UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM

MAÍRA MARQUES RIBEIRO

O IMPACTO DA FRICÇÃO, DA SOLUÇÃO DE LIMPEZA E DA SUBSEQUENTE DESINFECÇÃO DE ALTO NÍVEL NA REMOÇÃO DE BIOFILME BUILDUP-5 E DE BIOFILME TRADICIONAL-5 EM CANAIS ENDOSCÓPICOS GASTROINTESTINAIS FLEXÍVEIS

SÃO PAULO – SP
2016

MAÍRA MARQUES RIBEIRO

O IMPACTO DA FRICÇÃO, DA SOLUÇÃO DE LIMPEZA E DA SUBSEQUENTE DESINFECÇÃO DE ALTO NÍVEL NA REMOÇÃO DE BIOFILME BUILDUP-5 E DE BIOFILME TRADICIONAL-5 EM CANAIS ENDOSCÓPICOS GASTROINTESTINAIS FLEXÍVEIS

Versão corrigida da tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Enfermagem na Saúde do Adulto (PROESA) da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de concentração: Enfermagem na Saúde do Adulto

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Kazuko Uchikawa Graziano

VERSÃO CORRIGIDA

A versão original encontra-se disponível na Biblioteca da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo e na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da Universidade de São Paulo.

SÃO PAULO – SP

2016

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

Assinatura:_____

Data:_____/_____/_____

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

Ribeiro,Maíra Marques
O impacto da fricção, solução de limpeza e subsequente desinfecção de alto nível na remoção de biofilme buildup-5 e de biofilme tradicional-5 em canais endoscópicos gastrointestinais flexíveis / Maíra Marques Ribeiro. São Paulo,2016.
97p.

Tese(Doutorado)- Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo.
Orientadora: Prof.ª Dr.ª Kazuko Uchikawa Graziano
Área de Concentração: Enfermagem na Saúde do Adulto

1. Biofilmes. 2. Detergentes. 3. Desinfecção. 4. Endoscópios. 5. Fricção. I. Título.

Nome: Maíra Marques Ribeiro

Título: O impacto da fricção, solução de limpeza e subsequente desinfecção de alto nível na remoção de biofilme buildup-5 e de biofilme tradicional-5 em canais endoscópicos gastrointestinais flexíveis.

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

Aprovado em: _____/_____/_____

Banca Examinadora

Nome:_____ Instituição:_____

Julgamento:_____ Assinatura:_____

Nome:_____ Instituição:_____

Julgamento:_____ Assinatura:_____

Nome:_____ Instituição:_____

Julgamento:_____ Assinatura:_____

Nome:_____ Instituição:_____

Julgamento:_____ Assinatura:_____

Nome:_____ Instituição:_____

Julgamento:_____ Assinatura:_____

DEDICATÓRIA

Ao meu esposo, **Vinícius**, companheiro desta grande e feliz jornada, por ficar ao meu lado com muito carinho e compreensão.

Aos meus **pais, Tiago e Albanita**, pelo empenho em minha educação como pessoa e profissional e pelas orações.

À minha **irmã, Tiara**, pelo apoio incondicional, por vibrar sempre comigo em minhas conquistas, com muita luz e verdade, e por ser meu ombro amigo nos momentos de desafios.

À minha querida **orientadora, Prof.ª Dr.ª Kazuko Uchikawa Graziano**, por ser para mim um exemplo de ser humano e de profissional. Ter a oportunidade de conhecê-la e de conviver com você nestes quatro anos foi uma bênção de Deus.

À professora **Silma Maria Cunha Pinheiro Ribeiro**, *in memorian*, por ser minha grande incentivadora em enfrentar novos desafios. Em vários momentos desta jornada, tive vontade de compartilhar as minhas vitórias e desafios com você. Tenho certeza que está vibrando comigo agora, como sempre esteve.

A todos os profissionais e pessoas que buscam melhores práticas no processamento dos endoscópios gastrointestinais.

AGRADECIMENTOS

A **Deus,** fonte de fortaleza e discernimento, por ser meu guia, e por colocar tantas pessoas especiais e de luz em minha vida.

À minha querida orientadora e hoje amiga, **Prof.ª Dr.ª Kazuko Uchikawa Graziano**, pelo respeito a mim dispensado como pessoa, profissional e doutoranda. Obrigada por cada instante, cada encontro presencial ou à distância, cada momento de silêncio que me fez refletir sobre a melhor forma de direcionar a minha postura pessoal e profissional, sendo a humildade um dos principais quesitos. Obrigada por reforçar em mim a inquietação científica e a crença de que podemos executar uma Enfermagem cada vez melhor, pautada em evidências científicas.

À **Prof.ª Dr.ª Michelle Alfa** pela oportunidade e acolhida em Winnipeg - Canadá. Obrigada pelos ensinamentos práticos e teóricos, pelo apoio financeiro para subsidiar os experimentos laboratoriais desta pesquisa, oferecendo-me tudo que era necessário. Obrigada pela atenção, pela escuta, pelas instigações e pelos esclarecimentos às minhas dúvidas de forma tão respeitosa. Muito obrigada pelo carinho e pelo cuidado, que também são extensivos ao seu esposo, Dr. Alfa.

À **Prof.ª Dr.ª Maria Clara Padoveze**, por todo apoio, oportunidades e indagações que proporcionaram o meu crescimento profissional.

À minha **amiga Vanessa Póvoa**, pela acolhida, carinho, empenho e incentivo nesta jornada, fazendo sempre o seu melhor. O agradecimento também é extensivo ao seu esposo, **Bruno Póvoa,** pela acolhida em seu lar, e à minha linda **Luana**.

À minha **amiga Alexandra Toniolo**, pela confiança, carinho, apoio e momentos de troca de conhecimentos. Você foi imprescindível para a concretização desta etapa da minha vida.

A todos do grupo de pesquisa. Em especial, a **Camila Quartim de Moraes Bruna, Rafael Queiroz Souza, Caroline Lopes Ciofi Silva, Alda Graciele Cláudio dos Santos Almeida e Flávia Morais Gomes Pinto,** por vivenciarem mais de perto este projeto de vida, com importantíssimas contribuições, as quais possibilitaram que a adaptação desta mineirinha em São Paulo fosse tão prazerosa.

À **Nancy Olson e** à **Pat DeGagne**, técnólogas do Laboratório de Microbiologia do *Research Centre Sant Boniface,* pelo excelente treinamento e acolhida.

Ao **Prof. Dr. Rodrigo França**, pela prontidão em nos auxiliar nas análises de microscopia.

À **Prof.ª Dr.ª Karen Vickery** e ao **Prof.ª Dr. Evandro Watanabe,** pelas valiosas contribuições para a construção dos métodos de investigação desta pesquisa.

A **todos os meus mestres**, em especial à **Prof.ª Dr.ª Adriana Cristina de Oliveira,** pela oportunidade de inserção no campo da pesquisa e por todo o conhecimento a mim proporcionado, que me permitiu chegar aqui.

Aos **meus familiares, em especial à Dindinha e à vovó Lúcia, e aos familiares do meu esposo, Vinícius,** por estarem sempre na torcida para a concretização deste projeto.

Às minhas colegas **Ana Miranda, Tetê Neide, Lúcia Tomiato, Vânia Gouveia, Rosa Aires, Júlia Kawagoe e Cláudia Vallone**, pela torcida, apoio e troca de conhecimento e por estarem juntas na busca do exercício da Enfermagem pautada em evidências.

Às amigas. Em especial, **Laís Melo, Rafaela Magalhães, Adriana Bittencourt, Maria Luiza Carvalho, Thaís Mirelle, Greizielle Tavares, Izabela Campos, Andréa Fonseca, Larissa Facella, Débora Santos, Iara Simão, Marília Lelé e Roberta El Hariri Viana**, pela torcida e carinho.

Às colegas de trabalho **Camila Passos, Belisa Silveira, Kênya Costa** e **Patrícia Oliveira,** pelo apoio incondicional.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES),** pela bolsa de estudo e pelo apoio financeiro para o treinamento no *St. Boniface Research Centre*, Winnipeg, MB, Canada.

À **Cristiana Costa Luciano,** pelo auxílio na execução de alguns experimentos.

À **Déborah Ribeiro e Rúbia Bonifácio**, minhas colegas de trabalho, pelo apoio e compreensão.

À **empresa Ruhof**, pelo fornecimento do dispositivo de limpeza *pull thru*, do detergente Endozime e dos testes de ATP para esta pesquisa.

Este trabalho foi desenvolvido na Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo, no Programa de Pós-Graduação em Enfermagem na Saúde do Adulto (PROESA), com a colaboração do *Research Centre* do *Saint Boniface General,* filiado *à University* de *Manitoba,* sob a coordenação da Prof.ª Dr.ª Michelle Alfa, com apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Ribeiro MM. O impacto da fricção, solução de limpeza e subsequente desinfecção de alto nível na remoção de biofilme buildup-5 e de biofilme tradicional-5 em canais endoscópicos gastrointestinais flexíveis. [tese]. São Paulo: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2016.

RESUMO

Introdução: Biofilme consiste em um conjunto de microrganismos embutidos em uma matriz extracelular. O biofilme tradicional (TBF) se desenvolve em locais com contínua hidratação, e o biofilme *buildup* (BBF), em produtos para a saúde expostos a repetidos ciclos de sujidade, limpeza, desinfecção e secagem. **Objetivo**: avaliar o impacto do uso de detergente e fricção para remover biofilme buildup-5 (BBF-5) e biofilme tradicional-5 (TBF-5) de canais endoscópicos gastrointestinais flexíveis, bem como o impacto do glutaraldeído após a limpeza. **Métodos:** O BBF-5 foi desenvolvido após a exposição da superfície interna dos canais de endoscópicos gastrointestinais ao *Artificial Test Soil* (ATS) contendo 10^8UFC/ml de *Pseudomonas aeruginosa* (PA) e *Enterococcus faecalis* (EF), limpeza, desinfecção de alto nível (DAN), enxágue e secagem durante cinco dias. O mesmo processo foi utilizado para desenvolver o TBF-5, porém a fase de DAN foi omitida. Limpeza com detergentes com enzimas de pH neutro e detergentes sem enzimas com pH alcalino, escova com cerdas e dispositivo de limpeza *pull thru* foram comparados à limpeza com água e sem fricção para remover o BBF-5 e o TBF-5. Testes de proteína e carboidrato, contagem de bactérias viáveis e adenosina trifosfato (ATP) foram realizados. Teste de Kruskal-Wallis e análise de post hoc Dunn-Bonferroni foram realizados. **Resultados:** Não houve diferença estatisticamente significante ($p>0,05$) entre a quantidade de EF e PA nos canais com TBF-5 e BBF-5. Não houve diferença da eficácia para a remoção de PA em TBF-5 entre o detergente enzimático e a água, em ambas as situações, a limpeza apenas não foi eficaz ($p>0,05$) na ausência de fricção (*flush*). Por outro lado, o detergente alcalino, associado a todos os procedimentos de limpeza (ausência e presença de fricção) e DAN, foi eficaz para remoção de PA. Para a remoção de EF em TBF-5, a eficácia da limpeza foi alcançada em todas situações avaliadas (com e sem fricção) com o uso do detergente enzimático; com a água, na presença de fricção (pull thru e escovas de cerdas); e com detergente alcalino, apenas com o método de limpeza com escovas de cerdas ($p<0,05$). Para a remoção de bactérias em BBF-5, formados em canais de PTFE, não houve diferença da eficácia para a remoção de PA entre o detergente enzimático e o alcalino, em ambas situações, todos os procedimentos avaliados foram eficazes ($p<0,05$), enquanto que a água foi ineficaz para remoção de PA apenas na ausência de fricção ($p>0,05$). Para a remoção de EF em BBF-5, o detergente enzimático e a água foram eficazes em todas situações avaliadas; o detergente alcalino, foi eficaz na presença de fricção com o dispositivo pull thru e escovas de cerdas ($p<0,05$). Testes de ATP, proteína e carboidrato foram incapazes de detectar biofilme. **Conclusão:** Água potável de torneira, detergente com enzimas e detergente alcalino sem enzimas foram eficazes para a completa remoção de BBF-5 e TBF-5 na presença de fricção (*pull thru* ou escova com cerdas) durante a limpeza. Na ausência de fricção, detergente enzimático apresentou maior habilidade para remover *E. faecalis* de TBF-5 e BBF-5, detergente alcalino para remover *P. aeruginosa* e a água não foi eficaz para a remoção de ambos microrganismos. Glutaraldeído destruiu bactérias remanescente após a maioria das combinações de limpeza avaliadas.

PALAVRAS-CHAVE: Biofilmes. Detergentes. Desinfecção. Endoscópio. Fricção.

Ribeiro MM. The impact of friction, and cleaning solution and subsequent high-level disinfection in removal cyclic buildup biofilm and cyclic biofilm on flexible endoscopic gastrointestinal channels [thesis]. São Paulo (SP), Brasil: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2016.

ABSTRACT

Background: Biofilm is the accumulation of microorganisms enclosed in an extracellular matrix. Traditional biofilm (TBF) develops under continuous hydration whereas buildup biofilm (BBF) develops on medical devices that are exposed to repeated cycles of soiling, cleaning, disinfection and drying. **Objetive:** to evaluat the impact of detergent and friction on BBF-5 and and TBF-5 removal from PTFE channels as well as the killing efficacy of glutaraldehyde post cleaning. **Methods:** BBF-5 was developed by repeated rounds over five days of exposure to bacteria, cleaning, high level disinfection (HLD), rinsing and drying of the inner surface of new polytetrafluorethylene (PTFE) channels. Artificial Test Soil (ATS) containing 10^8CFU/ml of *Pseudomonas aeruginosa* (PA), and *Enterococcus faecalis* (EF) was used for the bacterial exposure. The same process was used to develop TBF-5, however the HLD step was omitted. Cleaning with enzymatic and alkaline detergents, bristle brush and pull thru cleaner were compared to a water-flush only to determine BBF-5 and TBF-5 removal. The residual organic and microbial levels were tested using carbohydrate, and protein assays as well viable count, and adenosine triphosphate (ATP) testing. Kruskal-Wallis test and the post hoc Dunn-Bonferroni analysis were performed. **Results:** There was not a statistically significant difference ($p > 0.05$) between the amount of EF and PA in the channels with TBF-5 and BBF-5. There was not a difference in efficacy for the removal of PA in TBF-5 between the enzymatic detergent and water and in both situations, only cleaning was not effective ($p>0.05$) in the absence of friction (flush). Furthermore, the alkaline detergent, associated with all cleaning procedures (absence and presence of friction) and DAN, was effective for the removal of PA. For removal of EF in TBF-5, cleaning efficacy was achieved in all procedures evaluated (with and without friction) with the use of enzymatic detergent; with water in the presence of friction (pull thru and bristle brushes); and an alkaline detergent, the only method of cleaning brushes with bristles ($p<0.05$). For the removal of bacteria in BBF-5 formed on PTFE channels, there was not a difference in efficacy for PA removal of the enzymatic and alkalyne detergent and in both situations, all procedures were evaluated effective ($p<0.05$), while water was ineffective for PA removal only in the absence of friction ($p>0.05$). For EF removal on BEF-5, the enzymatic detergent and water were evaluated effective in all situations; alkaline detergent, was effective in the presence of friction with the pull thru device and bristle brushes ($p<0.05$). ATP, protein and carbohydrate testing were unable to detect biofilm. **Conclusion:** Tap water, enzymatic and alkaline detergent were effective for complete BBF-5 and TBF-5 removal in the presence of friction (pull thru or bristle brush) and a flushing pump during the cleaning. Without friction, enzymatic detergent was more effective for EF removal of TBF-5 and BBF-5, alkalyne detergent was more effective for PA removal and water was not effective for both types of bacterial removal. Glutaraldehyde effectively killed the remaining microorganisms after some cleaning combinations were tested.

KEYWORDS: Biofilms. Detergents. Disinfection. Endoscope. Friction.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Partes do endoscópio gastrointestinal flexível: cabeça, tubo de inserção e cordão umbilical 27

Figura 2 - Componentes internos do tubo de inserção do endoscópio gastrointestinal flexível - imagem real 28

Figura 3 - Componentes do tubo de inserção do endoscópio gastrointestinal flexível - imagem esquemática 28

Figura 4 - Constituintes básicos dos endoscópios gastrointestinais flexíveis 29

Figura 5 - Partes da cabeça do endoscópio gastrointestinal flexível 29

Figura 6 - Processador e monitor para a realização da endoscopia gastrointestinal 30

Figura 7 - Conexão da garrafa de água ao endoscópio gastrointestinal 31

Figura 8 - Conexão do tubo de aspiração ao cordão umbilical do endoscópio gastrointestinal flexível 31

Figura 9 - Adaptadores utilizados para o preenchimento dos canais endoscópicos gastrointestinais com soluções de limpeza e água para o enxágue 35

Figura 10 - Dispositivos de limpeza dos canais endoscópicos gastrointestinais 36

Figura 11 - Comparação da sujidade visual nos canais que serviram de controle positivo e após a limpeza com a escova *pull thru* 37

Figura 12 - Importância do diâmetro da escova para a limpeza efetiva do canal endoscópico gastrointestinal flexível 37

Figura 13 - Curvatura que impede a introdução de escova de limpeza no canal de ar/água do endoscópio gastrointestinal flexível 38

Figura 14 - Análise por microscopia eletrônica dos elementos químicos de um canal endoscópico novo, com destaque para o flúor (F) 48

Figura 15 - Fases de desenvolvimento do biofilme 49

Figura 16 - Biofilme tradicional e biofilme *buildup* 50

Figura 17 - *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) em placas de ágar sangue 56

Figura 18 - Perfusão dos canais de PTFE com o ATS-bactéria na bomba peristáltica 58

Figura 19 - Visualização por microscopia eletrônica de varredura do acúmulo de material em um canal de PTFE após ciclos de exposição ao ATS-bactéria, enxágue, secagem, DAN, enxágue e secagem 59

Figura 20 - Procedimentos do processamento dos canais de PTFE após formação de TBF-5 e BBF-5, limpeza e DAN 62

Figura 21 - Etapas dos procedimentos de limpeza, do enxágue, da secagem e da DAN realizadas nos canais de PTFE 64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Avaliação da atividade antibacteriana do neutralizante, do detergentes e do desinfetante de alto nível 70

Tabela 2 - Unidades relativa de luz nos segmentos de PTFE com TBF-5 e BBF-5 (sujidade e enxágue) e após os procedimentos de limpeza e DAN 71

Tabela 3 - Comparação do impacto da limpeza com pull thru, escovas de cerdas e ausência de fricção (*flush*), com uso de detergente enzimático, alcalino e água de torneira não esterilizada, e da DAN na remoção de *E. faecalis* e *P. aeruginosa* em biofilme tradicional-5 73

Tabela 4 - Comparação do impacto da limpeza com pull thru, escovas de cerdas e ausência de fricção (flush), com uso de detergente enzimático, alcalino e água de torneira não esterilizada, e da DAN na remoção de *E. faecalis* e *P. aeruginosa* em biofilme buildup-5 74

Tabela 5 - Níveis de carboidrato em segmentos de PTFE com TBF-5 e BBF-5 (controle positivo) e após os procedimentos de limpeza e DAN..... 75

Tabela 6 - Níveis de proteína em segmentos de PTFE com TBF-5 e BBF-5 (controle positivo) e após os procedimentos de limpeza e DAN..... 76

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Quadro 1 – Combinações de procedimentos de limpeza e desinfecção avaliadas para a remoção de BBF-5 e TBF-5 em canais endoscópicos gastrointestinais de PTFE 55

LISTA DE SIGLAS

ATP -	Adenosina Trifosfato
ANVISA -	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AAMI -	*Association for the Advancement of Medical Instrumentation*
ANSI -	*American National Standards Institute*
AORN -	*Association of periOperative Registered Nurses*
ATS -	*Artificial Test Soil*
ATCC -	*American Type Culture Collection*
ASGE -	*American Society for Gastrointestinal Endoscopy*
BBF -	Biofilme *buildup*
BSG -	*British Society of Gastroenterology*
CDC -	*Centers for Diseases Control and Prevention*
CME -	Concentração mínima efetiva
CPRE -	Colangiopancreatografia retrógrada
DAN -	Desinfecção de alto nível
EFP -	*Endo Flushing Pump*
EPS -	Polissacarídeo extracelular
ESBL -	*Extended-Spectrum Betalactamase*
ESGE -	*European Society of Gastrointestinal Endoscopy*
EUA -	*Estados Unidos da América*
FDA -	*Food and Drug Administration*
HICPAC -	*Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee*
KPC -	*Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase
MRSA -	*Staphylococcus aureus* resistente a meticilina
PTFE -	Politetrafluoretileno
RNA -	Ácido ribonucleico
SHEA -	*Society for Healthcare Epidemiology of America*
SOBED -	Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva
SOBEEG -	Sociedade Brasileira de Enfermagem em Endoscopia Gastrointestinal
TBF -	Biofilme tradicional
URLs -	Unidades Relativas de Luz
VHB -	Vírus da hepatite B
VHC -	Vírus da hepatite C

LISTA DE UNIDADES DE MEDIDA

cm^2	Centímetro quadrado
DP	Desvio padrão
g	Grama
^{O}C	Grau Celsius
kPa	Kilopascal
Log	Logarítimo
μg	Micrograma
μl	Microlitro
μmol	Micromol
ml	Mililitro
mm	Milímetro
nm	Nanômetro
nmol	Nanomol
ppm	Partes por milhão
rpm	Rotações por minuto
UFC	Unidade formadora de colônia

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 19

2 OBJETIVO 24

3 REVISÃO DE LITERATURA 26

3.1 Tipos e estrutura dos endoscópios gastrointestinais 28
3.2 Recomendações para a limpeza do endoscópio gastrointestinal flexível 32
3.2.1 Pré-limpeza 32
3.2.2 Teste de vedação 33
3.2.3 Limpeza 34
3.3 Transmissão cruzada de microrganismos via endoscópio gastrointestinal contaminado após o processamento 41
3.4 Biofilme e o endoscópio gastrointestinal 47

4 MATERIAIS E MÉTODOS 54

4.1 TIPO DE PESQUISA 54

4.2 LOCAL DE ESTUDO 54

4.3 MATERIAL 54
4.3.1 Unidades amostrais 54

4.4 VARIÁVEIS DO ESTUDO 54
4.4.1 Variável dependente 54
4.4.2 Variáveis independentes 55

4.5 PROCEDIMENTOS PARA PROCESSAMENTO E COLETA DE DADOS 55
4.5.1 Avaliação das condições de integridade e composição química da superfície interna dos canais endoscópicos gastrointestinais 55
4.5.2 Contaminação dos canais endoscópicos gastrointestinais 56
4.5.3 Grupos controles e experimentais 60
4.5.4 Soluções de limpeza 63

4.6 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS 64
4.6.1 Método de extração do PTFE 64
4.6.2 Adenosina Trifosfato (ATP) 65
4.6.3 Resíduo orgânico 66
4.6.4 Quantificação da carga microbiana 66

4.7 TESTES CONTROLE DE POSSÍVEIS VARIÁVEIS DE CONFUSÃO 67
4.7.1 Teste dos detergentes 67
4.7.2 Teste do desinfetante 67
4.7.3 Teste da água de torneira 67
4.7.4 Verificação do fluxo e descontaminação da EFP 250 68

4.8 APRESENTAÇÃO E TRATAMENTO DOS DADOS 68

5 RESULTADOS **70**

6 DISCUSSÃO **78**

7 CONCLUSÃO **85**

REFERÊNCIAS **87**

ANEXO **97**

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A endoscopia gastrointestinal representa um importante recurso diagnóstico e terapêutico amplamente utilizado nos serviços de assistência à saúde. Após a realização dos exames de endoscopia gastrointestinal, os endoscópios tornam-se contaminados, interna e externamente, por bactérias, fungos e vírus das hepatites B e C (Chu, MCalister, Antonoplos, 1998; Alfa, DeGagne, Olson, 1999; Alfa et al., 2002; Ishino, Ido, Sugano, 2005; Obee et al., 2005; e Barbosa, 2008). A carga microbiana pode variar de 10^3 a 10^{10} unidades formadoras de colônias por mililitro - UFC/ml (Chu, MCalister, Antonoplos, 1998; Chu, Favero, 2000; e Machado et al., 2006). O contato do endoscópio com a mucosa do trato gastrointestinal resulta também na contaminação deste equipamento com matéria orgânica. Níveis de 115 $\mu g/cm^2$ de proteína, 7,4 μmol de íon sódio, 85 $\mu g/cm^2$ de hemoglobina, 29,1 $\mu g/cm^2$ de carboidrato, 299 $nmol/cm^2$ de billirrubina e 9.852 $unidades/cm^2$ de endotoxina foram detectados em eluídos dos canais de sucção de endoscópios gastrointestinais após o uso (Alfa, DeGagne, Olson, 1999).

Em virtude da múltipla utilização dos endoscópios gastrointestinais nos exames de endoscopia, é preciso processar estes equipamentos adequadamente após o seu uso, para que se possa reduzir o risco de transmissão cruzada de microrganismos (Beillenhoff et al., *European Society of Gastrointestinal Endoscopy* (ESGE) *Guidelines Committee*, 2008).

O protocolo de processamento dos endoscópios gastrointestinais deverá contemplar as seguintes etapas: pré-limpeza, transporte, teste de vedação, limpeza, enxágue, secagem, inspeção ou teste de limpeza, desinfecção de alto nível (DAN) ou esterilização, monitorização do processo, enxágue para remoção de desinfetante químico, secagem, *flush* com álcool 70%, secagem e armazenamento (Sociedade Brasileira de Enfermagem em Endoscopia Gastrointestinal - SOBEEG, 2005; *Centers for Desease Control and Prevention* - CDC, 2008a; Beillenhoff et al., ESGE Guidelines Committee, 2008; *American Society for Gastrointetinal Endoscopy* - ASGE; *Society for Healthcare Epidemiology of America* - SHEA, 2011; *British Society of Gastroenterology* - BSG, 2014; *American National Standards Institute* - ANSI/*Association for the Advancement of Medical Instrumentation* - AAMI, 2015; e *Association of Perioperative Registered Nurses* - AORN, 2016). A instilação de álcool a 70% p/v, seguida por secagem com ar comprimido, no interior dos canais endoscópicos gastrointestinais, ao final do turno de trabalho, é fortemente recomendada, com o objetivo de reduzir o risco de recontaminação dos canais por microrganismos da água e otimizar a secagem (SOBEEG, 2005; CDC, 2008a; ASGE; SHEA, 2011).

