**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM**

ALDA GRACIELE CLAUDIO DOS SANTOS ALMEIDA

**VALIDAÇÃO DE UM PROCEDIMENTO OPERACIONAL
PADRÃO PARA PROCESSAMENTO DAS VIAS DE
IRRIGAÇÃO E ASPIRAÇÃO DO *KIT* DE
FACOEMULSIFICAÇÃO**

**SÃO PAULO
2014**

ALDA GRACIELE CLAUDIO DOS SANTOS ALMEIDA

**VALIDAÇÃO DE UM PROCEDIMENTO OPERACIONAL
PADRÃO PARA PROCESSAMENTO DAS VIAS DE
IRRIGAÇÃO E ASPIRAÇÃO DO *KIT* DE
FACOEMULSIFICAÇÃO**

Dissertação apresentada à Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Enfermagem na Saúde do Adulto.

Orientadora: Profa. Dra. Kazuko Uchikawa Graziano.

**São Paulo
2014**

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: ____/____/____

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

Almeida, Alda Graciele Claudio dos Santos

Validação de um procedimento operacional padrão para processamento das vias de irrigação e aspiração do *kit* de facoemulsificação / Alda Graciele Claudio dos Santos Almeida. São Paulo, 2014.

132 p.

Dissertação (Mestrado) - 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. Enfermagem 2. Biofilmes 3. Endotoxinas 4. Esterilização
5. Facoemulsificação I. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Alda Graciele Claudio dos Santos Almeida

Título: Validação de um procedimento operacional padrão para processamento das vias de irrigação e aspiração do *kit* de facoemulsificação.

Dissertação 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 Mestre em Ciências.

Aprovado em: ____/____/____.

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

*A meus amados pais
Juares Cláudio dos Santos (em memória) e Maria do Socorro de Almeida,
pelo imenso amor, valiosos ensinamentos e por terem priorizado a educação em
nossas vidas. A meu querido pai dedico, em especial, por ter ensinado a lutar até
o fim por um sonho, assim como ele lutou pela vida. A minha mãe, minha
devoção, não existem palavras para descrever a grandeza de seu coração, sua
garra, humildade e companheirismo. É o meu alicerce e o pilar central de
minha existência!*

*A meus irmãos
Alexandro, Allan e Alciele, pelo apoio, companheirismo, união e cumplicidade.
Por travarem comigo a luta pela realização de meus sonhos, por estarem sempre
presentes, independente da distância física entre nós. Vocês são meus pilares,
meus grandes amores!*

*A meu sobrinho
Filipe, por trazer uma imensa alegria ao seio de nossa família.*

AGRADECIMENTOS

Ao Grandioso Deus, por guiar os meus passos, pela proteção, força espiritual e amor.

À minha querida orientadora Profa. Dra. Kazuko Uchikawa Graziano, pelo acolhimento caloroso, apoio e pelos ensinamentos científicos, uma pessoa admirável não apenas pela sabedoria, mas também pela humildade e determinação.

Aos colegas do grupo de pesquisa, Rafael Queiroz de Souza, Tamara Carolina Camargo, Camila Quartim de Moraes Bruna, Flávia Moraes Gomes Pinto, Maira Marques Ribeiro e Verena Ashley Neumann pela colaboração, acolhimento e valiosas discussões.

A meus grandes amigos que foram peças fundamentais para tornarem minha vida em São Paulo mais prazerosa, ajudando a superar a saudade de casa. Em especial, Jasmin Marinho, Marielle de Moraes, Débora Duarte, Tatiane Tavares, Mariana Franklin, Aline de Grandi, Leidy Johanna Rueda Díaz, Daniel Machado, Karina Suzuki, Karla Albuquerque e Franciele Nascimento, muitíssimo obrigada pelo acolhimento, afeto, por tornarem os meus dias mais leves e bem mais alegres. Adoro vocês!

A Leandro Jorge, pelas valiosas discussões, amizade e força.

A Reginaldo Adalberto de Luz, pela colaboração e apoio.

À Prof. Dra. Ruth Natalia Teresa Turrini, pelo incentivo para fazer o mestrado na FEUSP. Foi pela indicação da Profa. Ruth que ainda na minha graduação comecei a pesquisar no Centro de Material e Esterilização.

