, A.; AXON, A. et al.. **Technical note on cleaning and disinfection**. Podoli Checoslovaquia: Medial Spol, c2006. Disponível em: www.medial.cz/cleantop/ESGE%20guidelines.PDF . Acesso em: 17 de dez. 2008.

RUTALA, W.A.; SHAFER, K.M. General information on cleaning, disinfection and sterilization. In: ASSOCIATION FOR PROFESSIONALS IN INFECTION CONTROL AND EPIDEMIOLOGY. **Infection control and applied epidemiolog**. St Louis (US): Mosby; 1996. p. 1-17.

RUTALA, W.A.; WEBER, D.J. **Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities**. Atlanta: CDC; 2008. Disponível em: <http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/sterile.html> > Acesso em:

RUTALA, W.A.; WEBER, D.J. How to asses risk of disease transmission to patients when there is a failure to follow recommended disinfection and sterilization guidelines. **Infect. Control Hosp. Epidemiol.**, Chicago, v. 28, n. 2, p.146-155, feb. 2007.

RUTALA, W.A.; WEBER, D.J. Reprocessing endoscopes: United States perspective. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 56, n. Suppl. 2, p. S27-S39, apr. 2004.

SANTOS, N.C.; PINHO, J.R.R.; LEMOS, M.F., et al.. Risk of hepatitis B virus transmission by diagnostic hysteroscopy. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 37, n. 5, p. 683-89, maio 2004.

SATTAR, S. A., et al.. Experimental evaluation of an automated endoscope reprocessor with in situ generation of peracetic acid for disinfection of semicritical devices. **Infect. Control. Hosp. Epidemiol.**, Chicago, v. 27, n. 11, p. 1193-99, nov. 2006.

SAVA, A. Biofilm digeston: more confusion than answer. **Am. J. Infect. Control**, St. Louis, v. 33, n.10, p.614, dec. 2008. Letter.

SBRISSA D. B., et al.. Vida Útil dos Endoscópios Flexíveis. In: CONGRESSO LATINOAMERICANO DE INGENIERIA BIOMEDICA, 2, 2001, Habana. **Memorias**. Habana: Sociedad Cubana de Bioingenieria, 2001. Artículo 00129.

SCHNEIDER, R. P. Biofilmes microbianos. **Microbiol. foco**, Berlin, v. 1, n. 2, p. 4-12, 2007.

SCHNEIDER, R.P.; FERREIRA, L.M.; BINDER, P, Analysis of foulant layer in all elements of an RO train. **J. Memb. Sci.**, Amsterdam, v. 261, n. 1/2, p. 152-162, 2005.

SELKON, J. B.; BABB, J. R.; MORRIS, R. Evaluation of the antimicrobial activity of a new super-oxidized water, Sterilox®, for the disinfection of endoscopes. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 41, p. 50-70, jan. 1999.

SEOANE-VASQUEZ, E. et al. Endoscopy-related infections and toxic reactions: an international comparison. **Endoscopy**, Stuttgart, v. 39, n. 8, p. 742-746, jun. 2007.

SPACH, D. H.; SILVERSTEIN, F. E.; STAMM, W. E. Transmission of Infection by Gastrointestinal Endoscopy and Bronchoscopy. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia, v. 118, n. 2, p. 117-128, 1993.

SPAULDING, F.H. Chemical disinfection of medical and surgical materials. In: Block SS. **Disinfection, sterilization and preservation**. Philadelphia: Lea & Fabinger; 1968. 517-531.

TSUJI, S.; KAWANO, S.; OSHITA, M.; OHMAE, A. et al. Endoscope disinfection using acidic electrolytic water. **Endoscopy**, v. 31, n. 7, p.528-535, sept. 1999.

TYTGAT, C.N.J. Limpeza e desinfecção dos instrumentos e acessórios. In: CLASSE, N. M., TYTGAT, C.N.J., LIGTDAL, C.J. **Endoscopia gastrointestinal**. Rio de Janeiro: Revinter, 2006. p. 95-100.

VANHEMS, P., et al.. Follow-up and management of patients exposed to a flawed automated endoscope washer-disinfector in a digestive diseases unit. **Infect. Control Hosp. Epidemiol.**, Chicago, v. 27, n. 1, p. 89-92, jan. 2006.

VICHERY, K., PAJKOS, A., COSSART, Y. Removal of biofilm endoscopes: evaluation of detergent efficiency. **Am. J. Infect. Control**, St. Louis, v. 32, n. 3, p. 170-176, 2004.

VISCAINO-ALCAIDE, M. J.; HERRUZO-CABRERA, R.; FERNANDEZ-ACENERO, M. J. Comparison of the disinfectant efficacy of Perasafe na 2% glutaraldehyde in vitro tests. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 53, p. 124-28, feb. 2003.