A existência de protocolos direcionados ao processamento dos endoscópios gastrointestinais nos serviços de endoscopia não garante que as recomendações neles descritas sejam seguidas rigorosamente pelos profissionais responsáveis por este processo. Falhas na limpeza e na desinfecção dos endoscópios gastrointestinais resultaram na contaminação de 84,6% (33/39) de colonoscópios e de 80,6% (50/62) de gastroscópios, mesmo diante da existência de procedimentos operacionais padrão em 80,0% (30/37) dos serviços de endoscopia investigados em uma capital brasileira (Ribeiro et al., 2013).

Dentre os tipos de microrganismos já recuperados nos endoscópios gastrointestinais após o processamento, citam-se: *Mycobacterium chelonae, Mycobacterim fortuitum*, *Mycobacterium kansasii, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA), *Bacillus* spp., *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Enterococcus faecalis, Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *Serratia marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Micrococcus luteus* (Rejchrt et al., 2004; Lee et al., 2004; Machado et al., 2006; Vergis et al., 2007; Barbosa, 2008; Ribeiro et al., 2013) e RNA do vírus da hepatite C (Bisset et al., 2006). A eliminação incompleta desses microrganismos da superfície externa e interna dos endoscópios gastrointestinais após o processamento atesta que a desinfecção de alto nível não foi atingida, pois após este processo espera-se eliminar bactérias vegetativas, fungos, micobactérias e vírus envelopados e não envelopados (Spaulding; Emmons, 1958).

A presença de microrganismos, sensíveis ou multirresistentes a antimicrobianos, nos endoscópios gastrointestinais após o processamento confere risco de transmissão cruzada de microrganismos aos pacientes, podendo resultar em colonização, quadros infecciosos e mortes (Spach, Silverstein, Stamm, 1993; Kimmey et al.,1993; Cowen, 2001; Aumeran et al., 2010; Carbone et al., 2010; Bajolet et al., 2013; Kovaleva et al., 2013; Alrabaa et al., 2013; Epstein et al., 2014; Food and Drug Administration (FDA), 2015). A taxa de transmissão de microrganismos relacionada a endoscópios gastrointestinais contaminados após o processamento encontra-se entre 30 e 40% (Carbone et al., 2010; Epstein et al 2014). Em 2016, endoscópios gastrointestinais foram apontados como a principal tecnologia da saúde capaz de oferecer risco ao paciente, devido à possibilidade de disseminação de patógenos fatais resultante da limpeza inadequada destes equipamentos antes da desinfecção (*Emergency Care Research Institute* (ECRI), 2015).

Como forma de evitar ou reduzir o risco de transmissão cruzada de microrganismos entre os pacientes que realizam a endoscopia gastrointestinal, a adesão rigorosa a todas as etapas do processamento é de grande importância para o alcance da efetividade de todo o processo, sendo cruciais as fases da limpeza e secagem (SOBEEG, 2005; CDC, 2008a;

Ofstead et al., 2010; ASGE; SHEA, 2011; Ribeiro et al., 2013; Alrabaa et al., 2013; BSG, 2014; ANSI/AAMI, 2015; e AORN, 2016).

Entretanto, estudos demonstraram inobservâncias aos protocolos de limpeza dos endoscópios gastrointestinais pelos profissionais responsáveis pelo processamento, por exemplo: utilização inadequada do detergente enzimático no que diz respeito ao controle da temperatura da solução e ao tempo de imersão do endoscópio; não preenchimento dos canais com a solução de limpeza ou preenchimento sem o uso de adaptadores; não fricção dos canais ou frequência indefinida da fricção; e utilização das escovas de limpeza de forma inadequada ou por tempo indefinido (Alfa et al., 2002; Machado et al., 2006; Barbosa, 2008; e Ribeiro et al., 2013).

Embora se reconheça a extrema importância da adesão aos protocolos de limpeza dos endoscópios gastrointestinais, a limpeza rigorosa dos duodenoscópios antes da desinfecção de alto nível (DAN) deve reduzir o risco de infecção, porém não o elimina (ASGE, 2015). Isso ocorre porque os endoscópios gastrointestinais recebem alta pontuação de risco no que diz respeito à dificuldade para realizar a limpeza, em decorrência do *design* complexo, com canais, longos e estreitos, que não podem ser vistos nem desmontados (Graziano et al., 2006). Estas características inerentes a estes equipamentos, a não adesão dos profissionais aos protocolos de limpeza e alterações de integridade da superfície interna dos canais endoscópicos gastrointestinais, em consequência aos múltiplos usos, podem contribuir para a retenção de matéria orgânica e de microrganismos em seu interior, bem como para a consequente formação de biofilme (Pajkos, Cossart, Vickery, 2004).

O biofilme formado no interior dos canais endoscópicos é denominado biofilme *buildup* (BBF), o qual oferece maior desafio à remoção que o biofilme tradicional (Alfa; Howie, 2009; e Zhong et al., 2009). A remoção de BBF dos canais endoscópicos gastrointestinais pode ser impossível mesmo após vários procedimentos de limpeza e DAN, sendo necessário a troca do canal endoscópico para a resolução do problema (Quiu et al., 2015). Enquanto o biofilme tradicional desenvolve durante uma hidratação contínua, o BBF forma após vários ciclos de exposição a secreções do paciente, limpeza, desinfecção de alto nível, enxágue e secagem. Este processo "cíclico" resulta em gradual acúmulo e fixação de material orgânico com microrganismos em seu interior (Alfa, Howie, 2009; e Zhong et al., 2009).

Como forma de prevenir ou dificultar a formação do BBF, torna-se necessário proceder a uma limpeza rigorosa, à fricção dos canais e à utilização de uma solução de limpeza validada para o uso em endoscópios gastrointestinais. As instruções dos fabricantes

destes equipamentos e os *guidelines* de limpeza e desinfecção dos endoscópios gastrointestinais enfatizam a necessidade de realizar a fricção de todos os canais (SOBEEG, 2005; CDC, 2008a; ASGE; SHEA, 2011; BSG, 2014; ANSI/AAMI, 2015; e AORN, 2016). Entretanto, há canais, como os de ar e água, em que o *design* (diâmetro interno e bifurcação do canal) não permite que dispositivos de fricção, como as escovas de cerdas, sejam utilizadas durante a limpeza. Dessa forma, este canal apenas pode ser limpo utilizando *flush* de detergente e água (Ribeiro, Oliveira, 2012; e Ribeiro et al., 2013). De outro lado, há processadoras automatizadas de endoscópios que eliminam a necessidade de limpeza manual (incluindo a fricção dos canais) antes da DAN (Alfa, DeGagne, Olson, 2010; e Pineau, Phillipe, 2013). Entretanto, a eficácia dessas processadoras automatizadas não tem sido avaliada no que diz respeito à remoção de BBF.

Historicamente, o detergente enzimático foi recomendado nos *guidelines* como a melhor solução de limpeza para os endoscópios gastrointestinais (SOBEEG, 2005). *Guidelines* atuais não especificam a obrigatoriedade do uso do detergente enzimático, mas recomendam o uso de uma solução de limpeza aprovada pelos fabricantes dos endoscópios (Beilenhoff et al., ESGE *Guideline Committee* 2008; ASGE, 2011; BSG, 2014; AORN, 2016).

Diante da ausência de estudos que avaliaram o impacto da fricção na remoção de BBF, com diferentes dispositivos de limpeza mecânica, e da escassez de pesquisas que avaliaram a ação de diferentes soluções de limpeza também com este objetivo, esta pesquisa se propôs avaliar estes aspectos, assim como a habilidade do glutaraldeído em matar bactérias dentro de biofilme após os procedimentos de limpeza realizados. As hipóteses deste estudo foram: 1) Fricção é necessária para remover biofilme desenvolvido em canais endoscópicos gastrointestinais, mesmo quando *flush* com métodos de pressão são realizados; 2) Detergente com enzimas e de pH neutro não é mais efetivo do que detergente sem enzimas e com pH alcalino; 3) Glutaraldeído não é capaz de matar bactérias após o desenvolvimento de biofilme.

Considera-se que a avaliação do impacto de novas tecnologias e métodos de limpeza já consolidados e utilizados na prática mas ainda não testados no que diz respeito à remoção de biofilme é de grande importância. Isto possibilita que o profissional possa se amparar em práticas baseadas em evidências em suas rotinas diárias relacionadas ao processamento dos endoscópios gastrointestinais. Espera-se que esta pesquisa permita o conhecimento de possíveis lacunas que precisam ser resolvidas nestes processos, para que se possa contribuir para a segurança ao paciente que se submete à endoscopia gastrointestinal.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o impacto da fricção, da solução de limpeza, e da subsequente desinfecção de alto nível na remoção do biofilme buildup-5 (BBF-5) e do biofilme tradicional-5 (TBF-5), em canais endoscópicos gastrointestinais flexíveis.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver um processo de formação biofilme misto nos canais endoscópicos gastrointestinais que simule o biofilme *buildup* formado nestes equipamentos.
- Comparar o impacto da ausência de fricção (apenas *flush*) e fricção dos canais endoscópicos gastrointestinais, com escovas de cerdas e dispositivos de limpeza *pull thru*, na remoção de BBF-5 e TBF-5, com o uso de detergente neutro com enzimas, detergente alcalino sem enzimas e água de torneira.
- Verificar a ação desinfetante do glutaraldeído a 2.6% após a limpeza de canais endoscópicos gastrointestinais contaminados com BBF-5 e TBF-5.

REVISÃO DE LITERATURA

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. TIPOS E ESTRUTURA DOS ENDOSCÓPIOS GASTROINTESTINAIS

Cerca de 10.8 milhões de endoscopias gastrointestinais são realizadas nos Estados Unidos anualmente para fins diagnósticos e terapêuticos (Kovaleva et al., 2013).

Colonoscópios, gastroscópios e duodenoscópios são os principais equipamentos utilizados para a realização da endoscopia gastrointestinal. Os colonoscópios são empregados para realização de exames no trato gastrointestinal baixo; os gastroscópios, no trato gastrointestinal alto; e os duodenoscópios alcançam as vias biliares.

Desde o início da realização dos exames endoscópicos gastrointestinais, em 1868, diversos avanços ocorreram na conformação estrutural desses equipamentos. No início, eram de conformação rígida; em 1932, surgiu no mercado o primeiro duodenoscópio com tubo de inserção semiflexível e uso de lentes; e, em 1957, foi produzido o primeiro aparelho de fibra óptica com o tubo mais flexível (Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva - SOBED, 2000), definido como fibroscópios. Há, também, disponíveis no mercado os vídeoendoscópios gastrointestinais, que permitem a captação de imagens do trato digestório, por meio de uma microcâmera ou de um sensor presente no equipamento.

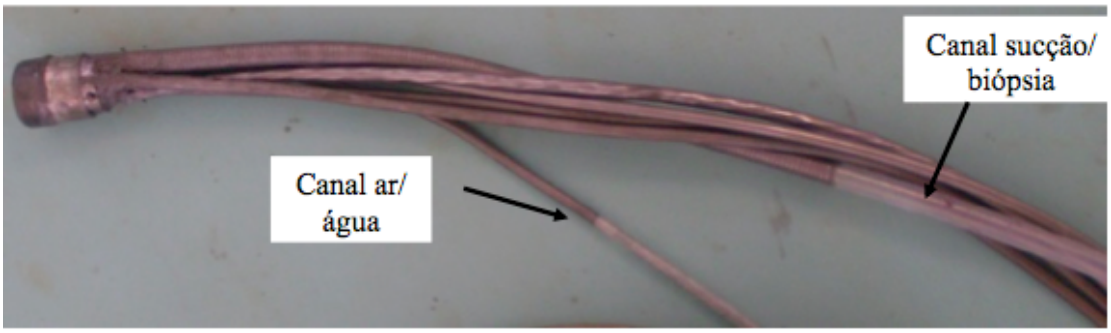
Os avanços tecnológicos direcionados aos endoscópios gastrointestinais flexíveis, permitindo captações e registros de imagens mais acuradas e a redução de complicações traumáticas para o paciente, devido à menor resistência produzida durante a inserção dos endoscópios gastrointestinais flexíveis ao se comparar com os endoscópios de conformação rígida (CDC, 2008a; Costa Júnior, 2009), foram acompanhados por uma maior complexidade estrutural nos equipamentos. Os endoscópios gastrointestinais são compostos, basicamente, por três partes: o tubo de inserção, a cabeça e o cordão umbilical (Figura 1).

Figura 1 - Partes do endoscópio gastrointestinal flexível: cabeça, tubo de inserção e cordão umbilical.

Fonte: Disponível em: www.olympuslatinoamerica.com/portuguese/msg/msg_product_detail_port.asp?d=1&s=4&c=16&g=2087. Acesso em: 22 Jun 2016.

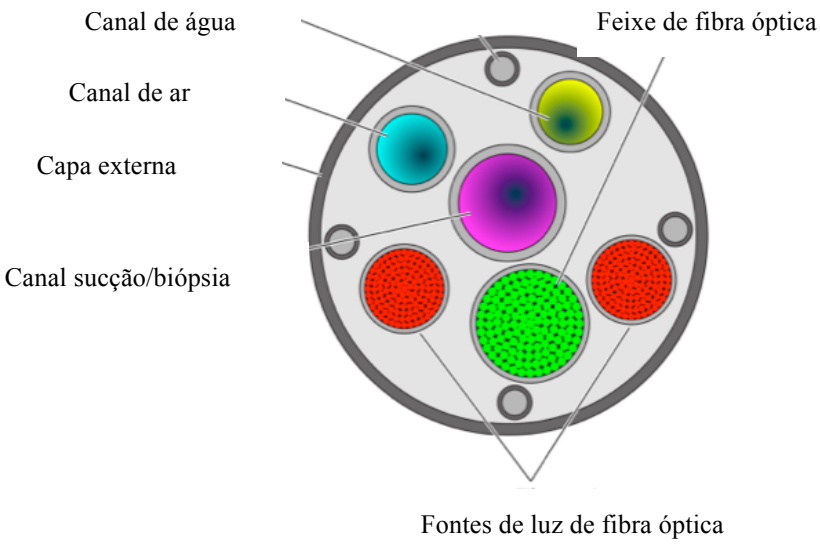
O tubo de inserção do endoscópio gastrointestinal flexível, introduzido no sistema digestório do paciente para a realização do exame, é formado por longos e estreitos canais, como os de ar/água, os de sucção/biópsia e os de fibra ótica (Figura 2, 3 e 4). A disposição e a conformação dos canais de ar e de água podem diferir entre os diversos equipamentos e marcas de endoscópios gastrointestinais. Podem ser canais distintos, que finalizam em locais diferentes da parte distal do tubo de inserção (Figura 3); ou canais que iniciam como distintos, porém finalizam como um único canal (Figura 4). O ar introduzido pelo canal de ar tem por finalidade promover a distensão do órgão analisado. A água injetada pelo canal de água realiza a limpeza da lente e do órgão examinado, para melhor visualização. As secreções do trato gastrointestinal do paciente são aspiradas pelos canais de sucção/biópsia e neles são introduzidos instrumentos, como as pinças de biópsia, as quais são inseridas estéreis, pela válvula de biópsia presente no tubo inserção (Figura 4). As fibras ópticas são responsáveis pela condução de luz e da imagem.

Figura 2 – Componentes internos do tubo de inserção do endoscópio gastrointestinal flexível – imagem real .



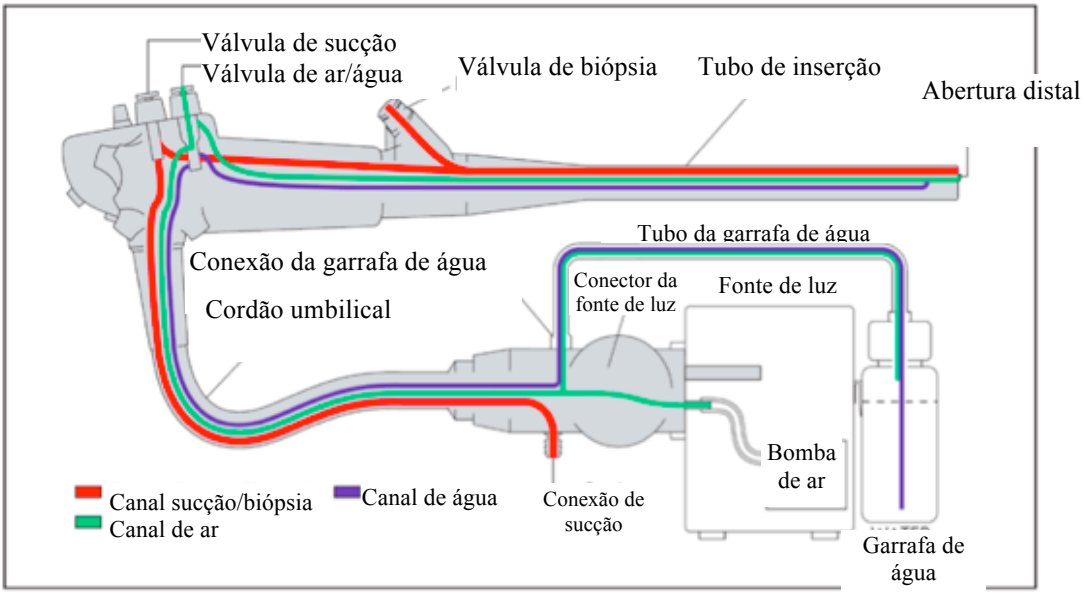
Fonte: Acervo do autor.

Figura 3 - Componentes do tubo de inserção do endoscópio gastrointestinal flexível – imagem esquemática.



Fonte: Kovaleva et al., 2013.

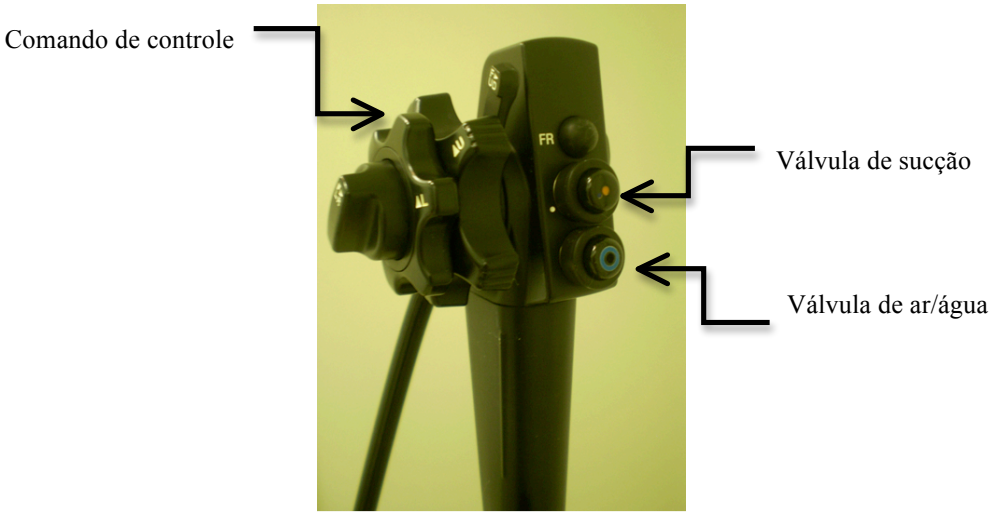
Figura 4 - Constituintes básicos dos endoscópios gastrointestinais flexíveis.



Fonte: Olympus Keymed UK Ltd. In: BSG, 2014, traduzido.

A cabeça do endoscópio gastrointestinal é composta pelas válvulas de ar/água e de sucção, que permitem controlar a inserção de ar ou água e a sucção de líquidos do interior dos órgãos do trato gastrointestinal, respectivamente. O comando de controle, manuseado pelo endoscopista durante o exame endoscópico gastrointestinal, tem por objetivo alterar a direção da parte distal do tubo de inserção, permitindo a visualização do órgão analisado, por diversos ângulos, e a focalização da imagem (Figura 5). De acordo com orientações de um dos fabricantes de endoscópios gastrointestinais, a pressão de aspiração necessita ser de 53 kPa ou menos.

Figura 5 – Partes da cabeça do endoscópio gastrointestinal flexível.

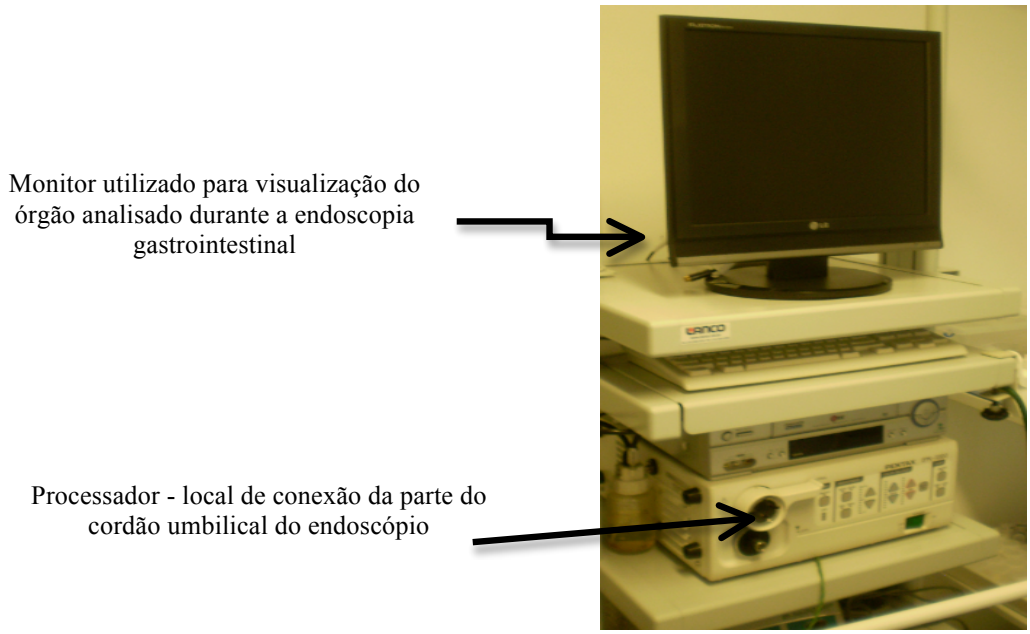


Fonte: Acervo do autor.

O cordão umbilical do endoscópio gastrointestinal consiste na outra parte do equipamento, a qual, embora não seja inserida ou não entre em contato direto com a mucosa do trato gastrointestinal, também apresenta em seu interior os canais de ar/água e de sucção (Figura 4).

Para iniciar o procedimento endoscópico gastrointestinal, a parte distal do cordão umbilical deverá ser conectada ao processador (Figura 6), fornecido pelo fabricante do endoscópio. Antes de conectar ou desconectar o endoscópio gastrointestinal do processador, a fonte de alimentação de energia do processador deve ser desligada. Para ligar novamente a fonte de alimentação, é necessário aguardar cinco segundos. Após a conexão do endoscópio no processador e o acionamento das fontes de alimentação, seguindo-se todas orientações do fabricante, as imagens dos órgãos analisados durante os exames de endoscopia, capturadas por uma câmera localizada na parte distal do tudo de inserção (videoendoscópios), podem ser visualizadas em um monitor (Figura 6).

Figura 6 - Processador e monitor para a realização da endoscopia gastrointestinal.