A Cely Barreto da Silva e Suzethe Matiko Sasagawa, microbiologistas do Laboratório da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa, pela colaboração, atenção e delicadeza.

À Dra. Terezinha de Jesus Andreoli Pinto, por disponibilizar o Laboratório CONFAR – da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Em especial, Elisabete de Almeida Barbosa Antunes e Diane Cândido da Silva, pela recepção e colaborações.

A Cássio Lima, pelas análises de espectroscopia de infravermelho.

À empresa 3M, em nome do Supervisor André Cabral, pela doação dos dispositivos de ATP-bioluminescência e Ana Cláudia O. Limoeiro, pela assessoria técnica.

À empresa H. Strattner em nome de Carlo Magno, pela disponibilização da lavadora ultrassônica.

A empresa Lonza, em nome da Farmacêutica Ana Polay, pela assessoria técnica, disponibilidade e prontidão para este experimento, no referente às análises de endotoxinas.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para realização deste sonho.

"A força que me impulsiona é mais forte do que as dificuldades que se atravessam no meu caminho"
Miguel Lucas

Almeida AGCS. Validação de um procedimento operacional padrão para processamento das vias de irrigação e aspiração do *kit* de facoemulsificação [Dissertação]. São Paulo: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2014.

RESUMO

Introdução: Processar seguramente os dispositivos cirúrgicos reutilizáveis é um cuidado indireto de Enfermagem do Centro de Material e Esterilização. Muitos desses dispositivos apresentam conformação complexa que dificulta a limpeza, deixando dúvidas quanto ao alcance da esterilidade, ausência de biofilmes e endotoxinas. Entre os produtos utilizados em cirurgia para extração de catarata por facoemulsificação, as vias de irrigação e aspiração são materiais com alto risco de ocasionar endoftalmite ou síndrome tóxica do segmento anterior ocular no próximo usuário. Feitas de silicone, possuem lúmen de diâmetro com 1 a 2,5 mm e comprimento de 1,85 a 2,00 m, configurando-se em material de difícil processamento. Seus fabricantes não apresentam protocolos validados para seu processamento, o que constitui um grave problema de segurança ao paciente. **Objetivo:** Validar um Procedimento Operacional Padrão (POP) para processamento das vias de irrigação e aspiração do *kit* de facoemulsificação. **Método:** Esta pesquisa caracterizou-se, como um estudo laboratorial, utilizando contaminação-desafio. O POP foi elaborado com base no referencial teórico científico atual e na legislação pertinente. Como corpos de prova foram usados tubos de silicone, reproduzindo as dimensões do lúmen e do comprimento das vias de irrigação e aspiração. A análise foi feita por meio da espectroscopia de infravermelho que validou a equivalência da matéria-prima dos corpos de prova ao dispositivo original. Como contaminação-desafio, foi utilizada uma suspensão de *Pseudomonas aeruginosa* - ATCC 27853 10^6 UFC/mL acrescida de 20% de albumina humana em meio de cultura enriquecido de *Tryptic Soy Broth* (TSB) com solução salina balanceada. Para a contaminação dos corpos de prova, foram injetados 3 mL do contaminante desafio no lúmen dos corpos de prova de 1 mm e 7mL nos de 2 mm de diâmetro, e deixados de 1 a 17 horas. Em seguida, estes foram submetidos ao POP proposto. Como desfecho intermediário, foi avaliada a eficácia da limpeza (n=30) com teste de bioluminescência (*Clean-Trace ATP water test*, 3M®). A eficácia da esterilização (n=30) foi avaliada por meio da inoculação direta dos corpos de prova em TSB, e a detecção das endotoxinas (n=30), utilizando *kit* cinético-turbidimétrico. Os experimentos foram acompanhados por grupos controles positivo (n=3) e negativo (n=3). **Resultados:** a média de ATP obtida após a aplicação do POP de limpeza, expressa em RLUs, foi de 5,25 RLUs para os corpos de prova de 1 mm de diâmetro e 4,40 RLUs para os de 2 mm. A redução da quantidade média de ATP em RLUs foi de 98,5% a 99,98% respectivamente, para os tempos de contato com o