WIKIPÉDIA: a encyclopedia livre. Cambridge, 2008. Disponível em: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Teflon>>. Acesso em: 12 nov. 2008.

ZINKEVICH, V. et al.. The effect of super-oxidized water on *Escherichia coli*. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 46, p. 153-156, oct. 2000.

ZUHLSDORF, B., et al. Cleaning efficacy of nine different cleaners in a washer-disinfector designed for flexible endoscopes. **J. Hosp. Infect.**, Londres, v. 52, n. 3, p. 206-211, nov. 2002.

Apêndice A - Fotografia de materiais utilizados na elaboração do sistema experimental para a formação do biofilme

Apêndice B - Fotografia da escova utilizada na etapa de limpeza e do protótipo do endoscópio utilizado nas processadoras automáticas

Anexo 1 - Critérios de aceitação para validação da autoclave a vapor

RELATÓRIO DE VALIDAÇÃO TÉRMICA		
	Equipamento: Autoclave		Marca: SERCON
	N.º 570/08		
Rev.: 00	Data de emissão: 26/02/08	Página 12 de 13	

9. Critérios de Aceitação

Para ser considerada aprovada no Estudo de Distribuição de Calor, esta Autoclave deve apresentar resultados de acordo com os critérios de aceitação que seguem abaixo (após a autoclave entrar no processo a esterilização):

Para esterilização com 121 °C temperatura mínima de 120 °C e temperatura máxima de 123°C

Para esterilização com 134 °C temperatura mínima de 133 °C e temperatura máxima de 136°C

10. Validade dos Testes

Os resultados apresentados no presente documento tem significação restrita e se aplicam somente à autoclave ensaiada. Seu período de validade, foi estipulado em 1 ano a contar da data deste relatório, sendo que se nesse período ocorrer qualquer alteração estrutural do equipamento, esse documento perderá sua validade e esta autoclave deverá ser Revalidada.

O presente relatório é válido apenas para o equipamento acima caracterizado não sendo extensivo a quaisquer outros similares. É permitida a reprodução deste relatório somente de forma integral.

METROTEC®

Av. D. Pedro II, 2.042 B, Campestre - Santo André - SP - CEP 09080-001 - Fone/Fax: (11)4473-3620
 site: www.metrotec.com.br E-mail: metrotec@metrotec.com.br

Anexo 2 - Documento de aprovação da validação térmica da autoclave a vapor

RELATÓRIO DE VALIDAÇÃO TÉRMICA	
	Equipamento: Autoclave Marca: SERCON	
	N.º 570/08	
Rev.: 00	Data de emissão: 26/02/08	Página 13 de 13

11. Conclusão

Para os estudos de Distribuição e Penetração de Calor ,conforme os resultados apresentados no **ANEXO 1** (resultados coletados) e de acordo com os parâmetros estabelecidos pelo HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DA USP, mostrados no item 9 (Critérios de aceitação).Determinamos que este equipamento apresenta seu processo de esterilização **VALIDADO** .

QUADRO DE APROVAÇÃO

	Assinaturas	Data
Elaborador (es): Eng. Paulo R. Neves CREA n: 0682576030 METROTEC		<u>26/02/08</u>
Emissor : Karla F. A de Oliveira METROTEC		<u>26/02/08</u>
Executor técnico: Marcelo P. Aguiar METROTEC		<u>26/02/08</u>
Aprovador (es) Resp. HOSP. UNIVERSITÁRIO DA USP		<u>10/04/08</u> <u>10/04/08</u>

O presente relatório é válido apenas para o equipamento acima caracterizado não sendo extensivo a quaisquer outros similares. É permitida a reprodução deste relatório somente de forma integral.

METROTEC®

Av. D. Pedro II, 2.042 B. Campestre - Santo André - SP - CEP 09080-001 - Fone/Fax: (11)4473-3620
 site: www.metrotec.com.br E-mail: metrotec@metrotec.com.br

Anexo 3 - Carta de aprovação da câmara de pesquisa

São Paulo, 17 de janeiro de 2008.

Ilmo(a). Sr(a).

Profa. Dra. Kazuko Uchikawa Graziano
Departamento de Enfermagem Médico-Cirúrgica
Escola de Enfermagem
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

REFERENTE: **Projeto de Pesquisa** "Avaliação da eficácia de agentes de limpeza e desinfetantes na remoção de biofilme aderidos em endoscópios digestivos" - **Co-Autor(es):** Ana Cristina Balsamo - **Registro CEP-HU/USP:** 792/08

Prezado(a) Senhor(a)

A Câmara de Pesquisa do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, em 14 de janeiro de 2008 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,

Profa. Dra. Raquel Rapone Gaidzinski
Vice-Presidente da Câmara de Pesquisa
Hospital Universitário - USP