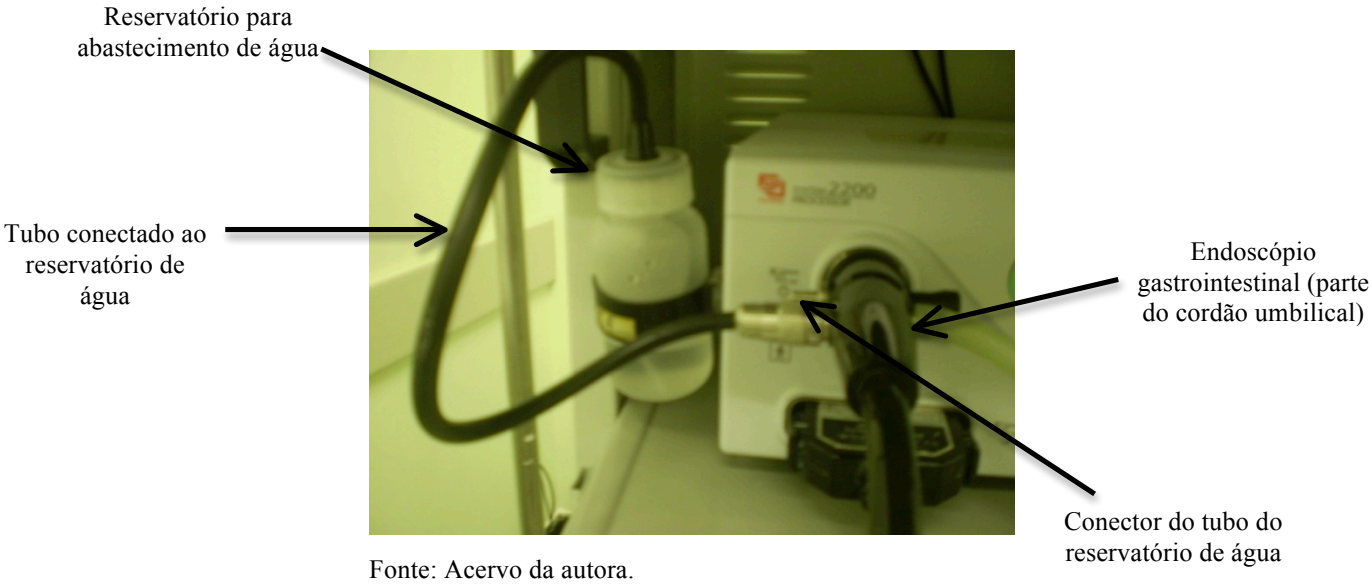


Fonte: Acervo do autor

Outros dois procedimentos que também precisam ser realizados antes de ligar as fontes de alimentação (do processador, da fonte luminosa e do carrinho), dizem respeito a conexão do reservatório de água ao endoscópio gastrointestinal, que é interligada por um tubo

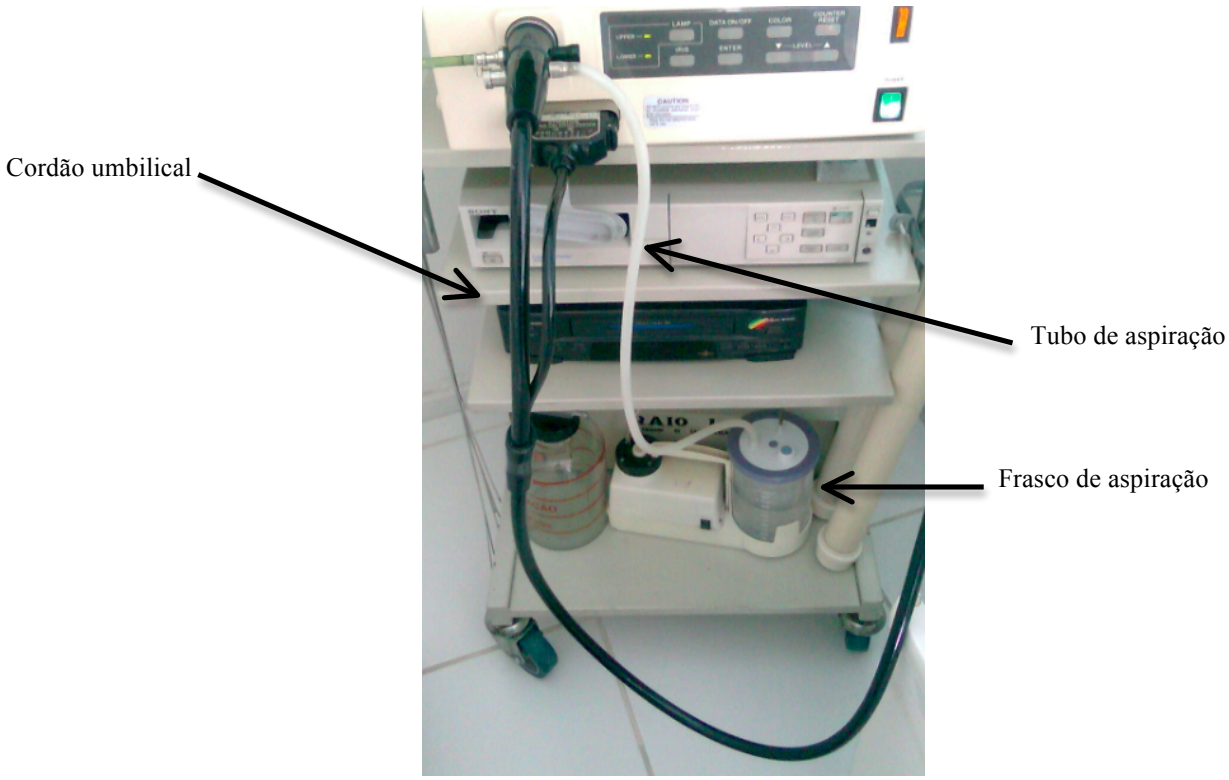
com lúmen (Figura 4 e 7); e conexão da unidade de aspiração ao endoscópio gastrointestinal, que também é interligada por um tubo de aspiração de látex (Figura 4 e 8).

Figura 7 – Conexão da garrafa de água ao endoscópio gastrointestinal.



Fonte: Acervo da autora.

Figura 8 – Conexão do tubo de aspiração ao cordão umbilical do endoscópio gastrointestinal flexível.



Fonte: Acervo da autora.

3.2. RECOMENDAÇÕES PARA A LIMPEZA DO ENDOSCÓPIO GASTROINTESTINAL FLEXÍVEL

Após o uso dos endoscópios gastrointestinais, recomenda-se a adoção dos seguintes passos durante a limpeza do equipamento: diluição da solução de limpeza conforme orientações do fabricante (se a solução não for de pronto-uso), pré-limpeza e teste de vedação; transporte para a sala de limpeza; imersão do endoscópio em solução com detergente, respeitando as recomendações do fabricante (diluição, tempo de exposição e temperatura da solução); inserção do detergente no interior dos canais endoscópicos; escovação dos canais; fricção da superfície externa; enxágue das superfícies interna e externa; secagem e inspeção ou teste de limpeza (SOBEEG, 2005; Beillenhoff et al., ESGE *Guidelines Committee*, 2008; CDC, 2008a; ASGE; SHEA, 2011; BSG, 2014; e AORN, 2016).

3.2.1 Pré-limpeza

A pré-limpeza tem por objetivo remover a sujidade grosseira dos endoscópios gastrointestinais, para que não se fixe às superfícies interna e externa desses equipamentos e não comprometa as demais etapas do processo de descontaminação (SOBEEG, 2005; Beillenhoff et al., ESGE *Guidelines Committee*, 2008; ASGE; SHEA, 2011; e Brasil, 2013).

A pré-limpeza deve ser realizada imediatamente após o término do procedimento endoscópico, ainda na sala de exames, em geral, com o equipamento conectado à fonte de luz. A realização da pré-limpeza após 24 horas de exames de gastroscopia foi apontada como possível causa de transmissão de *Klebsiella pneumoniae* resistente a carbapenêmicos produtora de β-lactamase (Naas et al., 2010). Essa etapa é realizada pelo médico endoscopista, que, ao retirar o equipamento endoscópico do paciente, precisa remover a sujidade grosseira da superfície externa do endoscópio gastrointestinal, utilizando uma gaze ou compressa umedecida em solução detergente apropriada (SOBEEG, 2005; Beillenhoff et al., ESGE *Guidelines Committee*, 2008; ASGE; SHEA, 2011); aspirar, aproximadamente 250ml de detergente pelo canal de sucção/biópsia; e pressionar a válvula de água por, aproximadamente, 15 segundos, para evitar a obstrução do canal de ar/água (SOBEEG, 2005). Os *guidelines* europeu e o americano recomendam a aspiração de abundante volume de detergente pelo canal de sucção/biópsia, porém não descrevem o volume adequado (Beillenhoff et al., ESGE *Guidelines Committee*, 2008; ASGE; SHEA, 2011).

Ao término desta etapa, o endoscópio gastrointestinal deve ser desconectado da fonte de luz, a tampa de proteção da parte elétrica deve ser conectada ao endoscópio e o equipamento deve ser encaminhado à sala de limpeza, acondicionado em um recipiente fechado, para evitar contaminação cruzada, e de forma que evite causar danos estruturais nos equipamentos (SOBEEG, 2005; Beillenhoff et al., ESGE *Guidelines Committee*, 2008; AAMI, 2015). O endoscópio gastrointestinal deve ser transportado úmido para a sala de limpeza. Não se recomenda o transporte deste equipamento submerso em solução devido o risco de respingos e de infiltração antes do teste de vedação (AORN, 2016).

3.2.2 Teste de vedação

O teste de vedação deve ser realizado assim que o equipamento chega à sala de limpeza, após cada procedimento, e antes da imersão do endoscópio na solução de limpeza. A realização deste teste objetiva verificar a presença ou não de alterações de integridade das superfícies interna e/ou externa do endoscópio. Na vigência de alterações, evidenciadas por meio de algum sinal de vazamento ou escape, a limpeza não deve ser realizada, pois a imersão em água, solução de limpeza ou desinfetante poderá danificar o equipamento. Nesta situação, o endoscópio precisa ser colocado em um saco de plástico limpo, identificado como não desinfetado, acondicionado em uma maleta própria que acomode corretamente a fibra óptica flexível e encaminhado para a manutenção (SOBEEG, 2005; Beillenhoff et al., ESGE *Guidelines Committee*, 2008) o que oferece risco ocupacional ao profissional responsável pela manutenção dos endoscópios gastrointestinais.

O teste de vedação deve ser realizado da seguinte forma: a) conectar o aparelho de teste de vedação ao endoscópio gastrointestinal que será processado; b) imergir a ponta distal do tubo de inserção em um recipiente contento água e inserir lentamente todo o endoscópio; c) com o manômetro fechado, fornecido pelo fabricante, insuflar a pera até a pressão do ar atingir a marca de limite definida pelo fabricante e; d) realizar as manobras do equipamento para direita e para a esquerda, para cima e para baixo, observando a presença de escape de bolhas de ar e/ou a queda da pressão no medidor do teste de vedação. Na ausência de constatação de alterações de integridade do endoscópio gastrointestinal, o tubo descompressor deve ser conectado ao equipamento, para a retirada de ar. Finalizado o teste de vedação e constada a ausência de alterações de integridade, o processo de limpeza propriamente dito pode ser iniciado (SOBEEG, 2005).

3.2.3 Limpeza

A limpeza do endoscópio gastrointestinal deve ocorrer no menor intervalo de tempo possível após a realização da pré-limpeza (Brasil, 2013), antes da desinfecção de alto nível manual ou automatizada. A limpeza é uma etapa crítica do processamento do endoscópio gastrointestinal, pois requer do colaborador a realização de uma diversidade de detalhes, o que poderão comprometer o resultado esperado de todas as etapas subsequentes caso não seja realizada adequadamente.

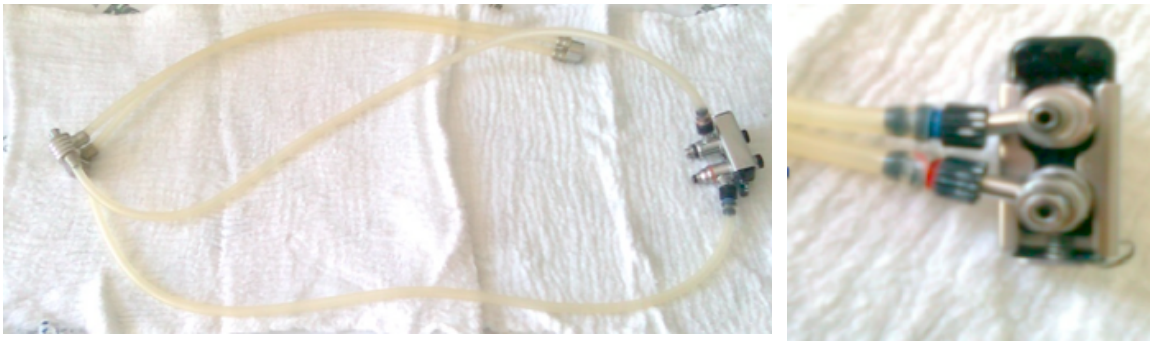
Para iniciar o processo de limpeza, o endoscópio gastrointestinal deve ser desmontado, com a retirada das válvulas de ar/água e de sucção. As válvulas e o equipamento endoscópico deverão ser imersos completamente na solução de limpeza compatível com endoscópio, de acordo com as instruções do fabricante (Beillenhoff et al., ESGE *Guidelines Committee*, 2008; ASGE; SHEA, 2011; Brasil, 2013; BSG, 2014; e AORN, 2016).

Há no mercado detergentes alcalinos com e sem enzimas, que podem ser utilizados como solução de limpeza dos endoscópios gastrointestinais. O detergente enzimático representa a solução de limpeza de escolha na maioria dos serviços de endoscopia gastrointestinal (Ribeiro, 2011). Para que a sua ação seja assegurada, é preciso garantir que as recomendações do fabricante em relação a temperatura, tempo de exposição do equipamento à solução de limpeza e concentração sejam adotadas. A solução deve ser descartada após cada uso (Beillenhoff et al., ESGE *Guidelines Committee*, 2008; ASGE; SHEA, 2011; Brasil, 2012; AAMI, 2015; AORN, 2016). Microrganismos podem replicar em solução de detergente enzimático, em temperatura ambiente (Alfa, Howie, 2009).

Após imergir o endoscópio gastrointestinal na solução de limpeza, todos os canais endoscópicos gastrointestinais devem ser preenchidos com a solução (Beillenhoff et al., ESGE *Guidelines Committee*, 2008; ASGE; SHEA, 2011; Brasil, 2012; AAMI, 2015; AORN, 2016). Os fabricantes dos endoscópios gastrointestinais recomendam que adaptadores, fornecidos por eles, devem ser conectados às “portas” das válvulas de ar/água e de sucção. Com o auxílio de uma seringa de 20ml, as soluções de limpeza e água para o enxágue devem ser inseridas dentro dos canais endoscópicos (Figura 9).

O uso dos adaptadores tem por finalidade assegurar de que toda a solução de limpeza penetrou pelos canais endoscópicos gastrointestinais. Isso comprova que toda a superfície interna desses canais foi exposta a esta solução. Dessa forma, a degradação ou a fragmentação da matéria orgânica e inorgânica, presentes nessa superfície após os exames de endoscopia, podem ser facilitadas.

Figura 9 – Adaptadores utilizados para o preenchimento dos canais endoscópicos gastrointestinais com soluções de limpeza e água para o enxágue.



a b

Fonte: Acervo da autora. a: Adaptador por completo; b: Parte do adaptador que é conectado à válvula de ar/água e sucção.

Sistemas automatizados, compatíveis com os endoscópios gastrointestinais, também pode ser utilizados para o preenchimento dos canais endoscópicos com as soluções (AORN, 2016). Pistolas com água e detergente sob pressão estão disponíveis no mercado e são utilizadas pelos profissionais dos serviços de endoscopia com esta finalidade (Ribeiro, 2011). Porém, alguns modelos de pistolas não foram validados para a limpeza específica dos endoscópios gastrointestinais e outros, embora estejam registrados por órgão regulamentadores como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), não apresentam testes de eficácia e/ou efetividade da limpeza disponíveis ao consumidor.

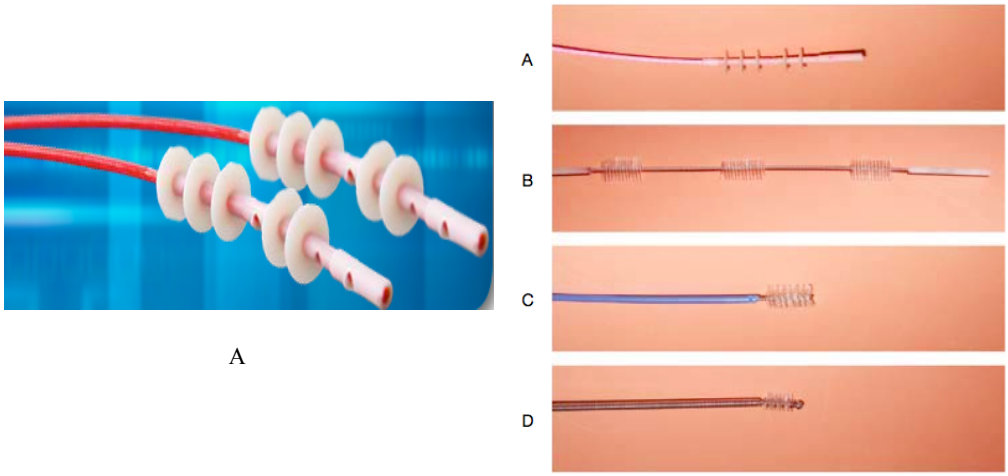
Lavadoras automatizadas para endoscópios flexíveis também se encontram disponíveis no mercado. Seu mecanismo de ação está pautado no bombeamento pulsante da solução de limpeza, da água para o enxágue e do ar para secagem no interior dos canais endoscópicos. Uma das vantagens apontadas por alguns fornecedores e descrita em registros de órgãos regulamentadores é que este sistema pulsante simula o atrito da escovação quando se utiliza o método manual. Entretanto, da mesma forma que as pistolas, evidências científicas que comprovem a eficácia e/ou efetividade da limpeza dos canais endoscópicos com algumas lavadoras automatizadas não se encontram disponíveis, embora tenham sido registradas em órgãos regulamentadores.

Após a exposição dos endoscópios gastrointestinais à solução de limpeza, a superfície interna e externa desses equipamentos precisam ser submetidas à ação mecânica, de forma

manual, com uso de escovas, assim como as válvulas de ar/água e sucção (Beillenhoff et al., ESGE *Guidelines Committee*, 2008; ASGE; SHEA, 2011; Brasil, 2013).

Escovas e esponjas suaves adequadas devem ser utilizadas para fricção do endoscópio gastrointestinal. Diversos tipos de escovas encontram-se disponíveis no mercado, citando-se: *pull thru*, escova com três cabeças, escova de uso único de uma cabeça e reusáveis (Figura 10).

Figura 10 – Dispositivos de limpeza dos canais endoscópicos gastrointestinais.



Fonte: Charlton, 2007. A: escova *Pull thru*; B: Escova de três cabeças; C: escova de uso único de uma cabeça e; D: escova reutilizável. Escovas semelhantes às representadas em B e C, também podem ser encontradas nas versões descartáveis.

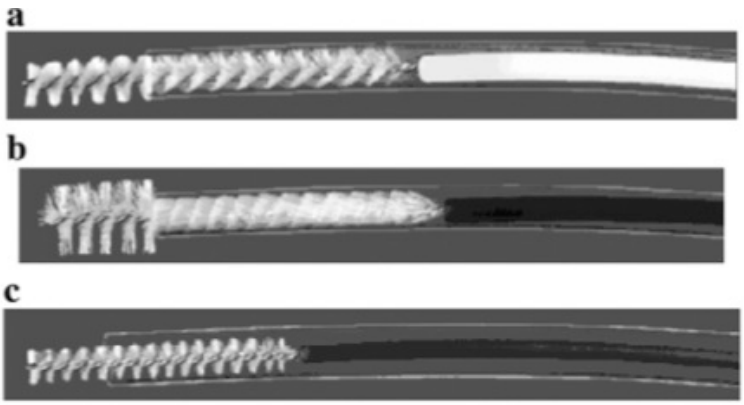
As escovas *pull thru* são descartáveis. Elas apresentam discos de silicone em sua estrutura, o que as torna adaptáveis aos diversos tamanhos dos canais endoscópicos gastrointestinais. Estudo experimental demonstrou a eficácia deste dispositivo para a limpeza de canais de sucção/biópsia, novos e em uso na prática clínica, de 2.8 e 5.0mm de diâmetro interno, com apenas uma fricção, após contaminação artificial com corante vermelho dissolvido em sangue de cavalo (solução final a 1%). A limpeza foi considerada eficaz, mesmo sem a utilização de água e detergente, de acordo com os parâmetros de análise visual e aferição do peso dos canais antes e após a limpeza. Antes da limpeza, o peso da sujidade variou entre 0,41g no canal "velho" de 2,8mm e 1,15g no canal "velho" de 5,0mm, aproximadamente. A apresentação visual após a limpeza pode ser verificada na Figura 11 em comparação com a sujidade controle (Charlton, 2007).

Figura 11 – Comparação da sujidade visual nos canais que serviram de controle positivo e após a limpeza com a escova *pull thru*.

Fonte: Charlton, 2007. A: Controle positivo; B: Limpeza com pull thru®

Os três demais tipos de escovas (três cabeças, de uso único de uma cabeça e reutilizável) têm que apresentar tamanhos diferentes, de acordo com os diâmetros dos canais endoscópicos, que variam, pois, caso contrário, as cerdas das escovas não tocarão a sujidade da parede interna dos canais e a limpeza mecânica não será efetiva (Figura 12).

Figura 12 – Importância do diâmetro da escova para a limpeza efetiva do canal endoscópico gastrointestinal flexível

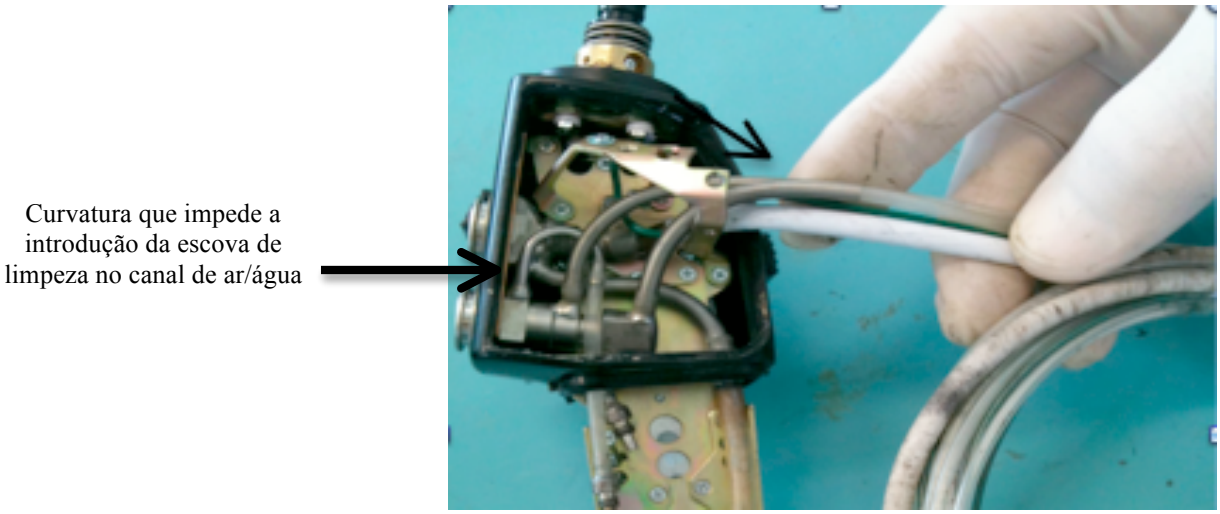


Fonte: Bajolet *et al*., 2013 (fotografia fornecida por LTA Medical, Montreuil, France). (a) Diâmetro da escova é correto para o tamanho do canal, e a limpeza efetiva é garantida. (b) Diâmetro da escova é muito grande, logo as fibras da escova são compactadas no canal e não são efetivas. (c) Diâmetro da escova é muito pequena, logo as fibras da escova não tocam o canal.

Escovas de limpeza de uso único são recomendadas, na medida em que garantem o máximo de efetividade da limpeza, pois não apresentam cerdas danificadas e evitam a transmissão cruzada de tecidos remanescentes de outros exames endoscópicos. Na impossibilidade de uso de escovas de uso único, todas deverão ser limpas manualmente, submetidas a limpeza ultrassônica e descontaminadas, preferencialmente, por método de esterilização (ASGE; SHEA, 2011; Beillenhoff et al., ESGE *Guidelines Committee*, 2008). Adverte-se que as escovas não são produtos pra saúde e os profissionais envolvidos devem ser capacitados e supervisionados em relação à frequência necessária de troca, estar atentos às condições das cerdas das escovas e seguir protocolos padrão bem estabelecidos. Embora a descontaminação das escovas seja recomendada, cabe ressaltar que o objetivo neste momento é executar a ação mecânica de forma eficaz de fricção. Logo, estes dispositivos de limpeza precisam ser mantidos limpos e secos, como requisitos mínimos.

Ainda no que se diz respeito à fricção dos canais endoscópicos gastrointestinais, salienta-se que a fricção do canal de ar/água de duas das três marcas de endoscópio gastrointestinal disponíveis no mercado mundial não acontece em decorrência do *design* dos endoscópios (Ribeiro, Oliveira, 2012). Nestes canais, não há como introduzir a escova de limpeza no canal (Figura 13). A justificativa dos fabricantes dos endoscópios gastrointestinais para essa configuração no *design* deste canal é desconhecida, embora se tenha buscado. A RDC no 6 (Brasil, 2013) recomenda a fricção de todos os canais endoscópios, porém, na prática do processamento dos endoscópios gastrointestinais os canais não acessíveis à fricção são submetidos apenas a métodos de *flush* durante a limpeza. Estudo realizado em 37 serviços de endoscopia gastrointestinal de uma capital brasileira constatou que a fricção do canal de ar/água ocorreu apenas em cinco serviços (Ribeiro, Oliveira, 2012).

Figura 13 – Curvatura que impede a introdução de escova de limpeza no canal de ar/água do endoscópio gastrointestinal flexível



Fonte: Acervo da autora.

Possivelmente em virtude da impossibilidade de fricção de determinados canais de ar/água, os manuais europeu (Beillenhoff et al., ESGE *Guidelines Committee*, 2008) e americano (ASGE, SHEA, 2011) de limpeza e desinfecção dos endoscópios gastrointestinais recomendam a fricção dos canais "acessíveis". Porém, tal recomendação abre margem aos seguintes questionamentos: Por que a recomendação de fricção dos canais "acessíveis"? Ressalta-se que os canais de ar/água, inacessíveis na maioria dos endoscópios gastrointestinais em uso na prática clínica, tornam-se contaminados após os exames de endoscopia (Ribeiro, Oliveira, 2012). Processadoras automatizadas de endoscópios que possuem os ciclos de limpeza validados injetam solução de limpeza e água no interior de todos os canais sobre pressão e sem a fricção pelo método manual encontram-se disponíveis no mercado (Alfa, DeGagne, Olson, 2006, 2010).

A preocupação com a obrigatoriedade ou não de friccionar os canais de ar/água perpassa mais de uma década. Até os dias atuais, as evidências científicas ainda são escassas. Estudo desenvolvido no Japão em 2001, após a realização de endoscopia gastrointestinal superior, analisou 20 canais de ar e água friccionados durante a limpeza e 22 canais de ar e água não friccionados. Todos foram submetidos à desinfecção de alto nível com glutaraldeído a 2%, e analisados quanto à presença de microrganismos e proteína após estes processos de descontaminação. Apurou-se que um canal de água não friccionado durante a limpeza permaneceu contaminado com bactéria Gram-positivo e que os níveis de proteína foram, em média, de 2,64μg/ml, contra 2,26μg/ml nos canais friccionados. O método de coleta da amostra utilizado neste estudo foi de *swab* da escova esterilizada introduzida no canal. Embora não tenha sido evidenciada diferença estatisticamente significante após análise multivariada, os autores sugeriram reconstrução do *design* desses canais, de forma a permitir a fricção durante a limpeza (Ishino et al., 2001). Estudo desenvolvido na Alemanha no mesmo ano, com contaminação intencional laboratorial dos canais de ar e água de duodenoscópios e gastroscópios com, aproximadamente $4{,}6 \times 10^6$UFC/10ml de *Enterococcus faecium* e sangue chegou à mesma conclusão (Dietze et al., 2001).