contaminante desafio de 1 e 17h. Quanto à quantidade da endotoxina, esta variou de <0,01 UE/mL a 0,0192 UE/mL. Não houve recuperação do micro-organismo teste em nenhuma das amostras do grupo pesquisado. Os resultados dos controles positivo e negativo foram satisfatórios. **Conclusão:** Os resultados demonstraram que o POP proposto assegura o processamento das vias de irrigação e aspiração do *kit* de facoemulsificação. Esta conclusão não deve ser extrapolada para os reusos consecutivos autorizados pelos fabricantes, sem a realização de novos testes até o número máximo de reusos permitidos, justificado pelo fato da superfície dos lumens poderem ser alteradas a cada processamento.

Palavras-chave: limpeza, biofilme, endotoxina, esterilização, facoemulsificação, enfermagem.

Almeida AGCS. Validation of a standard operating procedure for reprocessing of the tubings of phacoemulsification kit. [Dissertation]. São Paulo: School of Nursing of the University of São Paulo; 2014.

ABSTRACT

Introduction: Reprocessing safely reusable surgical devices is an indirect nursing care in the Material and Sterilization Center. Many of these devices have complex geometry forms which difficult the cleaning process, leaving doubts about the scope of sterility and absence of biofilms and endotoxin. Among the products used in surgery for cataract extraction by phacoemulsification, the tubings of phacoemulsification machine are the materials with a high risk of causing endophthalmitis or toxic anterior segment syndrome in the next patient. Made of silicon, have a lumen diameter of 1 to 2.5 mm and a length of 1.85 to 2.00 m, and configuring itself in difficult materials to reprocessing. The manufacturers of these materials don't present validated protocols for reprocessing, which is a serious problem to the safety of the patient. **Objective:** To validate a standard operating procedure for reprocessing of the tubings of phacoemulsification machine. **Method:** This research was characterize as a laboratory study using test soil. The standard protocol was based on current scientific theoretical reference and relevant legislation. Silicone tubes reproducing lumen dimensions and the length of the original tubings of phacoemulsification machine were used as specimens. The analysis by infrared spectroscopy validated the equivalence of the primal material of the specimens to the original device. It was a test soil with *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) 10^6 UFC/mL plus 20% human albumin in culture medium supplemented Tryptic Soy Broth (TSB) with balanced salt solution. To contamination of the samples were injected 3 to 7 mL of the test soil in the lumen and left for 1 and 17 hours. Then, these were submitted to the proposed standard protocol. As an intermediate outcome, the cleaning efficiency (n=30) was evaluated with bioluminescence test (*Clean-Trace ATP water test*, 3M®). The sterilization efficacy (n=30) was evaluated by direct inoculation specimens of silicone tubes in TSB, and the detection of endotoxin (n=30) using kinetic turbidimetric assay. The experiments were accompanied by positive control group (n=3) and negative (n=3). **Results:** The average ATP obtained after application of standard protocol cleaning, expressed in RLUs, was 5.25 RLUs for the specimens of silicone tubes of 1 mm in diameter and 4.40 RLUs to them 2 mm in diameter. The decrease in the average measure of ATP in RLUs was 98.5% to 99.98%, respectively for the periods of contact with the contaminant of 1h and 17h. As amount of endotoxin that ranged of <0.01 EU/mL to 0.0192 EU/mL. There wasn't recovery of the test microorganism in the samples of the group studied. The results of positive and negative controls were satisfactory. **Conclusion:** The results demonstrate that proposed standard

protocol ensures the reprocessing of tubings of phacoemulsification machine. This conclusion should not be extrapolated to consecutive reuses authorized by the manufacturers without retest until the maximum number of allowed reuses justified by the fact that surface of the lumens can be changed at each reprocessing.