Níveis de matéria orgânica e carga microbiana abaixo dos níveis aceitáveis (Alfa, DeGagne, Olson, 1999) foram obtidos após a limpeza dos canais de sucção/biópsia com escovação da superfície interna e dos canais de ar/água sem escovação. Ressalta-se que nesse estudo a variável "escovação" não foi controlada e o ato de escovar não foi analisado em diferentes tipos de canais endoscópicos, ar/água e sucção/biópsia, sem a presença de grupos controles (Alfa, Fatima, Olson, 2013a,b).

Seja após a limpeza química ou a mecânica, o processo da limpeza dos endoscópicos gastrointestinais é finalizado com a realização do enxágue abundante, que promoverá a retirada da sujidade da superfície interna e externa dos equipamentos, a qual foi apenas degradada ou solubilizada pela ação da solução de limpeza e/ou fricção. A sujidade permanecerá na superfície dos endoscópios gastrointestinais se o enxágue não for realizado adequadamente, obedecendo às recomendações do fabricante, ou por meio de outro método validado (Ribeiro, Oliveira, 2012). O enxágue após a limpeza também tem a finalidade de remover a solução de limpeza que pode interferir na ação dos desinfetantes e ser tóxico para o paciente e profissional (AAMI, 2007). O maior desafio diz respeito à garantia de que a água tenha percorrido toda a extensão dos canais dos endoscópicos.

Os manuais nacional, europeu e americano de limpeza e desinfecção dos endoscópios gastrointestinais recomendam que o enxágue deve ocorrer em água "corrente abundante", sem definição do volume, o que é subjetivo (SOBEEG, 2005; Beillenhoff et al., ESGE *Guidelines Committee*, 2008; ASGE; SHEA, 2011). O volume de 500ml de água para o enxágue após a lavagem já foi sugerido (Alfa et al., 2002).

Quanto ao tipo de água a ser utilizada para o enxágue dos endoscópios gastrointestinais, ainda não há um consenso. Todavia, é certo de que ela não deverá elevar a carga microbiana desses equipamentos (*Association for the Advancement of Medical Instrumentation* - AAMI, 2007). A utilização da água potável mostrou-se predominante em 80% dos serviços visitados em Belo Horizonte (Ribeiro et al., 2013), assemelhando-se ao percentual verificado em serviços de endoscopia gastrointestinal de Goiânia: 90% (Barbosa et al., 2010). Em seis serviços, constatou-se o uso de água filtrada, mas não se verificou o tamanho dos poros dos filtros (Ribeiro et al., 2013). O uso da água potável é aceitável para a realização da pré-limpeza, da limpeza (diluição dos detergentes) e da pós-limpeza, e a temperatura não deve exceder 45° C. Deve-se garantir que a água potável esteja compatível com as recomendações do fabricante do detergente. Em locais que possuem água potável dura (ex.: $\geq$ 150ppm $CaCO_3$), é desejável que os solutos sejam removidos por deionização (aceitável) ou osmose reversa (preferível) para toda a limpeza, enxágue, desinfecção e esterilização. A água potável também deverá atender às exigências legais de potabilidade (AAMI, 2007; Brasil, 2011).

Ao término do enxágue, o endoscópio deve ser seco e encaminhado para a desinfecção de alto nível ou esterilização.

A endoscopia gastrointestinal é um procedimento médico. Porém, ressalta-se que a tarefa de processar o endoscópio gastrointestinal é de responsabilidade dos técnicos de

enfermagem na maioria dos serviços de endoscopia gastrointestinal do Brasil (Ribeiro, 2011). Logo, considera-se que ao líder (enfermeiro) desta equipe caberá definir e implementar protocolos e processos educativos periódicos, utilizando-se de técnicas inovadoras; e supervisionar os auxiliares e técnicos de enfermagem que realizam as etapas operacionais, para que a qualidade de todo o processo possa ser assegurado (Ribeiro, 2011; Costa Junior, 2009).

Muitos dos estabelecimentos de endoscopia gastrointestinal têm o médico como profissional responsável. Logo, a categoria profissional médica também tem responsabilidade compartilhada em propor e adotar condutas, contribuir para que o serviço de endoscopia possua quantidade adequada de equipamentos para que se possa respeitar o tempo necessário para a realização de todas as etapas do processamento e saber processar um endoscópio gastrointestinal, para que ele seja efetivo (Ribeiro, 2011).

3.3 TRANSMISSÃO CRUZADA DE MICRORGANISMOS VIA ENDOSCÓPIO GASTROINTESTINAL CONTAMINADO APÓS O PROCESSAMENTO

Os endoscópios gastrointestinais flexíveis apresentam características peculiares que conferem a esses equipamentos alto risco para a transmissão de microrganismos entre os pacientes que se submetem à endoscopia gastrointestinal. Algumas dessas características são: altos níveis de contaminação bacteriana após cada uso; requerem esterilização a baixa temperatura ou métodos de desinfecção de alto nível, que são menos robustos que a esterilização a vapor; e o seu *design* representa desafios significativos para limpeza e desinfecção adequadas. A alta carga microbiana presente nos endoscópios gastrointestinais flexíveis representa um desafio para a esterilização a baixa temperatura ou para a desinfecção de alto nível, pois os endoscópios gastrointestinais apresentam lúmens estreitos e longos, conexões cruzadas, ângulos agudos, molas e válvulas, com fundo cego, material absorvente e superfícies rugosas (Weber, Rutala, 2013).

Diante da transmissão de microrganismos entre os pacientes, processos infecciosos relacionados ao procedimento endoscópico gastrointestinal podem ocorrer por via endógena ou exógena. As infecções endógenas são causadas por microrganismos da própria microbiota do paciente, e nas infecções exógenas, os microrganismos são transferidos ao paciente que realiza a endoscopia gastrointestinal, por meio, por exemplo, de endoscópios gastrointestinais contaminados, mesmo após os procedimentos de limpeza e desinfecção (Kovaleva et al.,

2013). Ao contrário das infecções endógenas, de 91% a 94% das infecções exógenas podem ser prevenidas. Para que os endoscópios gastrointestinais não sejam veículos de transmissão de microrganismos entre os pacientes, exigem-se a adesão rigorosa aos processos de limpeza e desinfecção dos equipamentos e melhoria dos sistemas de controle de qualidade dos serviços de endoscopia (Srinivasan, 2003; Seoane-Vazquez et al., 2007; Kovaleva et al., 2013).

Múltiplos estudos demonstram a falta de adesão dos profissionais aos *guidelines* de limpeza e desinfeção dos endoscópios gastrointestinais (Alfa et al., 2002; Machado et al., 2006; Barbosa, 2008; Ribeiro et al., 2013). Isso tem resultado em equipamentos contaminados por microrganismos, mesmo após o processamento. Consequentes surtos de infecção em pacientes que se submeteram a exames de endoscopia gastrointestinal encontram-se documentados (Kovaleva et al., 2013). A dificuldade ou impossibilidade de limpeza destes equipamentos devido ao complexo *design*, com consequente falha do processo de desinfecção de alto nível) tem sido descrita também como uma das principais causas de infecção em pacientes que submeteram à endoscopia gastrointestinal (Aumeran et al., 2010; Carbonne et al., 2010; Bajolet et al., 2012; Alrabaa et al., 2013; Quiu et al., 2015).

A limpeza inadequada representa uma das principais causas da possível transmissão de microrganismos entre os pacientes que se submeteram a endoscopia gastrointestinal e os tipos de complicações infecciosas foram diversos, como sepses, abcesso de fígado e colangite ascendente (Kovaleva et al., 2013). Febre, calafrios e sudorese são alguns dos sinais clínicos apresentados pelos pacientes que desenvolveram processos infecciosos após realizarem endoscopia gastrointestinal com equipamento contaminado (Kovaleva et al., 2009).

As bactérias representam os principais tipos de microrganismos envolvidos nos casos de infecção associada ao uso de endoscópios gastrointestinais contaminados, sendo a *Pseudomonas aeruginosa* e a *Salmonella* spp. Os tipos mais prevalentes. Análises por comparação de padrões de sensibilidade antimicrobiana dos isolados, fagotipificação ou técnicas moleculares comprovaram que, na maioria dos surtos, as cepas de *P. aeruginosa* obtidas dos pacientes foram idênticas àquelas recuperadas dos endoscópios gastrointestinais utilizados nos mesmos (Kovaleva et al., 2013). Em 2011, em um hospital da França, cepas de *P. aeruginosa* multirresistentes foram detectadas em quatro pacientes que realizaram esofagogastroduodenoscopia com um mesmo endoscópio, do qual se obtiveram, por cultura, cepas do microrganismo identificado nos pacientes (Bajolet et al., 2013).

P. aeruginosa é uma bactéria gram-negativa, patogênica oportunista, que tem preferência por ambientes úmidos. Logo, canais endoscópicos gastrointestinais secos

inadequadamente após o processamento são locais propícios à proliferação desse tipo de bactéria (Nelson, Musacarella, 2006). Em estudo realizado em 37 serviços de endoscopia gastrointestinal de uma capital brasileira, este foi o principal microrganismo detectado nos canais de ar/água de gastroscópios e colonoscópios após o processamento (Ribeiro; Oliveira, 2012). Ele é capaz de formar biofilmes extremamentes difíceis de serem removidos dos canais endoscópicos gastrointestinais (Pajkos, Vickery, Cossart, 2004; Kovaleva et al., 2009).

O sorotipo 10 da *P. aeruginosa* predomina nos relatos publicados de transmissão desta espécie bacteriana (Cryan et al., 1984; Earnshaw, Clark, Thom, 1985; Allen et al., 1987; Classen et al*.,* 1988; Alvarado, Stolz, Maki, 1991). Supõe-se que a produção de muco pela *P. aeruginosa* sorotipo 10 em biofilme pode promover a formação de uma barreira para a penetração de antimicrobianos e desinfetantes. Porém, não se conhece o motivo pelo qual especificamente este sorotipo foi isolado nestes casos (Kovaleva et al., 2013).

As espécies de *P. aeruginosa* encontradas nos equipamentos endoscópicos gastrointestinais podem ser oriundas da garganta, da saliva e das fezes, locais em que este tipo de microrganismo pode colonizar adultos saudáveis (Grogan, 1966). Taxas mais elevadas de colonização por este tipo de microrganismo também são encontradas em pacientes hospitalizados e com doenças crônicas de pulmão (Kovaleva et al., 2013). Dessa forma, infere-se que os pacientes que realizam a endoscopia gastrointestinal são fonte dos microrganismos remanescentes, mesmo após todo o processamento, em decorrência da falta de boas práticas, principalmente de limpeza dos equipamentos (Ribeiro, Oliveira, 2012).

Ressalta-se, também, a possibilidade de outras fontes de contaminação dos endoscópios gastrointestinais por *P. aeruginosa,* como a água utilizada para o enxágue após a limpeza e após a desinfecção de alto nível e a água inserida pelo canal de água para a melhor visualização do órgão analisado e que provém do reservatório de água conectada ao endoscópio gastrointestinal (Ribeiro, Oliveira, 2012). Apesar de estes aspectos já terem sido sugeridos como supostas fontes de contaminação do endoscópios, eles ainda precisam ser melhor explorados e comprovados por evidências científicas.

Klebsiella pneumoniae também representa uma espécie bacteriana relacionada a surtos de infecção em pacientes que realizaram endoscopia gastrointestinal (Aumeran et al., 2010; Carbonne et al., 2010). Em 2010, 16 casos de infecção (8 infecções sanguíneas, 4 do trato biliar e 4 intestinais) foram detectados em pacientes que se submeteram à colangiopancreatografia retrógrada (CPRE) tendo como agente etiológico a *K. pneumoniae* multirresistente produtora de beta-lactamase de amplo espectro. Um duodenoscópio foi indicado como a fonte de transmissão desta bactéria entre os pacientes (Aumeran et al., 2010).

Outro surto foi relacionado à transmissão de *K. pneumoniae* produtora de carbapenemase (KPC-2), também associada ao uso de um duodenoscópio contaminado (Carbonne et al., 2010).

O *Helicobacter pylori* é um patógeno comum em pacientes com gastrite crônica, úlcera péptica e câncer gástrico. Entretanto, a transmissão desta bactéria via endoscópio gastrointestinal é raramente detectada. Ao considerar que a prevalência de infecção por *H. pylori* na população de pacientes já examinada é alta, cerca de 60%, a incidência real de transmissão de *H. pylori* pode ser subestimada, devido também à apresentação clínica assintomática e não específica de infecção por *H. pylori* (Tytgat, 1995) e ao fato de esta bactéria requerer condições específicas de cultivo em laboratório. Três surtos de *H. pylori* após endoscopia gastrointestinal alta foram relacionados ao inadequado processamento dos endoscópios e ao uso de pinças de biópsia não esterilizadas (Graham et al., 1988; Langengerg et al., 1990; e Miyaji et al., 1995).

Apenas um relato de possível transmissão de *Clostridium difficile* com desenvolvimento de colite pseudomembranosa fulminante após colonoscopia encontra-se publicado (Patterson, Jhonson, Schmulen, 1984).

A transmissão documentada de vírus via endoscópio gastrointestinal contaminado é bem menor quando comparada à transmissão de bactérias, devido à dificuldade de detectar o agente no equipamento e de estabelecer vínculo epidemiológico, devido ao tempo de incubação. Nenhum caso de transmissão de HIV, doença de Creutzfeldt-Jakob, enterovírus e vírus não envelopados (mais resistentes aos desinfetantes químicos que os vírus envelopados) relacionado à endoscopia gastrointestinal foi relatado até o momento (Kovaleva et al., 2013). Um caso de transmissão endoscópica do vírus da hepatite B (VHB) após gastroscopia foi confirmada por análise molecular (Birnie et al., 1983). Em relação ao vírus da hepatite C, na França, sua aquisição foi documentada em dois pacientes que se submeteram a um procedimento de colonoscopia em uma clínica no mesmo dia e com um aparelho utilizado previamente em um paciente portador desse vírus (Bronowicki et al., 1997). Em 2007, registrou-se também a transmissão do VHC a três pacientes em uma clínica nos Estados Unidos (CDC, 2008b).

Os casos de infecção envolvendo o endoscópio gastrointestinal têm feito com que este equipamento seja reconhecido como o principal dispositivo relacionado a surtos e pseudossurtos associados ao cuidado de saúde. Cabe, ainda, ressaltar que o número de incidentes que estão publicados representa uma pequena fração dos incidentes de falhas do

processamento deste equipamento por desinfecção ou esterilização que resultem em notificação do paciente (Weber, Rutala, 2013).

Os endoscópios gastrointestinais são utilizados de centenas a milhares de vezes na realização dos exames endoscópicos. Diante de um problema em um equipamento, por exemplo, falha na limpeza ou desinfecção, há o risco de transmissão de microrganismos a muitas pessoas. Taxas de transmissão de microrganismos durante a ocorrência de surtos podem alcançar 41%, como ocorreu na transmissão de *Klebsiella pneumoniae* produtora de carbapenemase (KPC) a 7 dos 17 pacientes que utilizaram o duodenoscópio contaminado com este microrganismo (Carbonne et al., 2010). Em uma revisão de literatura, constatou-se que entre 1974 e 2005, 30 surtos relacionados a endoscópios gastrointestinais contaminados resultaram em 251 pacientes infectados após endoscopia gastrointestinal nos Estados Unidos (Seoane-Vazquez et al., 2007).

Ainda não se conhece a real taxa de infecção relacionada à endoscopia gastrointestinal (Kovaleva et al., 2013). Estima-se que os casos de infecção relacionados a esse procedimento seja de um caso para 1,8 milhão de procedimentos (Kimmey et al., 1993). Entretanto, tal valor tem sido apontado como passível de subestimação em consequência de erro matemático (Ofstead et al., 2013).

Não se pode descartar também a possibilidade de subnotificação dos casos de infecção relacionados aos procedimentos endoscópicos gastrointestinais (Ofstead et al., 2013). A endoscopia gastrointestinal consiste em um exame de caráter ambulatorial, em que os pacientes não são acompanhados sistematicamente após a realização dos exames para a vigilância e notificação de possíveis eventos adversos relacionados ao procedimento, apesar de recomendação nesse sentido (Siegel et al., *Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee* - HICPAC, 2007). Diante do retorno dos pacientes aos serviços de saúde, raramente os médicos registram as complicações decorrentes dos procedimentos endoscópicos gastrointestinais (Leffler et al., 2010). Porém, não há critérios diagnósticos capazes de definir se um episódio de quadro infeccioso está relacionado ao procedimento endoscópico gastrointestinal e ao período em que poderá ocorrer essa associação, como já acontece, por exemplo, para os procedimentos cirúrgicos.

Outro aspecto que pode contribuir para a subnotificação dos eventos adversos infecciosos associados aos procedimentos endoscópicos gastrointestinais prende-se ao fato de que as infecções assintomáticas e sintomáticas podem não ser reconhecidas como relacionadas ao procedimento de endoscopia gastrointestinal, ao se considerar a possibilidade de ausência de sinais clínicos e o longo período de incubação de alguns microrganismos

infectantes (Moses, Lee, 2003), principalmente no caso de vírus e micobactéria. Além disso, apenas em ocasiões esporádicas investigações aprofundadas têm sido empreendidas para avaliar a possibilidade de contaminação do endoscópio gastrointestinal como possível causa da transmissão de microrganismos a pacientes que se submeteram à endoscopia gastrointestinal (Ofstead et al., 2013).

A detecção de microrganismos nos endoscópios gastrointestinais após o processamento com cargas microbianas variadas está amplamente divulgada na literatura. Porém, ainda não se conhece o real significado clínico quanto ao risco de causar a infecção dos microrganismos recuperados nos endoscópios prontos para uso em pacientes e a carga microbiana necessária para que um paciente desenvolva um quadro infeccioso em decorrência de um endoscópio gastrointestinal contaminado em que o processo de desinfecção de alto nível não foi atingido. Isso se deve ao fato de os endoscópios digestivos serem um material semicrítico, e não crítico. Caso fosse este último, o nexo causal entre o material contaminado e o risco de infecção estaria muito mais evidente para exigir medidas drásticas na adesão de protocolos para o seu processamento. Sabe-se que o número de microrganismos presentes no endoscópio gastrointestinal é apenas um dos importantes fatores de risco para o desenvolvimento de infecção em pacientes que se submeteram à endoscopia gastrointestinal. Logo, para se analisar o risco de causar infecção em um procedimento como esse, devem-se levar em conta também: a invasividade do procedimento, que pode resultar em dano tecidual; a possibilidade de presença de biofilme na superfície desses equipamentos; o estado imunocomprometido do paciente (infecção pelo HIV, doenças neoplásicas, pacientes transplantados e tratamento imunossupressivo); e a presença de focos infecciosos, como colangites e abcessos, durante o procedimento de endoscopia gastrointestinal (Cowen, 1992; Greene et al., 1974; Kaw, Przepiorka, Sekas, 1993).

Diante dos surtos de infecção e casos de morte relacionados a endoscópios gastrointestinais contaminados, nos Estados Unidos da América em 2015 (FDA, 2015a; Ofstead et al., 2015), alguns estudiosos têm recomendado que estes equipamentos devem ser considerados como produtos para saúde críticos e esterilizados. Como o endoscópio gastrointestinal é um produto pra saúde termossensível, a esterilização por óxido de etileno tem sido o método indicado, entretanto, ainda há necessidade de validação deste método para o processamento deste equipamento. Cabe ressaltar que, ainda não há um consenso sobre esta recomendação, principalmente, por se ter constatado que a principal causa dos casos de infecção relatados foram relacionados à falha na limpeza dos equipamentos endoscópicos, e

consequente não efetividade da desinfecção de alto nível, o que também possivelmente ocorreria se o equipamento tivesse sido submetido à esterilização.

3.4 BIOFILME E O ENDOSCÓPIO GASTROINTESTINAL

Biofilmes são comunidades biológicas, geralmente, mistas, ou seja, formadas por mais de um tipo de microrganismo, mas podem também ser constituídas de apenas um tipo microbiano (Donlan, 2001a,b).

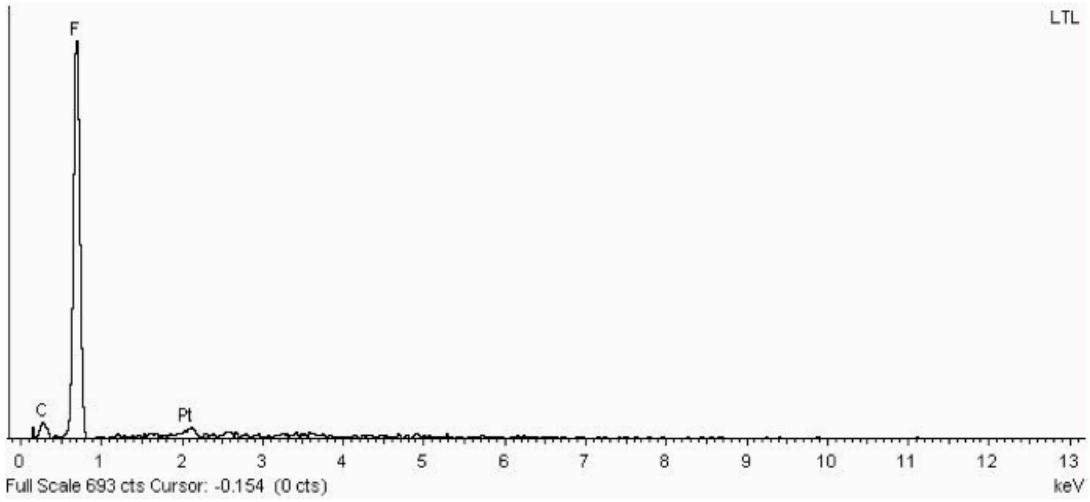
Os microrganismos que constituem o biofilme encontram-se envoltos por uma matriz inorgânica de exopolímeros, sendo os polissacarídeos os principais constituintes (Donlan, 2001a, 2002). A matriz é bastante hidratada (98% de água), possui canais que permitem o transporte de nutrientes essenciais e de oxigênio para as células (Donlan, 2001b) e contém entre 50% a 90% do carbono orgânico do biofilme (Flemming et al., 2000 apud Donlan, 2002). Esta matriz é produto do próprio biofilme. Nem todos os microrganismos são capazes de produzi-la, mas podem ser incorporados ao biofilme (Donlan, 2001a,b), assim como materiais não celulares, como componentes sanguíneos, cristais minerais e partículas corrosivas (Dolan, 2002).

O biofilme se forma sobre um substrato, que consiste no suporte. Nele ocorre a adesão de células microbianas. O substrato, formado pela parte interna e a superfície, pode ser o solo, a água ou um produto para saúde, como os canais endoscópicos (Donlan; Costerton, 2002; Donlan, 2002; Pajkos, Vickery, Cossart, 2004). A interação dos microrganismos com os substratos se dá sempre por meio de suas superfícies. Acima da superfície do substrato, forma-se o filme condicionante, que consiste em uma camada constituída por substâncias do meio, principalmente material proteináceo, que mudam as características do substrato (Donlan, 2001b, 2002).

As propriedades fisicoquímicas da superfície, o número e o tipo de microrganismos, a taxa de fluxo do líquido em uma superfície e os componentes dos líquidos subjacentes influenciam a interação dos microrganismos com a superfície dos substratos na taxa e extensão de fixação dos microrganismos (Donlan, 2001a,b, 2002). Em geral, morfologia da superfície, como maior rugosidade (Fletcher, Loeb, 1979; Pringle, Fletcher, 1983; Pajkos, Vickery, Cossart, 2004) e materiais hidrofóbicos (composição química) favorecem o desenvolvimento do biofilme mais rapidamente (Fletcher, Loeb, 1979; Pringle, Fletcher, 1983; Bendinger et al., 1993).

Os endoscópios gastrointestinais são utilizados inúmeras vezes, o que promove alterações na integridade das superfícies interna e externa e favorece o acúmulo de matéria orgânica e microrganismos, com a consequente formação de biofilme nestes locais (Pajkos, Vickery, Cossart, 2004). Além disso, os canais endoscópicos gastrointestinais podem ser formados por um polímero, denominado "politetrafluoretileno" (PTFE), comercialmente denominado "Teflon®", similar ao polietileno, porém os átomos de hidrogênio foram substituídos por átomos de flúor. Os elementos químicos que compõem os canais de PTFE podem ser observados na Figura 14. O PTFE consiste em uma superfície inerte, biocompatível com o corpo humano e impermeável. Possui baixa toxicidade, baixo coeficiente de atrito e baixa aderência (Bálsamo, 2009). Entretanto, possui superfície hidrofóbica, que favorece a existência de forças de interação da superfície deste substrato com os microrganismos e adesão dos mesmos (Vickery, Pajkos, Cossart, 2004).

Figura 14 – Análise por microscopia eletrônica dos elementos químicos de um canal endoscópico novo, com destaque para o flúor (F).



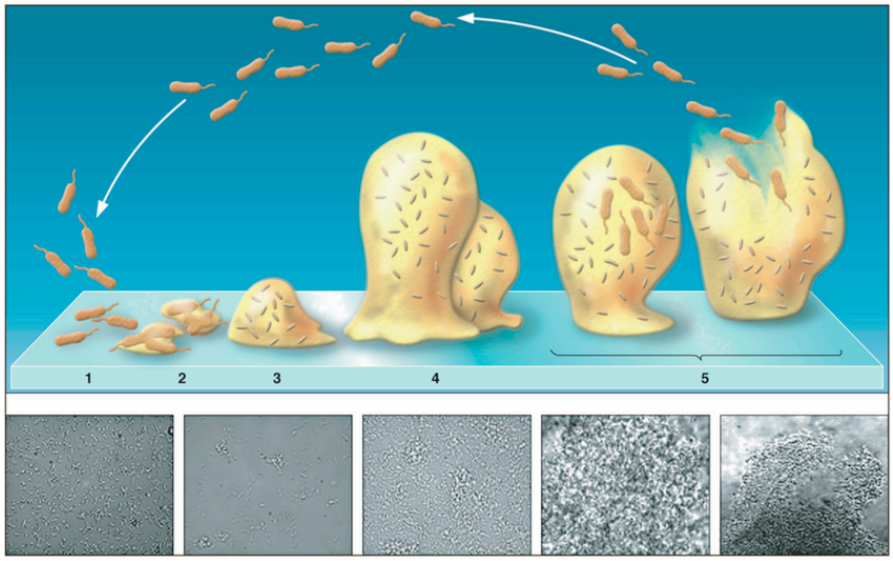
Fonte: Bálsamo, 2009 (Análise realizada no Laboratório de Caracterização Tecnológica da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo).

Os plastificadores adicionados às estruturas do substrato pelos fabricantes têm por objetivo manter os polímeros maleáveis e evitar que se tornem quebradiços. A adição de materiais como estes aos substratos promove alteração na composição química deles e altera a forma de interação entre eles e os microrganismos. Dessa forma, substratos constituídos de um mesmo tipo de polímero como o PTFE podem apresentar diferentes comportamentos de interação com os microrganismos, tendo em vista que o tipo de plastificadores utilizado entre os diversos fabricantes pode ser diferente.

Além das características da superfície do substrato, as características da superfície da célula microbiana, como a presença de flagelos, pilis, fímbrias e glicocálix, podem impactar a adesão dos microrganismos às superfícies do substrato e a consequente formação do biofilme. Uma vez que se aproximam da superfície do substrato, os microrganismos deverão vencer forças repulsivas comuns em todos os materiais. Os apêndices favorecem que os microrganismos permaneçam aderidos a essa superfície (Rosenberg et al., 1982; Korber et al., 1989; Dolan, 2002).

Após a adesão dos microrganismos à superfície do substrato, o biofilme passa a se diferenciar e colonizar outras áreas (Figura 15). Alguns processos permitem que a formação do biofilme ocorra rapidamente. O processo de coagregação é um exemplo de que os microrganismos criam receptores para se ligar no filme condicionante e aos outros microrganismos.

Figura 15 – Fases de desenvolvimento do biofilme.



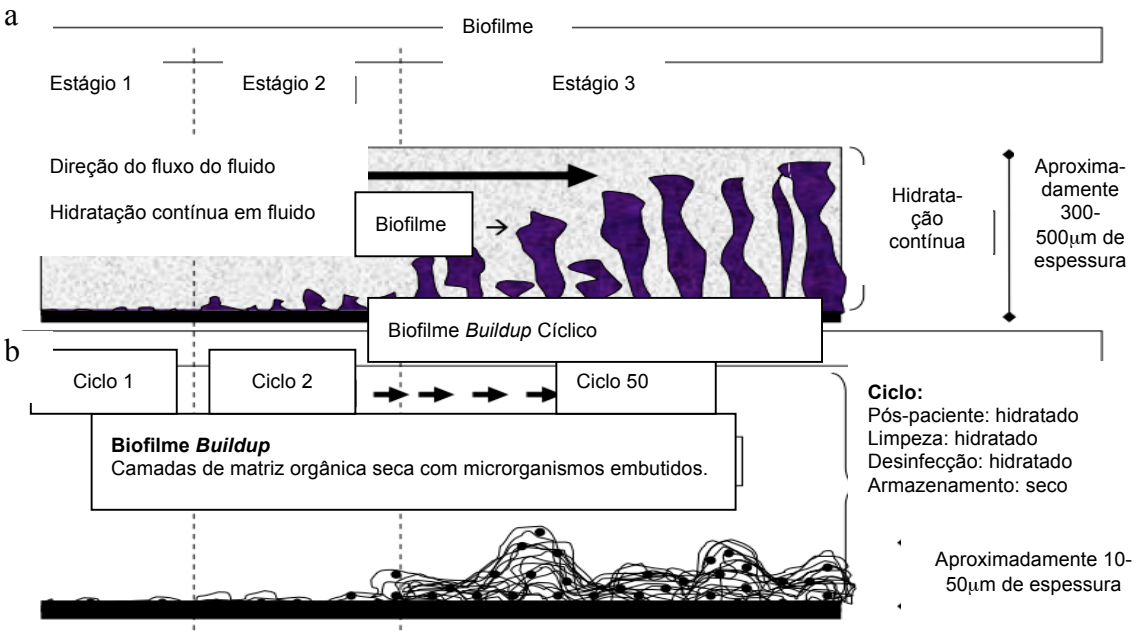
Fonte: Sauer, Rickar, Davies, 2007. 1: adesão reversível; 2: adesão irreversível; 3 e 4: maturação; 5: dispersão.

A diversidade estrutural dos biofilmes está relacionada a diversos fatores, como: quantidade e tipo de matéria orgânica disponível no meio ambiente; tipo do substrato; concentração de antimicrobianos ou desinfetantes; e temperatura do ambiente (Donlan, 2001a, 2002). As estruturas mais compactas são encontradas em locais de fluxo turbulento e nos endoscópios gastrointestinais (Zhong et al., 2009).

O biofilme formado nos endoscópios gastrointestinais difere do convencional. Ele foi denominado "*buildup biofilm*", formado em consequência de um processo cíclico, que

envolve fases expostas a um ambiente hidratado (sujidade após o exame endoscópico gastrointetinal, limpeza e desinfecção), seguido por outras fases em ambiente seco, que incluem a secagem e o armazenamento. Isso ao contrário do biofilme convencional, que se encontra em contínua hidratação (Figura 16). No *buildup biofilm,* após a desinfecção de alto nível, há sobrevivência de uma ampla variedade de microrganismos (Alfa, Howie, 2009; Zhong et al., 2009).

Figura 16 – Biofilme tradicional e biofilme *buildup*



Fonte: Zhong et al., 2009 (Tradução do inglês para o português). a: biofilme tradicional; b: biofilme *buildup*.

A formação de biofilme na superfície de produtos para a saúde é um assunto preocupante, pois a matriz extracelular, que compõe esta forma de vida microbiana, dificulta ou impossibilita a difusão de biocidas (AAMI, 2007) e torna os biofilmes mais resistentes do que na forma planctônica (Nickel et al., 1985; Costerton, Stewart, Greenberg, 1999). A presença de células "*persisters*" - como os esporos, não morrem nem crescem na presença de biocidas, é um dos mecanismos de tolerância aos biocidas encontrados nos biofilmes (Stewart; Costerton, 2001; Stewart, 2003). O biofilme "*buildup*" formado na superfície interna dos canais endoscópios gastrointestinais, mesmo que não danificada, poderá em algumas ocasiões ser impossível de ser removido mesmo com várias tentativas de limpeza e desinfeção, sendo, assim, necessária a troca do canal endoscópico gastrointestinal (Kovaleva et al., 2009).

O biofilme se movimenta na superfície por viscoelasticidade e não necessariamente por se soltar. As estratégias que os organismos empregam para colonizar superfícies variam entre os microrganismos e são as seguintes: *speeding dispersal* - dispersão de células individuais; e desprendimento de *clusters* – espalhamento; coagregação e; adensamento (Hall-Stoodley, Stoodley, 2005).

A dispersão de biofilme também pode ocorrer por meio do desprendimento desta forma de vida, presente em produtos para saúde, mesmo após o processamento, durante procedimentos de assistência à saúde. Assim, o biofilme poderá ser transmitido ao paciente que se submete ao exame, o qual estará susceptível ao desenvolvimento de quadros infecciosos (Donlan, 2001b).

O endoscópio gastrointestinal apresenta propriedades químicas e estruturais que favorecem a formação de biofilme nesse equipamento. Isso pode oferecer risco à saúde do paciente que se submete ao procedimento de endoscopia gastrointestinal. Dessa forma, os profissionais envolvidos precisam, como ação prioritária, tentar prevenir a formação de biofilme na superfície deste equipamento, tendo em vista que a interação desta forma de vida dos microrganismos com os produtos para saúde torna-se irreversível e não pode ser desfeita com um simples enxágue (Dolan, 2002).

Os principais métodos propostos de controle da formação de biofilmes são: a) limpeza mecânica e química (Vickery, Pajkos, Cossart, 2004); b) redução do aporte de nutrientes; c) aplicação de biocidas; e d) adsorção de células em superfícies. Substâncias como prata, antissépticos e antimicrobianos para a impregnação da superfície dos substratos têm sido utilizadas para proteger a superfície dos produtos para a saúde da colonização de microrganismos (Schierholz, Beuth, 2001).

Diante da dificuldade de prevenir a formação de biofilme, a busca por formas de remoção sobre a superfícies dos produtos para a saúde pelos profissionais envolvidos no processamento destes materiais e por pesquisadores da área é uma realidade. Com o acúmulo cíclico de biofilme *buildup* na superfície dos endoscópios gastrointestinais após os processos de desinfecção, os posteriores processos de limpeza poderão ser comprometidos, pois a remoção dos mesmos possivelmente requererá ação mecânica associada à ação química. A ação mecânica exercida durante a limpeza dos endoscópios gastrointestinais pode ser realizada com o uso de escovas de limpeza, mas em locais inacessíveis a estes dispositivos, apenas o *flush* com a solução de limpeza é executado. A pressão exercida no interior dos canais endoscópicos não pode ser elevada para que não cause danos ao equipamento. Diante desta problemática, esta pesquisa avaliará o impacto da ação mecânica exercida por dois

dispositivos de fricção e a ausência de fricção na remoção de biofilme *buildup* durante a limpeza, com o uso de dois tipos de solução de limpeza indicadas para o processamentos dos endoscópios gastrointestinais.

Materiais e Métodos

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 TIPO DE PESQUISA

Realizou-se uma pesquisa experimental comparativa, em que o pesquisador controla as condições como os experimentos ocorrem e as intervenções nos grupos experimentais e nos grupos controles.

4.2 LOCAL DO ESTUDO

A pesquisa foi realizada no laboratório de microbiologia do Centro de Pesquisa *Sant Boniface*, da Universidade de Manitoba, Winnipeg, Manitoba, Canadá, com a supervisão da Prof.ª Dr.ª Michelle Alfa[1].

4.3 MATERIAL

4.3.1 Unidades amostrais

As unidades amostrais utilizadas nestes estudo foram canais de sucção/biópsia de politetrafluoretileno (PTFE) de colonoscópios, com diâmetro interno de 3,7mm, comprimento de 1.800mm e volume interno de 20ml (*Endoscopy Development Company, Olympus America Inc, Center Valley*, PA).

4.4 VARIÁVEIS DO ESTUDO

4.4.1 Variável dependente

A variável dependente da pesquisa consistiu na remoção de biofilme buildup-5 (BBF-5) e biofilme tradicional-5 (TBF-5) dos canais de sucção/biópsia de colonoscópios após a limpeza e; após a limpeza e subsequente desinfecção de alto nível.

A remoção de BBF-5 e de TBF-5 foi avaliada de acordo com a análise microbiológica convencional, técnica de adenosina trifosfato (ATP) e níveis de proteína e carboidrato.

A Prof.ª Dr.ª Michelle Alfa é mestre em Microbiologia pela Universidade de Manitoba; M. Sc. em Microbiologia, pela Universidade de *New South Wales* em Sydney, Austrália; é PhD em Microbiologia Médica, pela Universidade de Alberta. Tem como uma das suas linhas de pesquisa o investimento na avaliação da eficácia e efetividade da limpeza e prevenção de biofilme *buildup* em endoscópios gastrointestinais flexíveis.

4.4.2 Variáveis independentes

Combinações envolvendo o tipo de solução de limpeza, o tipo de dispositivo para fricção, e a desinfeção de alto nível foram avaliadas, como demonstrado no Quadro 1.

Quadro 1 – Combinações de procedimentos de limpeza e desinfecção avaliadas para a remoção de BBF-5 e TBF-5 em canais endoscópicos gastrointestinais de PTFE.

Solução de limpeza	Procedimentos de limpeza	Procedimentos de DAN
Detergente enzimático	*Pull thru ou escovas de cerdas ou sem fricção* + EFP 250 + enxágue + secagem	-
	Pull thru ou escovas de cerdas ou sem fricção + EFP 250 + enxágue + secagem	DAN + enxágue + secagem
Detergente alcalino	*Pull thru ou escovas de cerdas ou sem fricção* + EFP 250 + enxágue + secagem	-
	Pull thru ou escovas de cerdas ou sem fricção + EFP 250 + enxágue + secagem	DAN + enxágue + secagem
Água de torneira não estéril	*Pull thru ou escovas de cerdas ou sem fricção* + EFP 250 + enxágue + secagem	-
	Pull thru ou escovas de cerdas ou sem fricção + EFP 250 + enxágue + secagem	DAN + enxágue + secagem

EFP (Endo Flush Pump) 250 *pump* é uma máquina indicada para a limpeza dos canais endoscópicos gastrointestinais. Tem um ciclo programado para inserção de 2.210ml de fluido dentro dos canais.

4.5 PROCEDIMENTOS PARA O PROCESSAMENTO E COLETA DE DADOS

4.5.1 Avaliação das condições de integridade e composição química da superfície interna dos canais endoscópicos gastrointestinais

As condições de integridade de um dos canais endoscópicos gastrointestinais de PTFE foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura antes de iniciar a etapa de contaminação dos corpos amostrais e/ou avaliação do impacto da limpeza e DAN nesses canais.

4.5.2 Contaminação dos canais endoscópicos gastrointestinais

Inóculo bacteriano e matéria orgânica

Desafio orgânico

O *Artificial Test Soil* (*ATS*: US patente 6,477,990), preparado a fresco, foi utilizado como o desafio orgânico de sujidade dos canais endoscópicos gastrointestinais (Alfa, DeGagne, Olson, 2005).

Bactérias

Enterococcus faecalis (ATCC 29212) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) foram as bactérias utilizadas para o teste de simulação. Ambas as bactérias são formadoras de biofilme. As cepas foram retiradas do *freezer*, semeadas três vezes ágar de tripitona de soja contendo sangue de ovelha desfibrinado a 5% (ágar sangue). As bactérias foram utilizadas em todos os experimentos com, no máximo, 24 horas após a terceira semeadura.

Figura 17 – *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) e *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442) em placas de ágar sangue.

Fonte: Acervo da autora. Colônias brancas pequenas: *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212); Colônias brancas opacas maiores: *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442).

Preparação do ATS-bactéria

O ATS-bactéria foi preparado no primeiro dia de inoculação dos canais endoscópicos com o ATS e as bactérias testes. Para uma solução final de 100ml de ATS-bactéria, realizaram-se os seguintes procedimentos:

a) suspensão de cada bactéria em 120ml de água de osmose reversa estéril em um frasco estéril;
b) determinação da carga bacteriana em um espectrofotômetro com comprimento de onda de 530nm, onde as absorbâncias de 0,45 e 0,35 representavam 10^8UFC/ml de *P. aeruginosa* e *E. faecalis*, respectivamente;
c) distribuição de 100ml da solução de cada bactéria em quatro diferentes tubos cônicos estéreis de 50ml, com fechamento posterior deles;
d) Centrifugação dos tubos em uma centrífuga ajustada nos seguintes parâmetros: 10^oC, 18 minutos e 3.500 rotações por minuto (rpm);
e) retirada dos tubos da centrífuga e encaminhamento para uma cabine de proteção biológica;
f) remoção total do sobrenadante de cada um dos frascos, com o uso de pipetas automáticas, com o cuidado de não tocar nos *pellets*;
g) adição de 12,5ml de ATS em cada um tubos cônicos com os *pellets* das bactérias (totalizando 50ml de cada bactéria teste);
h) homogeneização da solução ATS-bactéria de cada microrganismo até formar uma solução homogênea em vórtex; e
i) mistura de ambas as soluções de cada microrganismo em um frasco estéril com tampa e agitação em vórtex, totalizando uma solução de 100ml de ATS-bactéria.

Ao término da preparação, realizou-se diluição decimal seriada (1:10) de uma alíquota do ATS-bactéria, até a ordem de 10^{-6}, cultivo em ágar sangue (diluições de ordem de 10^{-4} a 10^{-6}), em triplicata, e contagem das UFC/ml após 24 horas de incubação, checando se a solução de ATS-bactéria apresentava 10^8UFC/ml.

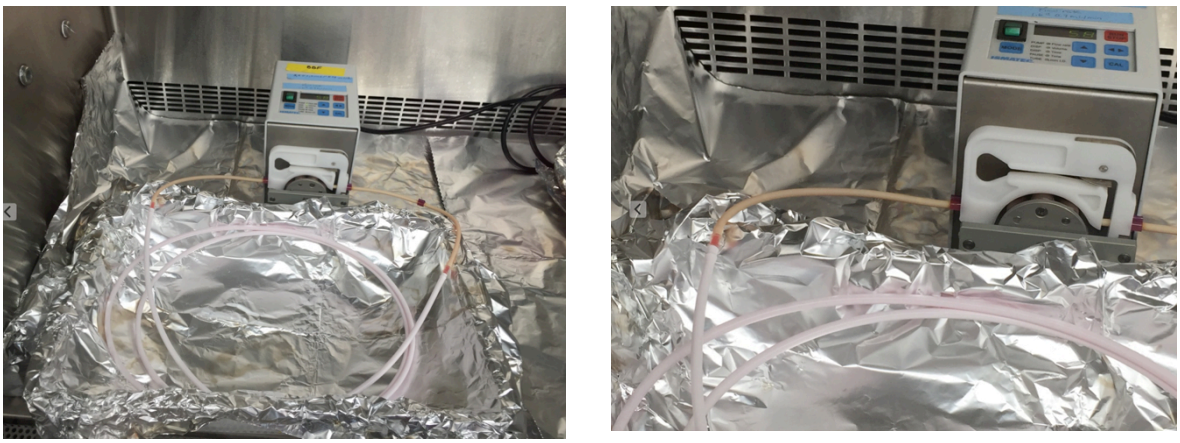
Técnica de inoculação dos canais endoscópicos gastrointestinais com ATS-bactéria

Dois modelos de biofilme (TBF-5 e BBF-5) foram desenvolvidos nesta pesquisa, com o objetivo de simular o mais próximo possível as condições de formação de biofilme no interior dos canais endoscópicos gastrointestinais flexíveis.

Biofilme tradicional-5 (TBF-5)

Canais estéreis de PTFE foram dispostos dentro de um recipiente de plástico previamente desinfetado com álcool a 70%v/v e coberto com uma folha de alumínio esterilizada. Todo o canal foi preenchido com 20ml de ATS contendo 10^8UFC/ml de cada bactéria teste (ATS-bactéria). O canal de PTFE preenchido com o ATS-bactéria foi conectado a um tubo de uma bomba peristáltica, formando um sistema fechado, dentro de uma cabine de proteção biológica (CPB). O tubo foi conectado às roldanas da bomba peristáltica (Masterflex® Montreal, Canada) e o ATS-bactéria foi circulado pelos canais a 75ml/hora (Vickery, Pajkos, Cossart, 2004; Vickery et al., 2009) durante 2 horas (Figura 18). Após a circulação do ATS-bactéria, os canais foram enxaguados com 20ml de água de torneira esterilizada e realizou-se a inserção de 30ml de ar utilizando uma seringa de 30ml esterilizada. Os canais foram dispostos no recipiente de plástico, com tampa à temperatura ambiente. Este procedimento foi repetido durante cinco dias. O biofilme formado nos canais nestes condições foi intitulado biofilme tradicional-5 (TBF-5).

Figura 18 – Perfusão dos canais de PTFE com o ATS-bactéria na bomba peristáltica.



Fonte: Acervo da autora

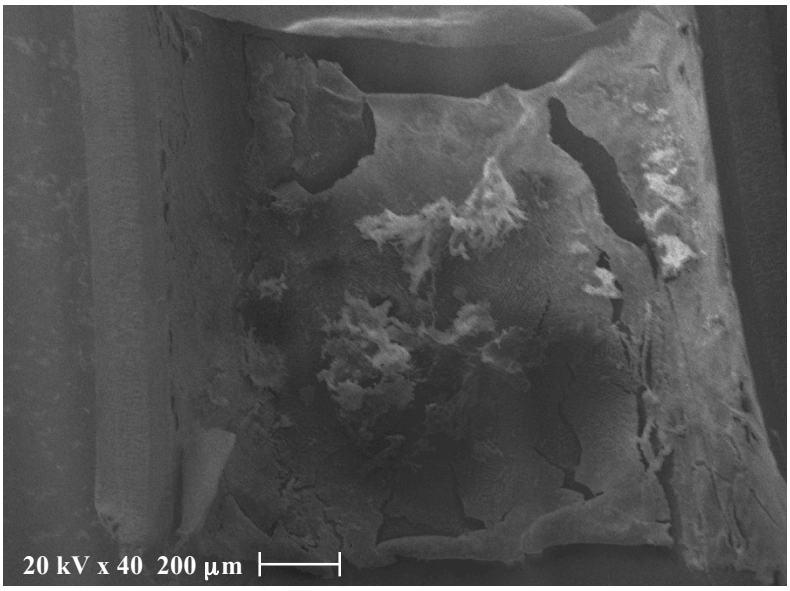
Biofilme buildup-5 (BBF-5)

Os mesmos procedimentos descritos anteriormente para desenvolver o TBF-5 em canais de PTFE foram desenvolvidos para a formação de BBF-5. Entretanto, a cada dia, após o enxágue e a aplicação de ar, os canais de PTFE foram transferidos para uma cabine com exaustação química e perfundido com 20ml de glutaraldeído a 2,6% (Metricide®, Orange, Califórnia, EUA) por 20 minutos à temperatura ambiente, de acordo com as recomendações

do fabricante. Os canais foram enxaguados com 90ml de água de torneira esterilizada e secos manualmente com 60ml de ar, utilizando uma seringa de 60ml. Os canais foram mantidos na horizontal dentro de recipientes de plástico fechados até o próximo dia de inoculação do ATS-bactéria. Estes procedimentos foram repetidos a cada dia durante quatro dias. No quinto dia, o canal foi exposto à solução de ATS-bactéria durante duas horas, enxaguado e secado antes dos testes. Este tipo de biofilme foi denominado biofilme buildup-5 (BBF-5).

Bactérias viáveis não foram detectadas (dados não mostrados) após cinco dias de exposição ao ATS-bactéria, enxágue, secagem, DAN, enxágue e secagem, o que se configura as condições reais para a formação do biofilme *buildup* (BBF) na prática clínica. Entretanto, após exposição do PTFE ao ATS-bactéria, enxágue, secagem, DAN, enxágue e secagem, verificou-se acúmulo de material na superfície interna dos canais de PTFE (Figura 19), considerado um desafio para processamento dos canais e uma condição que mais se aproxima do cenário real do uso dos endoscópios gastrointestinais. Este fato justificou a opção por avaliar o impacto da limpeza e DAN do BBF-5 formado durante quatro dias de exposição ao ATS-bactéria, enxágue, secagem, DAN, enxágue e secagem, e ATS-bactéria e enxágue no quinto dia.

Figura 19 – Visualização por microscopia eletrônica de varredura do acúmulo de material em um canal de PTFE após ciclos de exposição ao ATS-bactéria, enxágue, secagem, DAN, enxágue e secagem.



Fonte: Acervo da autora.

Embora o fabricante indique que o glutaraldeído 2.6% pudesse ser usado por 14 dias, para o desenvolvimento do BBF-5 a solução desinfetante foi utilizada por quatro dias e a concentração mínima efetiva (CME) foi avaliada diariamente com fitas teste (Metricide®, Orange, Califórnia, EUA) para garantir a concentração adequada (≥ 1.5%).

Em ambos os modelos de biofilme, a mesma suspensão de ATS-bactéria foi utilizada por cinco dias e armazenada em geladeira (2 a 8°C) após o último ciclo de inoculação de ATS-bactéria de cada dia. O nível de bactéria na suspensão do ATS-bactéria foi determinado antes do primeiro uso e após o último uso no quinto dia de desenvolvimento do TBF-5 e BBF-5.

4.5.3 Grupos controles e experimentais

A pesquisa foi composta dos seguintes grupos

Controles negativo

Os seguintes controles negativos foram realizados para garantir que os canais de PTFE esterilizados, utilizados como corpo de prova antes da formação de BBF-5 ou TBF-5, encontravam isentos de microrganismos, assim como as soluções e dispositivos de limpeza, e desinfetante avaliados:

- canal de PTFE esterilizado; sem BBF-5 ou TBF-5 e sem exposição ao detergente ou desinfetante (controle negativo 1);
- canal de PTFE esterilizado; sem BBF-5 ou TBF-5, exposto ao detergente enzimático e glutaraldeído 2.6% (controle negativo 2); e
- canal de PTFE esterilizado; sem BBF-5 ou TBF-5, exposto ao detergente alcalino e glutaraldeído 2.6% (controle negativo 3).

Os controles negativos foram testados com a utilização do dispositivo de limpeza *pull thru*, escovas com cerdas e sem fricção.