KEY WORDS: Cleaning, biofilm, endotoxin, sterilization, phacoemulsification, nursing.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Anatomia e penetração da luz no olho humano.	27
Figura 2 –	Ilustração da parede celular das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.	38
Figura 3 –	Vias de facoemulsificação conectadas à caneta de facoemulsificação, ao frasco de BSS e ao facoemulsificador. São Paulo, 2013.	58
Figura 4 –	Vias de irrigação e aspiração do <i>Kit</i> de facoemulsificação e os corpos de prova. São Paulo, 2013.	59
Figura 5 –	Realização de espectroscopia de infravermelho. São Paulo, 2013.	61
Figura 6 –	Validação da quantidade de água necessária para o enxágue por meio do teste <i>Clean-Trace ATP water test</i> . São Paulo, 2013.	63
Figura 7 –	Validação do método para análise da endotoxina nos corpos de prova em estudo. São Paulo, 2013.	66
Figura 8 –	Demonstração das técnicas 1 e 2 analisadas na validação microbiológica.	67
Figura 9 –	Preparo da contaminação desafio. São Paulo, 2013.	73
Figura 10–	Execução do POP: pré-umectação, lavagem do lúmen com pistola de água sob pressão e automatizada em lavadora ultrassônica e enxágue final. São Paulo, 2013.	75
Figura 11–	Execução da contaminação-desafio nos corpos de prova. São Paulo, 2013.	76
Figura 12–	Imagens da execução do grupo de estudo 2. São Paulo, 2013.	79

Figura 13–	Imagens da execução do grupo de estudo 3 – teste de esterilidade. São Paulo, 2013.	81
Figura 14–	Gráfico dos espectros das amostras das vias de irrigação e aspiração originais e dos corpos de prova, analisadas por espectroscopia de infravermelho. São Paulo, 2013.	84
Figura 15–	Curva-padrão da análise da endotoxina pelo método cinético-turbidimétrico. São Paulo, 2013.	86
Figura 16–	Curva-padrão da análise da endotoxina nos corpos de prova do grupo de estudo 2. São Paulo, 2013.	91

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Resultados da validação do enxágue pela análise de ATP-bioluminescência expresso em RLUs. São Paulo, 2013.	85
Tabela 2 –	Recuperação de endotoxinas nos corpos de prova pelo método cinético turbidimétrico. São Paulo, 2013.	87
Tabela 3 –	Análises químicas e bacteriológicas da água utilizada nos experimentos. São Paulo, 2013.	88

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –	Condições dos corpos de prova avaliados pelo método cinético-turbidimétrico e número amostral. São Paulo, 2013.	64
Quadro 2 –	Distribuição do número amostral por grupos de estudo e tipos de análises. São Paulo, 2013.	71
Quadro 3 –	Disposição das unidades amostrais dos corpos de prova por análise da endotoxina. São Paulo, 2013.	78
Quadro 4 –	Resultados das amostras analisadas por meio do teste <i>Clean-Trace water total ATP test</i> para avaliação da contaminação residual, após 1 hora de contato com a contaminação-desafio e após o procedimento de limpeza. São Paulo, 2013.	89
Quadro 5 –	Resultados das amostras dos grupos controles positivo e negativo analisadas por meio do Teste <i>Clean-Trace™ Water Total ATP</i> . São Paulo, 2013.	89
Quadro 6 –	Resultados das amostras analisadas por meio do Teste <i>Clean-Trace water total ATP test</i> para avaliação da contaminação residual após 17 horas de contato com a contaminação desafio e após o procedimento de limpeza. São Paulo, 2013.	90
Quadro 7 –	Resultado da recuperação das endotoxinas nos grupos de estudo e na água apirogênica utilizada como diluente. São Paulo, 2013.	92

LISTA DE SIGLAS

AAMI	<i>Association for the Advancement of Medical Instrumentation.</i>
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ASCRS	<i>American Society of Cataract and Refractive Surgery</i>
ASORN	<i>American Society Ophthalmic Registered Nurses</i>
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
ATP	Adenosina Trifosfato
BSS	<i>Balanced Saline Solution</i> (Solução Salina Balanceada)
CONFAR	Laboratório de Controle de Medicamentos, Cosméticos, Domissanitários e Produtos Afins e as Respectivas Matérias Primas
DP	Desvio-Padrão
EEUSP	Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
LAL	Lisado do Amebócito <i>Limulus</i>
LEM	Laboratório de Ensaios Microbiológicos
LOCS III	<i>Lens Opacities Classification Systems III</i>
LPS	Camada Lipopolissacarídica
OMS	Organização Mundial de Saúde
POP	Procedimento Operacional Padrão
PPC	<i>Positive Product Control</i> (Controle Positivo do Produto)

RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RLU	<i>Relative Light Unit</i> (Unidade Relativa de Luz)
SMS	<i>Spunbonded + Meltblow + Supndbonded</i>
TASS	Toxic Anterior Segment Syndrome
TSA	<i>Tryptic Soy Agar</i>
TSB	<i>Tryptic Soy Broth</i>
UFC	Unidades Formadoras de Colônias

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
2	REFERENCIAL TEÓRICO	26
2.1	O OLHO HUMANO: cristalino	26
2.2	CATARATA	28
2.2.1	Conceitos, fatores de risco, epidemiologia e classificação	28
2.2.2	Extração de catarata por facoemulsificação	30
2.3	COMPLICAÇÕES PÓS-CIRURGIA DE EXTRAÇÃO DE CATARATA	31
2.3.1	Síndrome tóxica do segmento anterior	31
2.3.2	Endoftalmite	35
2.4	ENDOTOXINA, BIOFILME E ATP: RELAÇÃO COM OS TESTES UTILIZADOS NESTE ESTUDO	37
2.4.1	Endotoxina	38
2.4.2	Biofilmes	39
2.4.3	Produção de ATP pelos micro-organismos e o monitoramento da limpeza	45
2.5	PROCESSAMENTO DE PRODUTOS PARA A SAÚDE	49
2.5.1	Limpeza	49
2.5.2	Esterilização	52
3	OBJETIVO	55
4	MATERIAL E MÉTODO	57
4.1	TIPO DE ESTUDO	57
4.2	LOCAL DO ESTUDO	57
4.3	MATERIAL	58
4.4	MÉTODO	59
4.4.1	Validações metodológicas	60
4.4.1.1	Análise do corpo de prova por espectroscopia de infravermelho	60
4.4.1.2	Número de <i>flushes</i> necessários para o enxágue completo do produto	61
4.4.1.3	Recuperação de endotoxinas nos corpos de prova.....	63
4.4.1.4	Validação do método de análise microbiológica	66
4.4.2	Preparo do material para o experimento	68
4.4.3	Grupos do Estudo	70
4.4.4	Contaminação-desafio	72
4.4.5	Execução do procedimento operacional padrão.....	73
4.4.6	Detalhamento metodológico dos grupos do estudo	75

4.4.6.1	Grupo de estudo 1 – avaliação da limpeza	75
4.4.6.2	Grupo de estudo 2 – avaliação de endotoxina.....	77
4.4.6.3	Grupo de estudo 3 – avaliação da esterilidade.....	80
4.4.7	Tratamento e análise estatística dos dados	82
5	RESULTADOS	84
5.1	VALIDAÇÕES	84
5.1.1	Análise do corpo de prova por espectroscopia de infravermelho	84
5.1.2	Número de <i>flushes</i> necessários para o enxágue completo do produto	85
5.1.3	Recuperação de endotoxinas nos corpos de prova.....	85
5.1.4	Validação do método de análise microbiológica	87
5.2	Monitoramento da qualidade da água utilizada no experimento	88
5.3	RESULTADOS DOS GRUPOS DE ESTUDO E SEUS CONTROLES	88
5.3.1	Grupo de estudo 1 – avaliação da limpeza	88
5.3.2	Grupo de estudo 2 – avaliação de endotoxina.....	90
5.3.3	Grupo de estudo 3 – avaliação da esterilidade.....	92
6	DISCUSSÃO	94
7	CONCLUSÃO	101
	REFERÊNCIAS	104
	APÊNDICES	113
	ANEXOS	117

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A segurança de que o produto para a saúde, de característica reutilizável, esteja adequadamente descontaminado para o uso em um novo paciente, é um fator essencial na prestação do cuidado. Um produto crítico seguramente descontaminado deve se equiparar a um novo, ou seja, funcionalmente sem riscos potenciais, sem resíduos inorgânicos e orgânicos (incluindo biofilmes e endotoxinas) e esterilizado.

A matéria orgânica que se deposita em produtos para a saúde pode proteger micro-organismos (AAMI, 2011) e contribuir para a formação de biofilme. Este é um agrupamento de células microbianas, envolvido em uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares, fortemente aderido a um substrato (DONLAN, 2001; 2002).

Além da problemática dos biofilmes em produtos para saúde, há também as endotoxinas, resultantes da liberação do lipídio A na ruptura da parede celular de bactérias Gram-negativas. Nem todos os métodos disponíveis para a esterilização são capazes de inativar a toxicidade do lipídio A; deste modo, um material mesmo esterilizado pode causar reações pirogênicas (PADOVEZE, GRAZIANO, 2011).

Cuidados no processamento devem ser tomados para reduzir a quantidade de micro-organismos nos produtos para a saúde. Entretanto, muitos produtos usados em diferentes tipos de cirurgias apresentam conformação que dificulta o processo de limpeza. Para Graziano e colaboradores (2011), são considerados produtos complexos aqueles que apresentam lumens longos e estreitos, múltiplos canais internos e canulados com fundo cego, superfícies rugosas, entre outros. Entre os produtos utilizados em cirurgia de extração de catarata por facoemulsificação, as vias de irrigação e aspiração do *kit* de facoemulsificação (vias de irrigação, aspiração e cassete), constituídas de silicone, possuindo diâmetro do lúmen

estreito, de 1 mm a 2,5 mm, e cerca de 2,0 m de comprimento são produtos complexos.

O fato do produto ser constituído de silicone, envolve um fator adicional de risco. Para Donlan (2001 b), substratos mais hidrofóbicos e ásperos, como o silicone, desenvolvem biofilmes mais rapidamente, visto que, no processo de adesão microbiana e formação inicial do biofilme, as características do substrato podem ter um efeito significativo sobre a taxa e extensão da adesão dos micro-organismos. Entretanto, qualquer substrato exposto a um ambiente fluido adquire uma película ou revestimento de condicionamento composto basicamente por produtos proteicos presentes no líquido, que irá conferir propriedades químicas sobre a superfície do substrato favorecendo a adesão microbiana.

As vias de aspiração do *kit* de facoemulsificação por entrarem em contato direto com as secreções orgânicas oriundas do procedimento cirúrgico dos pacientes, como proteína do cristalino, caso não recebam processamento adequado poderão acumular matéria orgânica e micro-organismos, favorecendo o desenvolvimento de biofilmes ou o aumento da quantidade de endotoxinas. Estudo de Garcia (2009) constatou, experimentalmente, que há também contaminação da via de irrigação mesmo com o fluxo unidirecional do líquido de irrigação de Solução Salina Balanceada (BSS).

Um dos grandes problemas resultantes da presença de endotoxinas em produtos utilizados em cirurgias oftalmológicas, sobretudo as de extração de catarata, é a Síndrome tóxica do segmento anterior (TASS – *Toxic Anterior Segment Syndrome*). A TASS é uma reação inflamatória pós-operatória que resulta em danos aos tecidos intraoculares (MAMALIS *et al.*, 2006).

Além disso, as vias de facoemulsificação foram descritas em alguns estudos, como as responsáveis por infecção cirúrgica, resultando em endoftalmite (JANKNECHT, SCHNEIDER, 2002; KENCHAPPA *et al.*, 2005; PATHENGAY *et al.*, 2012). A endoftalmite

pode ocasionar cegueira total, ou ainda, levar à indicação da remoção do olho afetado, por enucleação ou evisceração, quando não há resposta ao tratamento por antibioticoterapia (SANDFORD-SMITH, 2004).

Os surtos da endoftalmite ou de TASS, após a cirurgia de catarata, são motivos de grande preocupação para os profissionais de saúde. Atualmente, a catarata é responsável por 51% da cegueira mundial, o que representa cerca de 20 milhões de pessoas afetadas (PASCOLINI; MARIOTTI, 2012). Com o aumento da expectativa de vida, a previsão é o crescimento consecutivo do surgimento de casos de catarata no mundo (OMS, 2012). Essa expectativa aumenta ainda mais a preocupação com o processamento dos produtos utilizados nessa cirurgia, por possuírem conformações que dificultam o processo de limpeza, levantando o questionamento quanto à segurança do processamento das vias de irrigação e aspiração de facoemulsificação contaminada com biofilmes ou endotoxinas.