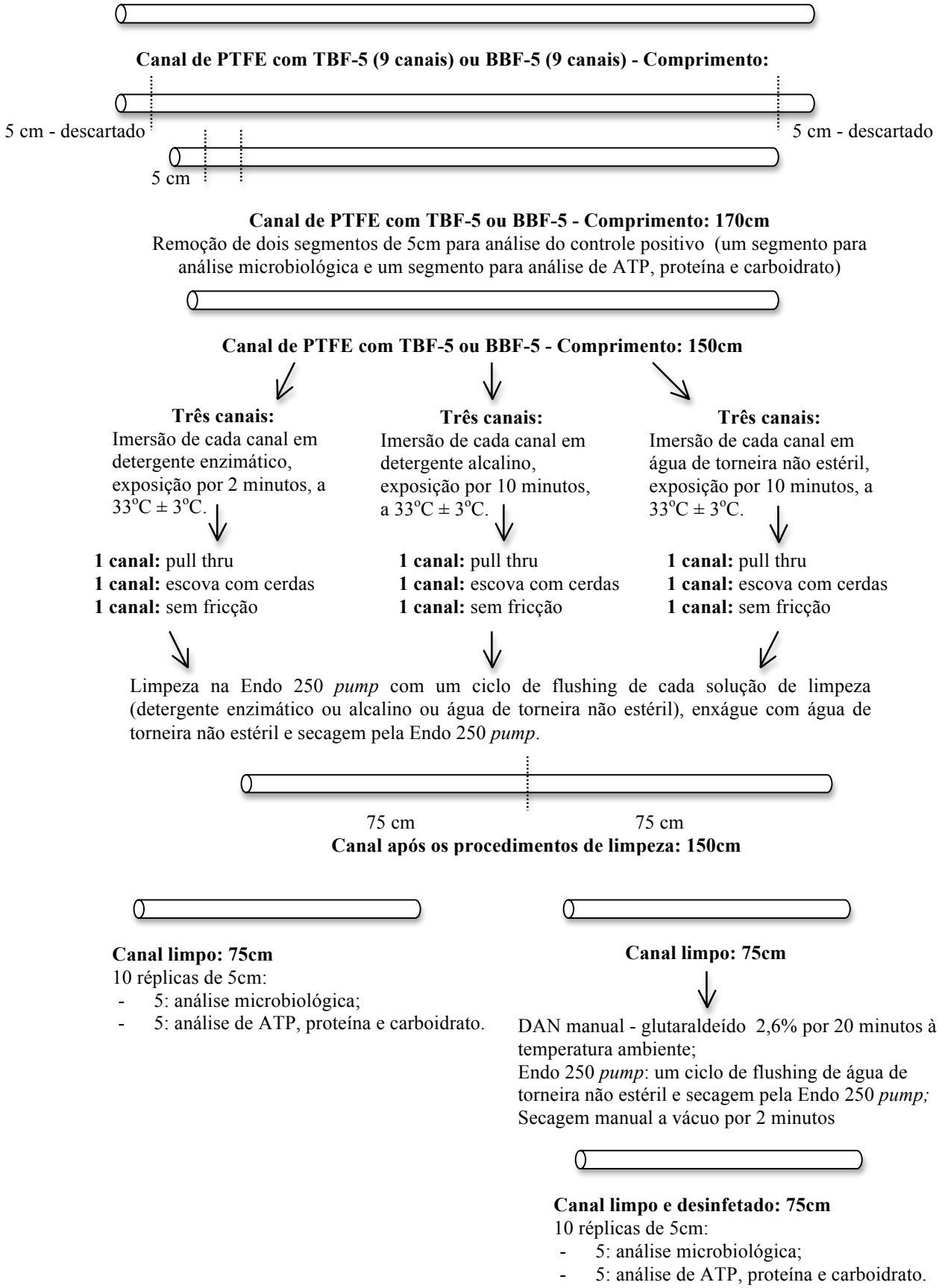
Controles positivo

Canais de PTFE contendo TBF-5 ou BBF-5, não expostos a detergentes, escova de limpeza de cerdas, dispositivo de limpeza pull thru ou desinfetante representaram os controles positivo. A realização deste grupo teve como finalidade certificar a quantidade de bactérias, ATP e resíduo orgânico nos canais de PTFE após a formação de TBF-5 e BBF-5.

Grupos experimentais

Os testes experimentais foram realizados em 18 canais de PTFE (180 cm), sendo 9 canais contendo TBF-5 e 9 com BBF-5. Os canais de PTFE contendo TBF-5 ou BBF-5 foram submetidos a diversos procedimentos de limpeza e, então seccionados e expostos à DAN como demonstrado no Figura 20.

Figura 20 - Procedimentos do processamento dos canais de PTFE após formação de TBF-5 e BBF-5, limpeza e DAN.



4.5.4 Soluções de limpeza

O detergente com enzimas utilizado nesta pesquisa foi o *Endozime Bioclean* (Ruhof Corp., Mineola, Nova Iorque, EUA), de pH neutro, que possui quatro enzimas (amilase, protease, lipase e carboidrase) e é indicado pelo fabricante para a remoção de biofilme, em concentrações de 4 a 8ml/L, após tempo de contato de dois minutos, e temperatura da solução entre 27 e 44°C. Para os propósitos desta pesquisa, este detergente foi utilizado na concentração máxima indicada de 8ml/L, tempo de contato de dois minutos, e com temperatura de 33 ± 3°C.

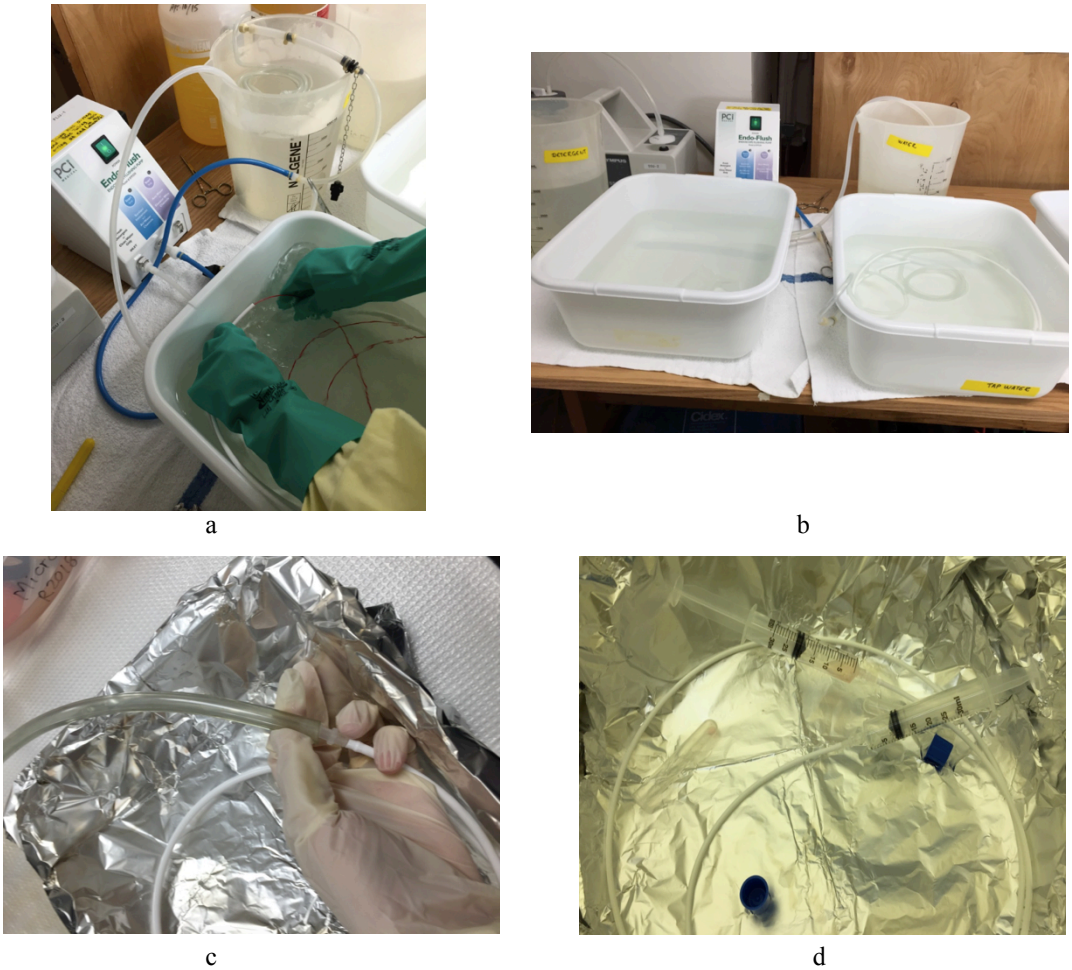
MediClean (Neodisher®, Miele Ltd, Vaughan, Ontario, Canada) foi o detergente sem enzimas e com pH alcalino (pH 10.4-10.8) utilizado para teste neste estudo, com tempo de contato de 10 minutos, com concentração de 30ml/L, e também com temperatura de 33 ± 3°C. Os fabricantes recomendam o uso deste detergente com concentração de 5 a 30 ml/L, temperatura máxima de 40°C e tempo de contato de dez minutos.

Ambos os detergentes são indicados para a limpeza dos endoscópios gastrointestinais flexíveis. Para melhor descrição didática, o detergente *Endozime Bioclean* será denominado como “detergente enzimático” e o *MediClean* como “detergente alcalino”.

A água de torneira não estéril à temperatura de 33 ± 3°C e tempo de exposição de dez minutos foi utilizada como uma solução de limpeza comparativa.

Etapas dos procedimentos de limpeza, do enxágue, da secagem e da desinfecção de alto nível realizadas nos canais de PTFE podem ser observados na Figura 20.

Figura 21 - Etapas dos procedimentos de limpeza, de enxágue, de secagem e de DAN realizadas nos canais de PTFE.



a b c d

Fonte: Acervo da autora. a: fricção do canal de PTFE com o *pull thru*; b: enxágue do canal; c: secagem do canal; d: exposição do canal ao glutaraldeído 2.6%.

4.6 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO E ANÁLISE DAS AMOSTRAS

4.6.1 Método de extração do PTFE

Após o desenvovimento do TBF-5 e BBF-5, a superfície externa dos canais de PTFE foi desinfetada manualmente com álcool isopropílico a 70%v/v (Stevens®, Winnipeg, Manitoba, Canadá) e o canal foi disposto sobre uma folha de alumínio esterilizada no interior da cabine de proteção biológica. Uma lâmina cirúrgica de aço inoxidável estéril (Bard-Parker®, Beckton-Dickenson, Mississauga, Ontario, Canadá) foi utilizada para cortar os

canais de PTFE. Cinco centímetros das extremidades dos canais foram cortados e descartados. Dois segmentos de 5cm foram obtidos, um para a contagem de bactérias viáveis e outro para teste de ATP e análise de resíduo orgânico (controle positivo). O restante do canal de PTFE (aproximadamente 150cm) com TBF-5 e BBF-5 foi submetido a diversos procedimentos de limpeza (Quadro 2). Após a limpeza, metade do canal (75cm) foi submetido à DAN e a outra metade (75cm) foi analisada para determinar o impacto da limpeza na remoção de TBF-5 ou BBF-5. Após todos os procedimentos de limpeza e DAN, o canal de PTFE foi cortado em segmentos de 5cm. Os segmentos foram colocados separadamente em placas de Petri estéreis e cortados longitudinalmente, e então cortados em cinco segmentos menores (10 segmentos no total). Os 10 segmentos foram colocados em 5ml de água de osmose reversa estéril dentro de um tubo cônico estéril de 50ml para análise de ATP, proteína e carboidrato (cinco réplicas de segmentos de 5cm foram processadas da mesma forma). Para a contagem de bactérias viáveis, outros 10 segmentos foram colocados dentro de um tubo cônico estéril de 50 ml contendo uma solução de extração consistindo de 2,5ml de água de osmose reversa estéril e 2,5ml da solução neutralizante (Tween 80 (SIGMA, St. Louis, Missouri, EUA) 6% (v/v), lecitina (SIGMA, St. Louis, Missouri, EUA) 0,6% (p/v), L-histidina (SIGMA, St. Louis, Missouri, EUA) a 0,2% (p/v), tiossulfato de sódio (SIGMA, St. Louis, Missouri, EUA) a 1,0% (p/v) (Pineau; Philippe, 2013). Após a imersão dos segmentos de PTFE na solução de neutralizante e água de osmose reversa esterilizada, os tubos cônicos foram agitados por dois minutos, sonicados por cinco minutos e colocados no vórtex por um minuto (as cinco réplicas dos segmentos de PTFE de cinco cm foram processados desta forma).

4.6.2 Adenosina Trifosfato (ATP)

O teste Ruhof ATP *Complete*® foi utilizado para medir as unidades relativas de luz (URL) das amostras analisadas. Ruhof ATP *Complete*® é um teste recomendado para monitorar a qualidade da limpeza realizada em produtos para saúde como os endoscópios gastrointestinais. Os resultados são apresentados em Unidades Relativas de Luz (RLU) que representam a quantidade de luz gerada, por meio da reação luciferina/luciferase, proporcional à quantidade de ATP presente na amostra.

O ATP representa um nucleotídeo responsável por armazenar energia nas ligações químicas e está presente em todas as células vivas animais, vegetais, bacterianas e fúngicas, como também em células não vivas.

A tecnologia ATP proporciona resultados rápidos, de forma simples de realização e permite intervir de imediato diante da detecção do não alcance da efetividade da limpeza.

Para realização desta pesquisa, 40µl das amostras processadas em 5ml de água de osmose reversa esterilizada foram colocados no *swab* teste fornecido pelos fabricantes, com o auxílio de uma pipeta automática. O *swab* teste foi inserido no luminômetro do Ruhof ATP *Complete*® e o ATP em cada amostra foi mensurado em URL, seguindo as orientações fabricante.

4.6.3 Resíduo orgânico

A quantidade de proteína nas amostras foi mensurada utilizando o kit de análise QuantiPro BCA (Sigma, St. Louis, MO), de acordo com as orientações do fabricante. Este kit inclui um padrão de proteína, albumina de soro bovino. Os níveis de carboidrato foram quantificados de acordo com a técnica descrita previamente por Liu *et al.* (1994). Os limites de detecção de proteína e carboidrato ao utilizar estes testes foram de 0,5ug/ml e 10,0µg/ml, respectivamente.

4.6.4 Quantificação da carga microbiana

A quantificação da carga bacteriana foi realizada utilizando diluição decimal seriada padrão, 1:10, com semeadura de uma alíquota de 0,1ml de cada diluição em placas de Petri com ágar sangue (Oxoid®, Oxoid Inc., Nepean, Ontário, Canadá), seguido de incubação de 35°C a 37°C por 24 horas. O limite de detecção para contagem de bactérias viáveis foi de 10UFC/ml ou 8,61UFC/cm^2. A conversão de UFC/ml para UFC/cm^2 para o tamanho dos segmentos de PTFE que foram analisados está demonstrada a seguir:

$$\text{Limite de detecção (UFC/cm}^2) = \frac{\text{10UFC/ml x volume de extração}}{\text{área da superfície interna do segmento de PTFE}}$$

$$\text{Limite de detecção (UFC/cm}^2) = \frac{\text{10UFC/ml x 5ml}}{\text{5,81cm}^2}$$

$$\text{Limite de detecção (UFC/cm}^2) = \text{8,61UFC/cm}^2$$

Nota:
Área da superfície interna do segmento de PTFE = $2\pi rh$ = (2 x (3,14 x 0,185cm x 5cm) = 5,81cm^2

4.7 TESTES CONTROLE DE POSSÍVEIS VARIÁVEIS DE CONFUSÃO

4.7.1 Teste dos detergentes

A atividade antibacteriana contra células planctônicas dos detergentes utilizados nesta pesquisa , com e sem neutralizante, foi avaliada em triplicata. O controle bacteriano consistiu de um tubo teste estéril contendo 1.800µl de água de osmose reversa esterilizada, sem neutralizante ou detergente. Para os testes detergente-neutralizante, um tubo esterilizado contendo 900µl de cada detergente e 900µl do neutralizante (controle detergente-neutralizante) foi preparado. Para o teste do detergente, um tubo esterilizado contendo 900µl de cada detergente e 900µl de água de osmose reversa esterilizada (teste do detergente) foi preparado. Todos os tubos foram mantidos à temperatura ambiente por cinco minutos. Então 200µl de uma suspensão de bactéria de $4\log_{10}$UFC/ml foram adicionados em cada tubo e incubados no tempo de contato e temperatura recomendados pelos fabricantes.

4.7.2 Teste do desinfetante

O teste do desinfetante foi realizado para avaliar a atividade antibacteriana do glutaraldeído contra células planctônicas com e sem neutralizante, em triplicata. A solução de neutralizante foi preparada como descrito por Pineau e Philippe (2013). Glutaraldeído a 2,6% foi diluído em 1:10, e 900µl do neutralizante foram mantidos em temperatura ambiente por cinco minutos. Após este período, 200µl da suspensão bacteriana ($4\log_{10}$UFC/ml) foram adicionados. O controle do inóculo bacteriano (controle positivo) apresentou água de osmose reversa esterilizada ao invés do desinfetante e o controle do desinfetante foi realizado com água esterilizada, no lugar no neutralizante. O tempo de exposição do glutaraldeído foi de 20 minutos, à temperatura ambiente.

O número de bactérias viáveis após todos os tratamento foi determinado por inoculação e cultivo de 0,1ml da suspensão direta e na diluição decimal na superfície de placas de Petri com ágar sangue. As placas foram incubadas a 35 ^{o}C a 37°C por 24 horas.

4.7.3 Teste da água de torneira

A água de torneira das três pias do laboratório foi coletada em três dias diferentes e 0,1ml da água foi inoculado em placas de ágar sangue e incubado a 35 ^{o}C a 37°C por 48 horas,

período de incubação suficiente para a detecção de *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus faecalis* (bactérias testes utilizadas neste pesquisa).

4.7.4 Verificação do fluxo e descontaminação da EFP 250

A EFP 250 foi descontaminada e fluxo desta máquina foi testado antes do uso de acordo com as recomendações do fabricante.

4.8 APRESENTAÇÃO E TRATAMENTO DOS DADOS

Os dados coletados foram lançados no programa Excel e os resultados foram apresentados em tabelas. A média aritmética e o desvio padrão das variáveis foram calculados. Teste de Kruskal-Wallis foi realizado primeiramente para determinar se a distribuição dos grupos testados era igual ou diferente. Se distribuição diferente, a hipótese foi rejeitada, e a análise post hoc Dunn-Bonferroni foi realizada para comparar os grupos.

RESULTADOS

5 RESULTADOS

A média da quantidade de *E. faecalis* (2,06 x 10^8UFC/ml) e *P. aeruginosa* (1,73 x 10^8UFC/ml) no ATS utilizado para a formação do BBF-5 e TBF-5 no primeiro dia permaneceu similar à quantidade de bactérias no ATS após o quinto dia de armazenamento na geladeira (*Enterococcus faecalis* - 1,20 x 10^9UFC/ml e *Pseudomonas aeruginosa* - 2,01 x 10^8UFC/ml. A cultura da água de torneira utilizada para preparar as soluções dos detergentes e para o enxágue dos canais endoscópicos gastrointestinais após a limpeza e a desinfecção demonstrou ausência de bactérias após o período de incubação. Bactérias também não foram detectados nos controles negativos dos canais de PTFE após o uso de detergentes, detergentes com subsequente DAN e no grupo exposto apenas ao sistema STERIS 1 (controle negativo 1, 2 e 3).

Os dados na Tabela 1 demonstram que a solução do neutralizante não apresenta atividade antibacteriana. Também, mostra a habilidade do neutralizante de inativar o glutaraldeído a 0,26% (diluição de 1:10) e os detergentes avaliados em suas diluições de uso.

Tabela 1 – Avaliação da atividade antibacteriana do neutralizante, do detergentes e do desinfetante de alto nível.

Tratamento	*E. faecalis* Log_{10} UFC/ml (DP)*	*P. aeruginosa* Log_{10} UFC/ml (DP)*
Impacto do neutralizante e DAN nas bactérias em suspensão		
Sem neutralizante e sem DAN	3,21 (0,04)	3,08 (0,06)
Somente neutralizante	4,02 (0,06)	3,87 (0,11)
Glutaraldeído 0,26%	0 (0,00)	0 (0,00)
Glutaraldeído 0,26% e neutralizante	4,17 (0,10)	1,98 (1,73)
Impacto do detergente na diluição de uso nas bactérias em suspensão		
Sem neutralizante e sem detergente	3,90 (0,08)	3,96 (0,05)
Somente neutralizante	4,13 (0,02)	2,46 (0,08)
Detergente alcalino	4,21 (0,06)	2,43 (0,15)
Detergente alcalino e neutralizante	3,95 (0,03)	3,91 (0,06)
Detergente enzimático	0 (0,00)	0 (0,00)
Detergente enzimático e neutralizante	3,83 (0,04)	3,82 (0,07)

* DP: desvio padrão; As suspensões bacterianas foram expostas aos detergentes testados nas diluições de uso e expostos aos tempos recomendados pelos fabricantes. A habilidade do neutralizante em proteger as bactérias em suspensão foi avaliada para o DAN em uma diluição de 1:10 (0,26%) da concentração recomendada pelo fabricante (2,6%). Os valores listados na tabela como "0" representa resultado menor do que o limite de detecção para a análise de contagem de bactérias viáveis. Os resultados representam o log_{10}UFC/ml da média das três amostras de todos os testes realizados.

ATP

Os resultados de ATP para todas as amostras avaliadas, inclusive dos controles positivos e dos segmentos de PTFE com BBF-5 ou TBF-5, mostraram valores de URLs inconsistentes, como demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2 – Unidades relativa de luz nos segmentos de PTFE com TBF-5 e BBF-5 (sujidade e enxágue) e após os procedimentos de limpeza e DAN.

Tipo de biofilme	Solução de limpeza	Tratamentos	Média URL		
			Pull thru	**Cerdas**	**Sem fricção**
TBF-5	**Detergente alcalino**	Controle +	1514,0	48,0	52,0
		Após limpeza	0,0	0	1,2
		Após DAN	0	0,0	0,6
	Detergente Enzimático	Controle +	408,0	63,0	228,0
		Após limpeza	0,0	0,0	3,8
		Após DAN	0,0	0,0	43,2*
	Água de torneira	Controle +	112,0	9,0	40,0
		Após limpeza	0,2	0,8	6,8
		Após DAN	3,0	0,0	1,0
BBF-5	**Detergente alcalino**	Antes sujidade	3,0	3,0	104,0
		Controle +	44,0	22,0	12,0
		Após limpeza	0,0	0,0	0,0
		Após DAN	0,0	0,0	0,0
	Detergente enzimático	Antes sujidade	19,0	62,0	10,0
		Controle +	19,0	23,0	11,0
		Após limpeza	0,0	0,2	2,2
		Após DAN	0,0	0,0	0,0
	Água de torneira	Antes sujidade	-	-	-
		Controle +	33,0	4,0	8,0
		Após limpeza	0,0	0,0	2,4
		Após DAN	0,0	0,0	0,0

*os valores das cindo amostras foram: 22, 190, 2, 1, 1 URLs.

CONTAGEM DE BACTÉRIAS VIÁVEIS

As médias de *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa* nos modelos de TBF-5 após cinco dias de desenvolvimento foram de 5,83-$\log_{10}$UFC/cm^2 e 6,46-$\log_{10}$UFC/cm^2, contra 5,20-$\log_{10}$UFC/cm^2 e 4,47-$\log_{10}$UFC/cm^2 no BBF-5, respectivamente.

Pelo teste de Kruskall-Wallis, não houve diferença estatisticamente significante entre a quantidade de *E. faecalis* (p=0,099) e *P. aeruginosa* (p=0,099) nos controles positivo de biofilme tradicional-5 utilizados para os testes com o detergente enzimático, detergente alcalino e água de torneira não esterilizada, assim como entre a quantidade de *E. faecalis* (p=0,066) e *P. aeruginosa* (p=0,113) nos controles positivo de biofilme buildup-5. Isto demonstra padronização nas condições iniciais para os testes de limpeza e DAN.

A quantidade de *E. faecalis* e *P. aeruginosa* detectada nos controles positivos de TBF-5 e BBF-5 dos canais endoscópicos gastrointestinais de PTFE e o impacto dos diversos procedimentos de limpeza e DAN estão apresentados nas Tabelas 3 e 4.

Tabela 3 - Comparação do impacto da limpeza com pull thru®, escovas de cerdas e ausência de fricção (*flush*), com uso de detergente enzimático, alcalino e água de torneira não esterilizada, e da DAN na remoção de *E. faecalis* e *P. aeruginosa* em biofilme tradicional-5.

Solução de limpeza	Tratamentos	*E. faecalis*		*P. aeruginosa*	
		$Log_{10}UFC/cm^2$	p	$Log_{10}UFC/cm^2$	p
Detergente enzimático	**TBF-5**	6,12	-	6,67	-
	PT	0,24	0,021	0,24	0,045
	PT e DAN	0	0,001	0	0,009
	BR	0	0,001	0	0,009
	BR e DAN	0	0,001	0	0,009
	Flush	0,24	0,021	**3,63**	**1,000**
	Flush e DAN	0	0,001	0	0,009
Detergente alcalino	**TBF-5**	6,42	-	7,15	-
	PT	**2,24**	**0,081**	0	0,001
	PT e DAN	**0,84**	**0,058**	0	0,001
	BR	0	0,010	0	0,001
	BR e DAN	**0,71**	**0,189**	0	0,001
	Flush	**3,35**	**1,000**	1,280	0,010
	Flush e DAN	0	0,010	0	0,001
Água de torneira não esterilizada	**TBF-5**	5,11	-	5,57	-
	PT	0	0,002	0	0,003
	PT e DAN	0	0,002	0	0,003
	BR	0	0,002	0	0,003
	BR e DAN	0	0,002	0	0,003
	Flush	**1,97**	**0,190**	**2,23**	**1,000**
	Flush e DAN	0	0,002	0	0,003

PT: Pull thru®; BR: escova de cerdas; DAN: Desinfecção de alto nível. Dados mostrados como "0" indicou que o nível detectável de bactéria viável foi abaixo do limite de detecção para a análise de contagem viável. Os resultados representam o $log_{10}UFC/cm^2$ da média das amostras em UFC/cm^2 de todos os testes realizados. Para o teste de Kruskal-Wallis, que antecedeu o teste de Dunn-Bonferroni, os valores de "p" foram os seguintes: Detergente enzimático-EF: p=0,001; Detergente alcalino-PA: p<0,001; Detergente alcalino-EF: p=0,008; Detergente alcalino-PA: p<0,001; Água de torneira não esterilizada-EF: p<0,001; Água de torneira não esterilizada-PA: p<0,001. Os valores de "p" apresentados na tabela são resultados do teste Dunn-Bonferroni e representam a comparação de cada um dos grupos com o controle e ajustado para comparações múltiplas.

Não houve diferença da eficácia para a remoção de PA em TBF-5 entre o detergente enzimático e a água, em ambas as situações, a limpeza apenas não foi eficaz (p>0,05) na ausência de fricção (*flush*). Por outro lado, o detergente alcalino, associado a todos os procedimentos de limpeza (ausência e presença de fricção) e DAN, foi eficaz para remoção de PA. Para a remoção de EF em TBF-5, a eficácia da limpeza foi alcança em todas situações avaliadas (com e sem fricção) com o uso do detergente enzimático; com a água, na presença de fricção (pull thru® e escovas de cerdas); e com detergente alcalino, apenas com o método de limpeza com escovas de cerdas (p<0,05).