Entre os questionamentos iniciais expostos em um relatório da *Association for the Advancement of Medical Instrumentation* (AAMI, 2011), é levantado quão limpo um produto para a saúde reutilizável deve-se apresentar, e como saber que o produto processado atingiu a mesma segurança de um novo, antes do uso clínico.

Neste relatório, a AAMI e a *Food and Drug Administration* (FDA) recomendam que a eficácia do processamento deve ser validada pelo fabricante do produto e verificada pelo serviço de saúde. Esta validação necessita ser sensível e completa, ou seja, capaz de medir um nível específico e produzir correlações com a recuperação da sujidade. Os procedimentos gerais para validação devem incluir contaminação-desafio ao produto, simulando as condições do pior cenário, a exemplo da contaminação de lumens e do ressecamento da sujidade, proceder a limpeza do produto para a saúde, de acordo com as recomendações e averiguar a eficácia do

processo por meio de testes quantitativos, bem como incluir grupos controles.

Um dos fabricantes do produto para a saúde do presente estudo recomenda a limpeza com *flushes* de água quente (30° a 40°C) sem uso de detergente, sem apresentar uma validação que legitime a recomendação, o que, *a priori*, contraria as regras básicas da limpeza que deve agregar quatro elementos essenciais, quais sejam, tensoativo, ação mecânica, temperatura e tempo (WIRTANEN, SALO, 2003; VLKOVÁ, 2008). A própria AAMI (2011) reconhece as limitações, ou mesmo, a omissão de muitos fabricantes de produtos para a saúde quanto à validação e elaboração das instruções de processamento do produto com base nos conhecimentos teóricos científicos.

Tendo em vista esta limitação, o presente estudo dispôs-se a elaborar e validar um Procedimento Operacional Padrão (POP) para as vias de irrigação e aspiração de facoemulsificação, substituindo a recomendação do fabricante.

A RDC 15 da ANVISA (2012) indica a elaboração de um POP para cada etapa do processamento de produtos para a saúde, em especial, os utilizados em procedimentos cirúrgicos, para garantir a segurança do novo uso. O POP consiste no passo a passo escrito e fundamentado na literatura científica, legislações pertinentes, nacionais e internacionais, sociedades especializadas e empresas fabricantes. Deve incluir instruções para a realização da operação da limpeza, atendendo ao artigo 24 da RDC 15 da ANVISA de 2012.

Essa investigação tem como relevância direcionar práticas seguras na descontaminação de produtos para a saúde passíveis de processamento.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O OLHO HUMANO: cristalino

A capacidade de visualização de uma imagem é possível pela existência de um órgão complexo, o olho. A luz que penetra no olho é convertida em sinais eletroquímicos, que serão emitidos e interpretados pelo cérebro (MOSES *et al.*, 2006).

O olho é recoberto externamente pela esclera e em sua região central está localizada uma membrana transparente com várias camadas, denominada córnea, por onde a luz penetra e é formado o foco preliminar. Após a córnea, encontra-se a câmara anterior do olho contendo o humor aquoso, um líquido claro, por onde a luz atravessa antes de chegar à pupila. Esta é uma abertura circular envolta pela íris, uma estrutura pigmentada contrátil que possui a função de regular a quantidade de luz que penetra no olho. Ao passar pela pupila, a luz é focalizada no cristalino passando em seguida para o humor vítreo para chegar até a retina, de onde serão emitidos impulsos nervosos ao cérebro, por meio das células fotossensíveis (MOSES *et al.*; 2006). A Figura 1 apresenta a anatomia e a penetração da luz no olho humano.