Tabela 4 - Comparação do impacto da limpeza com pull thru®, escovas de cerdas e ausência de fricção (flush), com uso de detergente enzimático, alcalino e água de torneira não esterilizada, e da DAN na remoção de *E. faecalis* e *P. aeruginosa* em biofilme buildup-5.

Solução de limpeza	Tratamentos	*E. faecalis*		*P. aeruginosa*	
		$Log_{10}UFC/cm^2$	p	$Log_{10}UFC/cm^2$	p
Detergente enzimático	**BBF-5**	5,42	-	3,64	-
	PT	0	0.001	0	0,001
	PT e DAN	0	0.001	0	0,001
	BR	0	0.001	0	0,001
	BR e DAN	0	0.001	0	0,001
	Flush	0,84	0.010	2,06	0,010
	Flush e DAN	0	0.001	0	0,001
Detergente alcalino	**BBF-5**	5,10	-	4.70	-
	PT	0	0,002	0	0,001
	PT e DAN	0	0,002	0	0,001
	BR	0	0,002	0	0,001
	BR e DAN	0	0,002	0	0,001
	Flush	**0,71**	**0,190**	0	0,001
	Flush e DAN	0	0,002	0	0,001
Água de torneira não esterilizada	**BBF-5**	5,10	-	5.08	-
	PT	0	0,002	0	0,003
	PT e DAN	0,93	0,019	0,84	0,033
	BR	0	0,002	0	0,003
	BR e DAN	0	0,002	0	0,003
	Flush	1,95	0,023	**2,80**	**0,242**
	Flush e DAN	0	0,002	0	0,003

PT: Pull thru®; BR: escova de cerdas; DAN: Desinfecção de alto nível. Dados mostrados como "0" indicou que o nível detectável de bactéria viável foi abaixo do limite de detecção para a análise de contagem viável. Os resultados representam o $log_{10}UFC/cm^2$ da média das amostras em UFC/cm^2 de todos os testes realizados. Os valores "p" apresentados na tabela são resultados do teste Dunn-Bonferroni e representam a comparação de cada um dos grupos com o controle e ajustado para comparações múltiplas. Para o teste de Kruskal-Wallis, que antecedeu o teste de Dunn-Bonferroni, os valores de "p" foram os seguintes: Detergente enzimático-EF: $p<0,001$; Detergente alcalino-PA: $p<0,001$; Detergente alcalino-EF: $p<0,001$; Detergente alcalino-PA: $p<0,001$; Água de torneira não esterilizada-EF: $p=0,001$; Água de torneira não esterilizada-PA: $p=0,002$.

Para a remoção de bactérias em BBF-5, formados em canais de PTFE, não houve diferença da eficácia para a remoção de PA entre o detergente enzimático e o alcalino, em ambas situações, todos os procedimentos avaliados foram eficazes ($p<0,05$), enquanto que a água foi ineficaz para remoção de PA apenas na ausência de fricção ($p>0,05$). Para a remoção de EF em BBF-5, o detergente enzimático e a água foram eficazes em todas situações avaliadas; o detergente alcalino, foi eficaz na presença de fricção com o dispositivo pull thru® e escovas de cerdas ($p<0,05$).

RESÍDUO ORGÂNICO

Os níveis de carboidrato e proteína em todos os grupos controle positivo e experimentais mostram-se inconsistentes, incapazes de detectar TBF-5 e BBF-5, apresentaram alta variabilidade entre as réplicas e com controles positivos com valores abaixo do limite de detecção, como demonstrado nas Tabelas 5 e 6.

Tabela 5 - Níveis de carboidrato em segmentos de PTFE com TBF-5 e BBF-5 (controle positivo) e após os procedimentos de limpeza e DAN.

Biofilme	Solução de limpea	Tratamentos	PT Média (mg/mL)	BR Média (mg/mL)	Flush Média (mg/mL)
TBF-5	Detergente alcalino	CP	LLD	LLD	LLD
		Após limpeza	LLD	LLD	LLD
		Após DAN	LLD	LLD	LLD
	Detergente enzimático	CP	LLD	LLD	7,80
		Após limpeza	3,20	0,84	LLD
		Após DAN	6,93	7,24	LLD
	Água de torneira	CP	LLD	1,84	3,58
		Após limpeza	LLD	LLD	LLD
		Após DAN	LLD	LLD	LLD
BBF-5	Detergente alcalino	CP	7,63	7,37	4,54
		Após limpeza	8,15	9,02	9,86
		Após DAN	4,76	4,06	3,30
	Detergente enzimático	CP	3,76	4,02	LLD
		Após limpeza	6,19	1,37	1,61
		Após DAN	3,34	6,70	1,01
	Água de torneira	CP	5,74	6,51	LLD
		Após limpeza	3,29	3,23	0,94
		Após DAN	4,11	7,80	2,46

CP: controle positivo; LLD: abaixo do limite de detecção; TBF-5: biofilme tradicional-5; BBF-5: biofilme buildup-5; DAN: desinfecção de alto nível; PT: pull thru®; BR: escova com cerdas.

Tabela 6 - Níveis de proteína em segmentos de PTFE com TBF-5 e BBF-5 (controle positivo) e após os procedimentos de limpeza e DAN.

Biofilme	Solução de limpeza	Tratamentos	PT Média (mg/mL)	BR Média (mg/mL)	Flush Média (mg/mL)
TBF-5	Detergente alcalino	CP	13,05	1,16	5,04
		Após limpeza	0,93	2,20	1,68
		Após DAN	2,81	2,34	1,63
	Detergente enzimático	CP	3,80	0,76	3,07
		Após limpeza	0,52	0,91	1,22
		Após DAN	0,70	2,19	2,11
	Água de torneira	CP	LLD	LLD	LLD
		Após limpeza	LLD	0,16	0,37
		Após DAN	LLD*	0,63	0,26
BBF-5	Detergente alcalino	CP	3,03	4,61	1,33
		Após limpeza	2,18	1,30	2,74
		Após DAN	0,84	1,08	0,82
	Detergente enzimático	CP	1,94	1,33	1,33
		Após limpeza	1,86	1,04	1,57
		Após DAN	1,54	2,06	1,27
	Água de torneira	CP	1,45	0,64	1,00
		Após limpeza	0,70	0,87	0,45
		Após DAN	1,34	2,43	0,70

* O resultado de uma amostra foi acima do limite de detecção (R 42.946).
CP: controle positivo; LLD: abaixo do limite de detecção; TBF-5: biofilme tradicional-5; BBF-5: biofilme buildup-5; DAN: desinfecção de alto nível; PT: pull thru®; BR: escova com cerdas.

Discussão

6 DISCUSSÃO

A presença de biofilme em endoscópios gastrointestinais completamente processados foi documentada em diversos estudos (Ren-Pei et al., 2014; Ren et al., 2013; Pajkos, Vickery, Cossart, 2004). A remoção desta forma de vida microbiana nestes produtos para saúde pode ser difícil ou impossível (Quiu et al., 2015; Marion et al., 2006).

Desenvolver modelos-teste para avaliar a eficácia dos procedimentos de limpeza e DAN que simulem as condições do biofilme *buildup*, que se forma após vários processos de utilização e processamento do endoscópio gastrointestinal, faz-se necessário. Diversos estudos que abordaram este assunto desenvolveram biofilme em condições de perfusão contínua dos canais endoscópicos gastrointestinais (Pajkos; Vickery, Cossart, 2004; Vickery et al. 2009; Aumeran et al., 2012; Balsamo et al., 2012; Ren et al., 2013; Ren-Pei et al., 2014; Neves et al., 2015). Entretanto, este tipo de perfusão contínua para o desenvolvimento de biofilme não reflete a forma de acúmulo de resíduo orgânico e de microrganismos na superfície dos canais endoscópicos gastrointestinais flexíveis, que são expostos a diversos ciclos de contato com o trato gastrointestinal do paciente, limpeza, DAN, enxágue e secagem. Este estudo é o primeiro que avaliou o impacto da limpeza com uso de escovas de cerdas e os dispositivos de limpeza *pull thru*® e subsequente DAN dos canais endoscópicos gastrointestinais de PTFE após a formação de BBF-5 ou TBF-5. Estes dois modelos de biofilme representam a simulação mais próxima, até hoje realizada, do desafio de biofilme que desenvolve em endoscópios gastrointestinais após o uso, principalmente por terem sido formados com a inclusão da fase da secagem e da DAN (BBF-5).

Utilizando os modelos de BBF-5 ou TBF-5 em canais de PTFE, os dados demonstraram que a fricção é um importante fator no processo de limpeza, pois promove a redução de 4-7 Log de bactérias. Quando não executada, somente a redução 3-6 Log é alcançada. No modelo de BBF-5, a limpeza foi eficaz em todas as situações que a fricção com o pull thru® ou escovas com cerdas foi realizada, e no modelo de TBF-5 a limpeza apenas não foi eficaz para a remoção de *E. faecalis* na presença de fricção com o dispositivo pull thru® e detergente alcalino. Na maioria das condições em que a fricção foi aplicada durante a limpeza a remoção do biofilme foi quase completa. O mesmo não ocorreu diante da ausência de fricção.

O fluxo de fluidos no interior de canais estreitos assume uma característica padrão de movimentação hidrodinâmica, conhecida como “fluxo laminar”, em que as forças de fricção

exercidas pelo fluxo de líquidos são menores na superfície dos tubos em relação ao centro deles (Mills, 2000). Dessa forma, em sistemas de fluxo laminar há risco mínimo de o biofilme se soltar, e ele ainda pode desenvolver-se (Costerton, 1995). Estudo desenvolvido em linhas de água de sistemas odontológicos demonstrou que *flushing* de água nestas linhas pode eliminar microrganismos em suspensão, mas não é efetivo na remoção de biofilmes (Santiago et al., 1994). Isso ajuda a compreender a maior recuperação de bactérias nos canais de PTFE com BBF-5 e TBF-5 quando apenas o *flush* de água ou detergente foi utilizado, em comparação com a fricção com o dispositivo *pull thru*® ou escovas com cerdas.

A maior permanência de biofilme em canais que não foram friccionados é preocupante no que diz respeito ao processamento efetivo dos endoscópios gastrointestinais, pois canais estreitos, como os canais de ar/água, não podem ser escovados durante a limpeza. Isso ocorre devido aos canais de alimentação e saída do cilindro de ar/água na cabeça de controle do endoscópio gastrointestinal, que, por causa do *design,* impedem a introdução de um dispositivo de fricção e à junção dos canais antes da ponta distal do tubo de inserção. A complexidade do *design* demonstra que, mesmo se uma escova pudesse entrar neste canal, ela poderia não passar corretamente pela região do cilindro de ar/água ou pelo local onde os canais se juntam, próximo da parte distal do tubo de inserção.

A contaminação dos canais de ar/água após procedimentos no paciente estão documentados (Alfa, DeGagne, Olson, 2010), bem como a contaminação persistente destes canais na prática clínica, por exemplo, por *P. aeruginosa,* mesmo após repetidos processos de limpeza e DAN (Ribeiro; Oliveira, 2012). A importância da fricção para a limpeza de canais estreitos já se encontra descrita desde 2001 (Dietze et al., 2001; e Ishino, 2001). Ribeiro et al. (2013) constataram a presença de poucos equipamentos de uma única marca que permitiam a fricção deste tipo de canal em serviços de endoscopia em 2011. Todavia, essa prática não era adotada mesmo dispondo de equipamentos que possibilitavam a fricção durante limpeza. As justificativas para a não execução desta etapa do processamento era o não conhecimento pelos profissionais que o canal de ar/água se contaminada após o procedimento endoscópico ou do desconhecimento da existência de dispositivos de fricção de diâmetro apropriado ao tamanho deste canal. Desconhece-se endoscópios gastrointestinais disponibilizados atualmente no mercado que possui canais de ar/água que permitem a fricção, configurando um retrocesso para o alcance da efetividade do processamento destes produtos para a saúde.

O tipo de dispositivo utilizado para promover fricção nos canais e facilitar a limpeza é muito importante. Contudo, são poucos estudos publicados que abordam este assunto (Bajolet et al., 2013). Até o desenvolvimento desta pesquisa, apenas um estudo tinha avaliado a

eficácia da limpeza dos canais endoscópicos com o dispositivo *pull thru*® em comparação com a tradicional escova de cerdas. O método de análise utilizado foi visual, utilizando solução de corante colorida, e por peso dos canais antes e após a limpeza (Charlton, 2007), não sendo este um método de avaliação padrão. Este estudo foi o primeiro que quantificou o impacto na remoção microbiana e de resíduo orgânico, comparando o *pull thru*® e as escovas de cerdas (ambos com tamanho apropriado ao canal utilizado). Os resultados mostraram ausência de diferença estatisticamente significante na eficácia da limpeza realizada com os dois tipos de dispositivos de fricção. Em todas as situações que a fricção foi realizada com o pull thru® ou com as escovas de cerdas, a limpeza foi eficaz, com exceção da limpeza de canais com TBF-5 que a análise estatística não demonstrou diferença significativa entre a limpeza realizada com o pull thru®, com o uso de detergente alcalino. Na perspectiva de "fatores humanos", durante a realização deste estudo, o uso do dispositivo de limpeza *pull thru*® foi de mais fácil utilização, pois requer a passagem somente uma vez pelo canal, enquanto que para a escova com cerdas foi necessário passar a escova três vezes pelo canal endoscópico, de acordo com as recomendações do fabricante.

De forma inesperada, quando a fricção foi exercida (pull thru® e escovas de cerdas), não houve diferença no impacto da limpeza realizada com água potável de torneira em comparação com os detergentes com e sem enzimas. Em teoria, o processo de limpeza é composto por quatro variáveis, de acordo com o ciclo de Sinner: 1) ação mecânica; 2) ação química; 3) temperatura; e 4) tempo (Vlková et al., 2008). Se uma destas variáveis for exarcebada, consequentemente, a necessidade das outras variáveis para uma limpeza eficaz é menor. Logo, a eficácia da água como agente limpante neste contexto pode ter sido alcançada devido ao aumento da fricção do dispositivo pull thru® ou escovas de cerdas em detrimento do tensoativo e à utilização da bomba com fluxo EFP 250 que bombeia aproximadamente 2000ml de água ou solução pelo tubo de PTFE, e também à temperatura da água utilizada de aproximadamente 33°C. Ressalta-se que o tempo de exposição do canal à água foi o mesmo utilizado para a limpeza com o detergente alcalino. Durante os procedimentos da limpeza dos canais de PTFE, maior resistência de ambos os tipos de dispositivos de fricção foi constatada com água quando comparada ao uso de detergentes. Isto, provavelmente, representa o impacto dos surfactantes dentro dos detergentes que reduz a fricção entre o dispositivo de limpeza e a superfície interna do canal de PTFE. Embora a limpeza com a água e presença de fricção tenha sido eficaz na remoção de TBF-5 e BBF-5, ressalta-se que o detergente também tem a propriedade de lubrificar a superfície do produto para saúde, o que ajuda na limpeza e na maior durabilidade do equipamento. Desta forma, verifica-se a necessidade de demais

estudos que avaliem a aplicabilidade da limpeza de canais de PTFE somente com água no que diz respeito à integridade e durabilidade do canal, e também a capacidade de remover resíduos orgânicos.

Neste estudo, o detergente enzimático apresentou melhor eficácia na remoção de *E. faecalis* em BBF-5 e em TBF-5, tanto na ausência quanto na presença de fricção com pull thru® e escova de cerdas. Embora, de acordo com a análise estatística (p=0,010), o detergente enzimático, na ausência de fricção (*flush*), também tenha demonstrado eficácia na remoção de *P. aeruginosa* em BBF-5, nestas condições, alcançou-se apenas a remoção de aproximadamente 45% da quantidade inicial deste microrganismo do BBF-5 formado no canal de PTFE. Por outro lado, o detergente alcalino promoveu melhor remoção de *P. aeruginosa* em ambos modelos de biofilme desenvolvidos neste estudo. A água comportou-se de forma similar na remoção de *E. faecalis* e *P. aeruginosa*. Infere-se que a maior habilidade do detergente enzimático em remover bactéria gram-positiva e o detergente alcalino para remover bactéria gram-negativa possa estar relacionada à diferença na constituição da parede celular ou da matriz de substâncias poliméricas produzidas por estas bactérias e as diferentes constituições dos dois detergentes avaliados. A diferença da eficácia dos detergentes para a remoção de diferentes tipos de microrganismos, reforça a importância de realização de estudos como estes que utilizam biofilme misto (*E. faecalis* e *P. aeruginosa*) para a verificação da eficácia dos processos de limpeza em canais endoscópicos, e também fornece evidências de que a validação dos detergentes pelos fabricantes em condições que envolvem biofilme misto, pois simulará melhor o que ocorre na prática clínica e confere menor risco de conclusões de eficácia equivocadas.

Além da importância de testes de validação de soluções de limpeza com biofilme misto, o biofilme também precisa ser formado na presença de matéria orgânica. O detergente com enzimas utilizado nesta pesquisa possui em seu rótulo a informação de promover a remoção de biofilme. Isso foi comprovado somente na presença de fricção. Este detergente foi validado de acordo com a ISO/TS 15883-5, anexo F (2005), que representa um dos testes de sujidade e métodos para demonstrar a eficácia da limpeza em endoscópios flexíveis. Entretanto, o constituinte de sujidade neste anexo é formado apenas por biofilme de *P. aeruginosa*, sem descrição da existência de material orgânico, o que pode representar um desafio menor do que o encontrado na prática clínica.

Na presença de fricção, a limpeza foi eficaz com o uso de detergente enzimático e detergente alcalino. Estes dados demonstram que outros tipos de detergentes podem ser utilizados para a limpeza dos canais endoscópicos e vão ao encontro de resultados

encontrados por outros autores (Vickery, Pajkos, Cossart, 2004; Vickery et al., 2009; Fang et al., 2010; Ren et al., 2013), que mostraram que detergentes sem enzima podem ser mais efetivos do que detergentes com enzima na remoção de biofilme. Estes dados reforçam a importância de validar a formulação de cada detergente para a efetiva limpeza de biofilmes nos endoscópios gastrointestinais, independente se trata de um detergente com ou sem enzima. O mito nacional do detergente enzimático que formatou a Enfermagem que elabora POPs de processamento como "só há limpeza eficiente se o Serviço de Saúde utilizar detergente enzimático" deve ser desfeita urgentemente.

Outra questão que deve ser levada em consideração durante a validação dos processos de limpeza é a utilização de neutralizantes durante a coleta das amostras. A detecção de biofilme em endoscópios é dependente das soluções utilizadas para a coleta das amostras e soluções que possuem ação tensoativa são mais efetivas (Aumeran et al. 2012; Luciano et al., 2016). Neste estudo, utilizou-se a solução neutralizante proposta por Pineau e Philippe (2013). É importante notar que esta solução não foi inserida dentro dos canais, mas dentro de um tubo cônico, para a posterior introdução das amostras. Este cuidado deve ser adotado na monitorização da efetividade do processamento dos endoscópios gastrointestinais na prática clínica, para evitar possíveis danos aos equipamentos e complicações aos pacientes.

Após a limpeza dos canais de PTFE com TBF-5 e BBF-5 na superfície, o glutaraldeído foi eficaz na destruição das bactérias dentro da matriz do biofilme residual na maioria das situações. Houve poucas situações em que bactéria viável foi detectada após a DAN. Entretanto, não está claro como isso foi possível ao se verificar que muitas das amostras correspondentes pré-DAN (amostras avaliadas após a limpeza e antes da DAN) não tinham bactérias viáveis. É importante reconhecer que o tempo de acúmulo de biofilme utilizado neste estudo foi de cinco dias. O biofilme acumulado nos endoscópios utilizados na prática clínica por meses ou anos pode dificultar ainda mais a penetração efetiva do glutaraldeído ou de outro desinfetante. Além disso, canais novos de PTFE foram utilizados neste estudo, os quais não apresentavam alterações de integridade na superfície, o que pode acontecer o mesmo durante o uso clínico. Pinças de biópsia e outros acessórios podem promover ranhuras na superfície dos canais e representar locais apropriados para o acúmulo de microrganismos e formação de biofilme, além de ser mais difícil de remoção ou destruição (Pajkos, Vickery, Cossart, 2004; Buss et al., 2008; Ofstead, et al. 2015).

De acordo com os métodos empregados neste estudo, não é possível comparar os resultados obtidos quanto ao impacto da limpeza dos canais com TBF-5 e BBF-5. Após cinco dias para a formação de biofilme, a quantidade de *E. faecalis* e *P. aeruginosa* foi um pouco

maior no TBF-5 do que no BBF-5, provavelmente, devido à exposição do BBF-5 ao desinfetante. Em experimentos prévios realizados no laboratório (dados não publicados), pôde-se verificar que o acúmulo de microrganismos para a formação do BBF-5 é mais lento do que para o desenvolvimento do TBF-5. Entretanto, em condições em que a quantidade de microrganismos é a mesma, o BBF-5 pode ser mais difícil de ser removido quando comparado ao TBF-5, devido ao acúmulo cíclico de microrganismos após diversos ciclos de utilização, limpeza e exposição aos desinfetantes e secagem, que podem fixar o BBF-5 na superfície dos canais de PTFE (Alfa, Howie, 2009; e Zhong et al., 2009).

O uso de testes rápidos com ATP tem sido recomendado como confiável para monitorar a eficácia da limpeza manual de endoscópios gastrointestinais (Fushimi et al., 2013; e Alfa, Fatima, Olson, 2013a,b). Os dados desta pesquisa demonstraram que esta tecnologia não é confiável para detectar a presença de BBF-5 ou TBF-5 dentro dos canais de PTFE pré-limpeza ou pós-limpeza. Isso, provavelmente, ocorreu devido à remoção do ATP de fontes orgânicas (soro e sangue) presentes no ATS2015 pela execução dos passos iniciais de enxágue, usados para remover o excesso do *test soil* e das bactérias planctônicas, restando somente o ATP das bactérias dentro da matriz do biofilme. Dessa forma, a contagem de bactérias viáveis extraídas das amostras de biofilme pode ter tido ATP bacteriano insuficiente para ser detectável. Alfa, Fatima, Olson (2013b) têm demonstrado que é requerido aproximadamente $2Log_{10}$UFC/ml de bactéria gram-negativa e $3Log_{10}$UFC/ml de bactéria gram-positiva para gerar 1 URL. Logo, para detectar $\geq$ 200 URLs, poderia requerer 4 a $6Log_{10}$UFC/ml, e esta quantidade foi escassamente encontrada após a extração das amostras.

As limitações deste estudo incluem o curto tempo para a formação do BBF e a inabilidade de desenvolver BBF com a possibilidade de recuperação de bactérias em níveis elevados.

Conclusão

7 CONCLUSÃO

O uso dos modelos de BBF-5 e TBF-5 desenvolvidos por cinco dias em canais de PTFE forneceu informações importantes quanto à necessidade de fricção (*pull thru*® ou escova com cerdas) para a efetiva limpeza dos canais endoscópicos gastrointestinais e à inabilidade do ATP para detectar TBF-5 e BBF-5, mesmo utilizando a *Endo Flushing* 250 *Pump* durante a limpeza. Ao realizar fricção, água potável de torneira, detergente com enzima neutro e detergente sem enzima alcalino foram eficazes para a remoção de BBF-5 e TBF-5. Na ausência de fricção, detergente enzimático apresentou maior habilidade para remover E. faecalis de TBF-5 e BBF-5, detergente alcalino para remover *P. aeruginosa*, e a água não foi eficaz para a remoção de ambos microrganismos. DAN com glutaraldeído apresentou atividade antibacteriana contra as bactérias remanescentes após a maioria das combinações de limpeza avaliada, demonstrando que falhas da DAN pelo glutaraldeído geralmente acontecem após cinco usos dos endoscópios gastrointestinais. Pesquisas posteriores são necessárias para otimizar o desenvolvimento de um modelo de BBF em PTFE que represente o pior cenário, com níveis adequados de bactérias sobreviventes, e que simule o mais próximo possível o BBF formado dentro de canais endoscópicos gastrointestinais processados de forma inapropriada.

Desta forma, diante dos modelos de biofilme desenvolvidos, e que simulam atualmente o que mais se aproxima da prática clínica, recomenda-se que: 1) a limpeza dos canais seja realizada o mais rápido possível para evitar ou diminuir o risco de desenvolvimento de biofilme nos canais endoscópicos gastrointestinais, pois como este estudo comprovou que a fricção é necessária para a remoção de biofilme e há canais endoscópicos gastrointestinais que contaminam após o exame e que não são passíveis de fricção, uma vez desenvolvido biofilme nestes canais, a remoção desta forma de vida microbiana será impossível de acontecer e o paciente estará exposto ao risco de adquirir microrganismos de forma iatrogênica e desenvolver infecção associada a este produto para saúde; 2) a utilização de detergente enzimático e alcalino é segura na remoção de biofilme quando associada à fricção com a escova com cerda ou pull thru®; 3) para validação de processos de limpeza de canais endoscópicos é necessário que o contaminante seja formado por biofilme misto e que este seja formado na presença de matéria orgânica.

Referências

REFERÊNCIAS

Alfa MJ, DeGagne P, Olson N. EVOTECH® endoscope cleaner and reprocessor (ECR) simulated-use and clinical-use evaluation of cleaning efficacy. BMC Infect Dis. 2010;10:200.

Alfa MJ, DeGagne P, Olson N. Validation of ATS as an appropriate test soil. Zentr. Steril. 2005 Oct;13:87-402.

Alfa MJ, DeGagne P, Olson N. Worst case soiling levels for patient-used flexible endoscopes before and after cleaning. Am J Infect Control. 1999;27:392-401.

Alfa MJ, Fatima I, Olson N. The adenosine triphosphate test is a rapid and reliable audit tool to asses manual cleaning adequacy of flexible endoscope channels. Am J Infect Control. 2013a Mar;41(3):249-53.

Alfa MJ, Fatima I, Olson N. Validation of adenosine triphosphate to audit manual cleaning of flexible endoscope channels. Am J Infect Control. 2013b Mar;41(3):245-8.

Alfa MJ, Howie R. Modeling microbial survival in buildup biofilm for complex medical devices. BMC Infect Dis. 2009 May;9(56):1-14.

Alfa MJ, Olson N, Degagne P. Automated washing with the reliance endoscope processing system and its equivalence to optimal manual cleaning. Am J Infect Control. 2006 Nov;34(9):561-70.

Alfa MJ, Olson N, DeGagne P, Jackson M. A survey of reprocessing methods, residual viable bioburden, and soil levels in patient-ready endoscopic retrograde choliangiopancreatographyduodenoscopes used in Canadian centres. Infect Control Hosp Epidemiol. 2002 Apr;23(4):198-206.

Allen JI, Allen MO, Olson MM, Gerding DN, Shanholtzer CJ, Meier PB et al. *Pseudomonas* infection of the biliary system resulting from use of a contaminated endoscope. Gastroenterology. 1987. Mar;92(3):759-63.

Alrabaa SF, Nguyen P, Sanderson R, Baluch A, Sandin RL, Kelker D et al. Early identification and control of carbapenemase-producing K. pneumoniae originating from contaminated endoscopic equipment. Am J Infect Control. 2013;41:562-4.

Alvarado CJ, Stolz SM, Maki DG. Nosocomial infections from contaminated endoscopes: a flawed automated endoscope washer. An investigation using molecular epidemiology. Am J Med. 1991. Sep 16;91(3B):272S-280S.

American National Standards Institute - ANSI/Association for the Advancement of Medical Instrumentation – AAMI. ST91:2015. Flexible and semi-rigid endoscope processing in health care facilities.

American Society for Gastrointestinal Endoscopy (ASGE); Society For Healthcare Epidemiology of America (SHEA). Multisociety guideline on reprocessing flexible gastrointestinal endoscopes. Gastrointest Endosc. 2011;73:1075-84.

American Society For Gastrointetinal Endoscopy; Society For Healthcare Epidemiology Of

America. Transmission of CRE bacteria through Endoscopic Retrograde Cholangiopancreatography (ERCP): Interim Guidance. 2015 Mar: p.1-4.

Association for the Advancement of Medical Instrumentation. Technical Information (AAMI) Report n. 34. Water for the reprocessing of medical devices. Virginia: Arlington; 2007.

Association of periOperative Registered Nurses (AORN), Putnam K. Guideline for processing flexible endoscopes. 2016Jan;103(1):10-12.

Aumeran C, Poincloux L, Souweine B, Robin F, Laurichesse H, Baud O et al. Multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae outbreak after endoscopic retrograde cholangiopancreatography. Endoscopy. 2010;42:957-9.

Aumeran C, Thibert E, Chapelle FA, Hennequin C, Lesens O, Traoré O. Assessment on Experimental Bacterial Biofilms and in clinical practice of the efficacy of sampling solutions for microbiological testing of endoscopes. Journal of Clinical Microbiology. 2012; 50(3):938-942.

Bajolet O, Ciocan D, Vallet C, De Champs C, Vernet-Garnier V, Guillard T. *et al*. Gastroscopy-associated transmission of extended-spectrum beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa. J Hosp Infect. 2013 Apr;83(4):341-3.

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. Disponível em: < http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/7/7139/tde-14052009-102812/pt-br.php>. Acesso em: 26 Jun. 2016.

Balsamo AC, Graziano KU, Schneider RP, Junior MA, Lacerda RA. Removing biofilm from a endoscopic: evaluation of disinfection methods currently used. Rev Esc Enferm USP. 2012;46:91-8.

Barbosa, JM. As interfaces do reprocessamento de endoscópios pelo uso de glutaraldeído em serviços de endoscopia de Goiânia. 2008. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2008. Disponível em: < http:// http://mestrado.fen.ufg.br/uploads/127/original_Jackeline_Maciel_Barbosa.pdf?1391016175 >. Acesso em: 26 Jun. 2016.

Barbosa JM, Souza ACS, Tipple AFV, Pimenta FC, Leão LSNO, Silva SRMC. Endoscope reprocessing using glutaraldehyde in endoscopy services of Goiânia, Brazil. Arq. Gastroenterol. 2010 July-Sept;47(3):219-224.

Bendinger B, Rijnaarts HHM, Altendorf K, Zehnder AJB. Physicochemi- cal cell surface and adhesive properties of coryneform bacteria related to the presence and chain length of mycolic acids. Appl Environ Microbiol. 1993;59:3973–77.

Beilenhoff U, Neumann CS, Rey JF, Biering H, BlumR, Cimbro M et al., European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE) Guidelines Committee. ESGE- ESGENA guideline: cleaning and disinfection in gastrointestinal endoscopy. Endoscopy. 2008;40:939-57.

Birnie GG, Quigley EM, Clements GB, Follet EA, Watkinson G. Endoscopic transmission of

hepatitis B virus. Gut. 1983. Feb;24(2):171-4.

Bisset, L; Cossart, Ye; Selby, W; West, R; Catterson, D; O'hara, K, *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. 2006; 34(5):274-280.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária/ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC n. 06 de 01 de março de 2013. Dispõe sobre os requisitos de Boas Práticas de Funcionamento para os serviços de endoscopia com via de acesso ao organismo por orifícios exclusivamente naturais. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 04 mar. 2013. Disponível em: < http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2013/rdc0006_10_03_2013.html>. Acesso em: 26 Jun. 2016.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional da Vigilância Sanitária/ANVISA. Resolução da diretoria colegiada - RDC n. 55 de 14 de novembro de 2012. Dispõe sobre os detergentes enzimáticos de uso restrito em estabelecimentos de assistência à saúde com indicação para limpeza de dispositivos médicos e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 21 nov. 2012. Disponível em: < http://portal.anvisa.gov.br/legislacao/?inheritRedirect=true#/visualizar/28915>. Acesso em: 26 Jun. 2016.

British Society of Gastroenterology (BSG). BSG guidance on for decontamination of equipment for gastrointestinal endoscopy. The report of a working party of the British Society of Gastroenterolgy Endoscopy Comitee. Jun 2014. Disponível em: <http://www.bsg.org.uk/images/stories/docs/clinical/guidelines/endoscopy/decontamination_2014.pdf >. Acesso em: 15 Jun. 2016.

Bronowicki JP, Vernard V, Botté C, Monhoven N, Gastin I, Choné L et al. Patient-to-patient transmission of hepatitis C virus during colonoscopy. N. Engl. J. Med. 1997 Jul;337(4):237-40.

Buss AJ, Been MH, Borges RP, Stokroos I, Merlchers WJ, Peters FT et al. Endoscope disinfection and its pitfalls-requirement for retrograde surveillance cultures. Endoscopy. 2008 Apr;40(4):327-32.

Carbonne A, Thiolet JM, Fournier S, Fortineau N, Kassis-Chikhani N, Boytchev I et al. Control of a multi-hospital outbreak of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* type 2 in France, September to October 2009. Euro Surveill. 2010. 15(48):pii=19734. Disponível em: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19734>. Acesso em: 26 Jun. 2016.

Centers for Disease Control and Prevention - CDC. Guideline for disinfection and sterilization in health-care facilities. Atlanta, 2008a. Disponível em: <http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/guidelines/disinfection_nov_2008.pdf>. Acesso em: 26 Jun. 2016.

Centers For Disease Control And Prevention - CDC. Acute hepatitis C virus infections attributed to unsafe infection practices at an endoscopy clinic – Nevada, 2007. Morb. Mortal. Wkly. Rep. 2008b;57(19):513-517.

Charlton TS. A comparison of the efficacy of lumen-cleaning devices for flexible gastrointestinal endoscopes. Australian Infection Control. 2007;12(3):78-83.

Chu NS, MCalister D, Antonoplos PA. Natural bioburden levels detected on flexible gastrointestinal after clinical use and manual cleaning. Gastrointest. Endosc. 1998 Aug;48(2):137-42.

Chu NS, Favero M. The microbial flora of the gastrointestinal tract and the cleaning of flexible endoscopes. Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am. 2000 Apr;10(2):233-44.

Classen DC, Jacobson JA, Burke JP, Jacobson JT, Evans RS. Serious *Pseudomonas* infections associated with endoscopic retrograde cholangiopancreatography. Am. J. Med. 1988 Mar;84(3 Pt 2):590-6.

Costa Junior AB. Endoscopia Digestiva de Urgência. Santos: Santos, 2009. 312 p.

Costerton JW. Overview of microbial biofilms. J Ind Microbiol. 1995;15(3):137-40.

Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. Science. 1999 May;284(5418):1318-22.

Cowen AE. The clinical risks of infection associated with endoscopy. Can. J. Gastroenterol. 2001 May;15(5):321-31.

Cowen AE. Infection and endoscopy: who infects whom? Scand. J. Gastroenterol. Suppl. 1992;192:91-6.

Cryan EM, Falkiner FR, Mulvihill TE, Keane CT, Keeling PW. *Pseudomonas aeruginosa* cross-infection following endoscopic retrograde cholangiopancreatography. J Hosp Infect. 1984 Dec;5(4):371-6.

Dietze B, Kircheis U, Schwarz I, Martiny. Freely Accessible Endoscope Channel Improve Effcacy of cleaning. Short Communication. Endoscpy. 2001; 33(6):523-528.

Donlan RM. Biofilms: microbial life on surfaces. Emerging Infectious Diseases. 2002; 8(9): 881-891.

Donlan RM. Biofilms and device-associated infections. Emerging Infectious Diseases. 2001a; 7(2): 277-281.

Donlan RM. Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. Healthcare epidemiology. 2001b; 33:1387-1392.

Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin. Microbiol. Rev. 2002 Apr;15(2):167-93.

Earnshaw JJ, Clark AW, Thom BT. Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* following endoscopic retrograde cholangiopancreatography. J Hosp Infect. 1985 Mar;6(1):95-7.

Emergency Care Research Institute (ECRI). Executive Brief: Top 10 Health Technology Hazards for 2016. 2015 Nov;1-16.

Epstein L, Hunter JC, Arwady MA, Tsai V, Stein L, Gribogiannis M et al. New Delhi Metallo-β-Lactamase–Producing Carbapenem-Resistant *Escherichia coli* Associated With Exposure to Duodenoscopes. JAMA. 2014;312(14):1447-1455.

Fang Y, Shen Z, Li L, Cao Y, Gu Li-Y, Gu Q et al. A study of the efficacy of bacterial biofilm cleanout for gastrointestinal endoscopes. World J Gastroenterol. 2010 February;16(8):1019-1024.

Flemming H-C, Wingender J, Griegbe, Mayer C. Physico-chemical properties of biofilms. In: Evans LV, editor. Biofilms: recent advances in their study and control. Amsterdam: Harwood Academic Publishers; 2000. p. 19–34.

Fletcher M, Loeb GI. Influence of substratum characteristics on the attachment of a marine pseudomonad to solid surfaces. Appl Environ Microbiol. 1979;37:67–72.

Food and Drug Administration. FDA issues endoscope warning following superbug outbreak. March. 2015a.

Fraser TG, Reiner S, Malczynski M, Yarnold PR, Warren J, Noskin GA. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* cholangitis after endoscopic retrograde cholangiopancreatography: failure of routine endoscope cultures to prevent an outbreak. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 2004 Oct;25(10):856-9.

Fushimi R, Takashina M, Yoshikawa H, Kobayashi H, Okubo T, Nakata S et al. Comparison of adenosine triphosphate, microbiological load, and residual protein as indicators for assessing the cleanliness of gastrointestinal endoscopes. Am J Infect Control. 2013 Feb; 41(2):161-4.

Graham DY, Alpert LC, Smith JL, Yoshimura HH. 1988. Iatrogenic *Campylobacter pylori* infection is a cause of epidemic achlorhydria. Am J Gastroenterol. 1988 Sep;83(9):974-80.

Graziano KU, Balsamo AC, Lopes CLBC, Zotelli MFM, Couto AT, Paschoal MLH. Critérios para avaliação das dificuldades na limpeza de artigos de uso único. Rev. Latino Am Enferm. 2006 jan./fev;14(1):70-76.

Greene WH, Moody M, Hartley R, Effman E, Aisner J, Young VM et al. Esophagoscopy as a source of *Pseudomonas aeruginosa* sepsis in patients with acute leukemia: the need for sterilization of endoscopes. Gastroenterology. 1974 Nov;67(5):912-9.

Grogan JB. *Pseudomonas aeruginosa* carriage in patients. J. Trauma. 1966 Sep;6(5):639-43.

Hall-Stoodley L, Stoodley P. Biofilm formation and dispersal and thetransmission of human pathogens. Trends in Microbiology. 2005 Jan;13(1):7-10.

International Standard Organization. ISO/TS 15883-5. 2005.Washer-disinfectors - Part 5: Test soils and methods for demonstrating cleaning efficacy.

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. 2005 Jun;37(6):548-551.

Ishino Y, Ido K, Koiwai H, Sugano K. Pitfalls in endoscope reprocessing: brushing of air and water channels is mandatory for high-level disinfection. Gastrointest Endosc. 2001 Feb;53(2):165-8.

Kaw M, Przepiorka D, Sekas G. Infectious complications of endoscopic procedures in bone marrow transplant recipients. Dig Dis Sci. 1993 Jan;38(1):71-4.

Kimmey MB, Burnett DA, Carlocke DL, Dimarino AJ, Jensen DM, Katon R. et al. Transmission of infection by gastrointestinal endoscopy. Gastrointest Endosc. 1993 Apr;39(6):885-8.

Korber DR, Lawrence JR, Sutton B, Caldwell. Effect of laminar flow velocity on the kinetics of surface recolonization by Mot(+) and Mot(-) *Pseudomonas fluorescens*. Microb Ecol 1989; 18:1–19.

Kovaleva J, Meessen NE, Peters FT, Been MH, Arends JP, Borgers RP et al. Is bacteriologic surveillance in endoscope reprocessing stringent enough? Endoscopy. 2009 Oct;41(10):913-6.

Kovaleva J, Peters FT, Van der Mei HC, Degener JE. Transmission of Infection by Flexible Gastrointestinal Endoscopy and Bronchoscopy. Clin Microbiol Rev. 2013 Apr;26(2):231-54.

Langenberg W, Rauws EA, Oudbier JH, Tytgat GN. Patient-to-patient transmission of *Campylobacter pylori* infection by fiberoptic gastroduodenoscopy and biopsy. J Infect Dis. 1990 Mar;161(3):507-11.

Lee JH, Rhee PL, Kim JH, Kim JJ, Paik WS, Rhee JC et al. Efficacy of electrolyzed acid water in reprocessing patient-used flexible upper endoscopes: Comparison with 2% alkaline glutaraldehyde. J Gastroenterol Hepatol. 2004 Aug;19(8):897-903.

Leffler DA, Kheraj R, Garud S, Neeman N, Nathanson LA, Kelly CP. The incidence and cost of unexpected hospital use after scheduled outpatient endoscopy. Arch Intern Med. 2010 Oct 25;170(19):1752-7.

Liu D, Lau YL, Chau KY, Pacepavicius G. Simple technique for estimation of biofilm accumulation. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 1994 Jan;53: 913-918.

Luciano CC, Olson N, Tipple AFV, Alfa M. Evaluation of the ability of different detergents and disinfectants to remove and kill organisms in traditional biofilm. Am. J Infect Control 2016. In press 2016.

Machado AP, Pimenta ATM, Contijo PP, Geocze S, Fischman O. Microbiologic profile of flexible endoscope disinfection in two Brazilian hospitals. Arq Gastroenterol. 2006 Oct-Dec;43(4):255-8.

Marion K, Freney J, James G, Bergeron E, Reanaud FNR, Costerton JW. Using an efficient biofilm detaching agent: an essential step for the improvement ofendoscope reprocessing protocols. J Hosp Infect. 2006; 64:136-142.

Miyaji H, Kohli Y, Azuma T, Ito S, Hirai M, Ito Y et al. Endoscopic cross-infection with *Helicobacter pylori.* Lancet. 1995 Feb;345(8947):464.

Moses FM, Lee J. Surveillance Cultures to Monitor Quality of Gastrointestinal Endoscope Reprocessing. Am J Gastroenterol. 2003 Jan;98(1):77-81.

Mills S. The dental unit waterline controversy: defusing the myths, defining the solutions. Journal American Dental Association (JADA) 2000; 131:1427-41.

Naas T, Cuzon G, Babics A, et al. Endoscopy- associated transmission of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* producing KPC-2 beta-lactamase. *J Anti- microb Chemother*. 2010;65(6):1305-1306.
Nelson DB, Muscarella LF. Current issues in endoscope reprocessing and infection control during gastrointestinal endoscopy. World J Gastroenterol. 2006 Jul 7;12(25):3953-64.

Neves MS, Silva MG, Ventura GM, Côrtes PB, Duarte RS, Souza HS. Effectiveness of current disinfection procedures against biofilm on contaminated GI endoscopes. Gastrointestinal Endoscopy. 2016;83(5):944-953.

Nickel JC, Ruseska I, Wright JB, Costerton JW. Tobramycin Resistance of Pseudomonas aeruginosa Cells Growing as a Biofilm on Urinary Catheter Material. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 1985 Apr;27(4):619-24.

Obee PC, Griffith CJ, Cooper RA, Coode RP, Bennion NE, Lewis M. Real-time monitoring in managing the contamination of flexible gastrointestinal endoscopes. Am J Infect Control. 2005 May;33(4):202-6.

Ofstead CL, Langlay AMD, Mueller NJ, Tosh PK, Wetzler HP. Re-evaluating endoscopy-associated infection risk estimates and their implications – Commentary. Am J Infect Control. 2013 Aug;41(8):734-6.

Ofstead CL, Wetzler HP, Doyle EM, Rocco CK, Visrodia KH, Baron TH et al. Persistent contamination on colonoscopes and gastroscopesdetected by biologic cultures and rapid indicators despite reprocessing performed in accordance with guidelines. Am J Infect Control. 2015; 43:794-801.

Ofstead CL, Wetzler HP, Snyder AK, Horton RA. Endoscope reprocessing methods: a prospective study on the impact of human factors and automation. Gastroenterol Nurs 2010;33:304-11.

Pajkos A, Vickery K, Cossart EY. Is biofilm accumulation on endoscope tubing a contributor to the failure of cleaning and contamination? J Hosp Infect. 2004; 58:224-9.

Patterson DJ, Johnson EH, Schmulen AC. Fulminant pseudomembranous colitis occurring after colonoscopy. Gastrointest Endosc. 1984 Aug;30(4):249-53.

Pineau L, Philippe E. Evaluation of endoscope cleanliness after reprocessing: a clinical-use study. Central Service. 2013;1:22-27.

Pringle JH, Fletcher M. Influence of substratum wettability on attachment of freshwater bacteria to solid surfaces. Appl Environ Microbiol. 1983;45:811–17.

Quiu L, Zhou Z, Liu Q, Ni Y, Zhao F, Cheng H. Investigating the failure of repeated standard cleaning and disinfection of a Pseudomonas aeruginosa-infected pancreatic and biliary endoscope. Am J Infect Control. 2015;e43-46.

Rejchrt S, Cermak P, Paviatova L, Mickova E, Bures J. Bacteriologic testing of endoscopes after high-level disinfection. Gastrointest Endosc. 2004 Jul;60(1):76-8.

Ren-Pei W, Hui-Jun X, Ke Q, Dong W, Xing N, Zhao-Shen L. Correlation between the growth of bacterial biofilm in flexible endoscopes and endoscope reprocessing methods. Am J Infect Control. 2014; 42: 1203-6.

Ren W, Sheng X, Huang X, Zhi F, Cai W. Evaluation of detergents and contact time on biofilm removal from flexible endoscopes. Am J Infect Control. 2013 Sep;41(9):e89-e92.

Ribeiro MM. Avaliação da efetividade do reprocessamento do endoscópio gastrointestinal flexível. 2011. 148 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) – Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011. Disponível em: < http://bases.bireme.br/cgibin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=689270&indexSearch=ID>. Acesso em: 26 Jun. 2016.

Ribeiro MM, Oliveira AC. Analysis of air/water channels of gastrointestinal endoscopies as a risk factor for the transmission of microorganisms among patients. Am J Infect Control. 2012 Dec;40(10):913-6.

Ribeiro MM, Oliveira AC, Ribeiro SMP, Watanabe E, Stoianoff MAR, Ferreira JAG. Effectiveness of flexible gastrointestinal endoscope reprocessing. Infect Control Hosp Epidemiol. 2013 Mar;34(3):309-12.

Rosenberg M, Bayer EA, Delarea J, Rosenberg E. Role of thin fimbriae in adherence and growth of *Acinetobacter calcoaceticus* RAG-1 on hexadecane. Appl Environ Microbiol. 1982; 44:929–37.

Santiago JI, Huntington MK, Johnston AM, Quinn RS, Williams JF. Microbial contamination of dental unit waterlines: short- and long-term effects of flushing. Gen Dent. 1994;48:528-44.

Sauer K, Rickard AH, Davies DG. Biofilms and Biocomplexity. Features. 2007; 2(7):347-53.

Schierholz JM, Beuth J. Implant infections: a haven for opportunistic bacteria. Journal of Hospital Infection. 2001 Oct;49(2):87-93.

Seoane-Vazquez E, Rodriguez-Monguio R, Visaria J, Carlson A. Endoscopy-related infections and toxic reactions: an international comparison. Endoscopy.2007Aug;39(8):742-6.

Siegel JD, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello, L, Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for Isolation Precautions: Preventing Transmission of Infectious Agents in Healthcare Settings. 2007. Disponível em: < http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/isolation/isolation2007.pdf >. Acesso em: 26 Jun. 2016.

Sociedade Brasileira De Endoscopia Digestiva. Endoscopia Digestiva. 3. ed. Cidade: Editora, 2000, p. 6-11.

Sociedade Brasileira De Enfermagem Em Endoscopia Gastrointestinal (SOBEEG). Manual de Limpeza e Desinfecção de Aparelhos Endoscópios. 2005. 25p.

Spach DH, Silverstein FE, Stamm WE. Transmission of infection by gastrointestinal endoscopy and bronchoscopy. Ann Intern Med. 1993 Jan 15;118(2):117-28

Spaulding EH, Emmons EK. Which solution to use and how to use it are influenced more by the types of bacteria to be destroyed than they are by the instrument or object to be disinfected. Am J Nurs. 1958 Sep; 58(9): 1238-1242.

Srinivasan A. Epidemiology and prevention of infections related to endoscopy. Curr Infect Dis Rep. 2003 Dec;5(6):467-472.

Stewart PS. Diffusion in Biofilms. Journal of Bacteriology. 2003 Mar; 185(5):1485-91.

Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. Lancet. 2001 Jul;358(9276):135–8.

Tytgat GN. Endoscopic transmission of *Helicobacter pylori.* Aliment Pharmacol Ther. 1995;9 Suppl 2:105-10.

Vergis AS, Thomson D, Pieroni P, Dhalla S. Reprocessing flexible gastrointestinal endoscopes after a period of disuse: is it necessary?. Endoscopy. 2007 Aug;39(8):737-9.

Vickery K, Ngo Quan-D, Zou J, Cossart YE. The effect of multiple cycles of contamination, detergent washing, and disinfection on the development of biofilm in endoscope tubing. Am J Infect Control. 2009 Aug;37(6):470-5.

Vickery K, Pajkos A, Cossart Y. Removal of biofilm from endoscopes: evaluation of detergent efficiency. Am J Infect Control. 2004 May;32(3):170-6.

Vlková H, Babák V, Seydlová R, Pavlík I, Schlegelová J. Biofilms and hygiene on dairy farms and in the dairy industry: sanitation chemical products and their effectiveness on biofilms – a review. 2008; Czech J Food Sci, 26:309–323.

Weber DJ; Rutala WA. Assessing the risk of disease transmission to patients when there is a failure to follow recommended disinfection and sterilization guidelines. Am J Infect Control. 2013 May;41(5 Suppl):S67-71.

Zhong W; Alfa MJ, Zelenitsky S; Howie R. Simulation of cyclic reprocessing buildup on reused medical devices. Computer in Biology and Medicine. 2009 Jun;39(6):568-77.

ANEXO

ANEXO

Kazuko Uchikawa Graziano
Professora Titular
Departamento de Enfermagem Médico-Cirúrgica
Escola de Enfermagem da USP

July 20, 2015

Dear Professora Graziano,

Re: Ph.D. student Maíra Marques Ribeiro at St. Boniface Research Centre

It has been a pleasure to have Maíra Ribeiro working in my research laboratory from March 18, 2015 to July 21, 2015. Her research project was entitled: ***Impact of friction versus flushing only on removal of buildup biofilm from flexible endoscope channels.***

The Objectives included:
1. Develop a standard process of forming buildup biofilm (BBF) within PTFE channels.
2. Assess the ability of flushing alone compared to friction during channel cleaning. This was achieved using the Ruhof pull thru and bristle channel cleaning devices to remove buildup biofilm (BBF) as well as traditional biofilm in the PTFE channel model.
3. Assess the impact of enzymatic and non-enzymatic detergents on channel cleaning efficacy.

Maira successfully completed extensive training in my research laboratory at St. Boniface Research Centre for the techniques she would need to complete her research program (the documentation of this training has been attached to this letter). In addition she undertook experimental research to obtain data to address her research project objectives.

Maira proved to be a very intelligent, and hard working graduate student. She was committed to her research and worked very long hours to ensure all experiments were completed. She wrote her experimental protocols, carried out the experimental testing and meticulously recorded her experimental results. She showed excellent analytical skills during discussion of her experimental data and always related her results to those in the published literature.

Maira successfully completed her research program and is in the process of preparing a manuscript to submit for publication. This was a very successful research collaboration. Please don't hesitate to contact me if you need additional information.

Yours sincerely,

Michelle J. Alfa Ph.D., FCCM
Principal Investigator, St. Boniface Research Laboratory
Professor, Dept of Medical Microbiology, University of Manitoba
Email: malfa@sbrc.ca Tel: 204 235-3498
409 Tache Ave, Winnipeg, Manitoba CANADA R2H 2A6