O cristalino é responsável por um terço do poder refracional do olho, sendo uma lente biconvexa da câmara posterior, de estrutura transparente e flexível, localizada atrás da pupila que depende do humor aquoso e vítreo para sua nutrição por ser um tecido avascular (MEDEIROS; GONÇALVES, 2008; DANTAS, 2011). Constitui-se, essencialmente, por água e proteínas, sendo na maior parte α , β e γ -cristalinas, assim como albuminoides, enzimas e proteínas de membrana, cuja exigência fundamental é manter o cristalino transparente. A energia para os processos metabólicos no cristalino é proveniente da glicose, sendo esta metabolizada sobretudo pela glicólise para produção de ATP (SMITH, 2011).

Figura 1: Anatomia e penetração da luz no olho humano. São Paulo, 2013.

Fonte: http://www.picstopin.com/249/olho-humano-como-funciona/http:%7C%7Cwww*jetdicas*com%7Cimg%7Cfotos%7Colho%20humano%208*jpg/

O cristalino é dividido em três partes: cápsula, epitélio lenticular e substância própria. A cápsula recobre o cristalino, e é uma membrana elástica que permite sua deformação, bem como seu estiramento em até 62% antes de uma ruptura, o que permite a manipulação segura na remoção cirúrgica da catarata e implantação da lente. Abaixo da cápsula anterior está localizado o epitélio lenticular, sua área central não apresenta potencial germinativo, contrário das áreas periféricas, sobretudo em direção ao equador, onde estão as células mais ativas do cristalino com elevada concentração de enzimas e onde as fibras deste são produzidas. A substância própria é constituída de células e, em especial, por fibras, que são formadas com base nas células epiteliais que perdem seu núcleo e, portanto, são incapazes de se reproduzir. As fibras do cristalino são produzidas durante toda a vida de um indivíduo (MEDEIROS; GONÇALVES, 2008).

No processo de envelhecimento, é normal o aumento do volume e do tamanho do cristalino, assim como a mudança da

coloração para amarelada e próxima do marrom, e as fibras vão se tornando mais duras e compactas (ARIETA, 2011). Ao longo dos anos, sua espessura aumenta progressivamente, de modo que dos 10 aos 90 anos de idade 54,86% de sua espessura aumentam (MEDEIROS, GONÇALVES, 2008; DANTAS, 2011). Além disso, a absorção e a dispersão de luz na estrutura cristalina é mais intensa em pessoas idosas se comparadas a um cristalino jovem e estão intensamente aumentadas nas cataratas senis (MEDEIROS, GONÇALVES, 2008).

2.2 CATARATA

2.2.1 Conceito, fatores de risco, epidemiologia e classificação

A catarata é caracterizada pela opacidade ou turvação da lente do olho, o cristalino, impedindo a passagem de luz (OMS, 2012). A maioria dos casos de catarata está relacionada ao envelhecimento e apresenta característica fisiopatológica multifatorial (ROCHA; SCHOR, 2007).

Entre estas características, estão as alterações no arranjo arquitetônico das proteínas cristalinas e de outras proteínas (SMITH, 2011). Assim como, acredita-se que ocorra um desequilíbrio entre proteínas solúveis e insolúveis, com aumento da concentração desta última, estando presente em 90% das proteínas das cataratas brancas, o que diminui o índice de refração. Há também uma diminuição da concentração de glutathione e potássio, e ocorre um aumento das concentrações de sódio, cálcio e da hidratação, resultando na separação das fibras do cristalino e perda progressiva da transparência (ROCHA; SCHOR, 2007).

No processo de envelhecimento, estas alterações sofridas pelo cristalino, bem como o aumento de sua espessura e dureza, as modificações químicas das proteínas cristalinas com alterações na pigmentação e formação concêntrica de novas camadas de fibras

corticais resultam em esclerose ou envelhecimento nuclear, provocando prejuízo visual (ROCHA, SCHOR, 2007).

Embora a catarata senil seja a mais comum, ocasionalmente, crianças podem nascer com a doença ou esta pode se desenvolver, após uma lesão ocular, inflamação ou em razão de outra patologia oftalmológica (OMS, 2012).

Os fatores de risco para a catarata incluem tabagismo, radiação ultravioleta, doenças metabólicas, como o Diabetes Mellitus e hipertireoidismo; medicamentos (esteroides); doenças oculares: uveíte, alto grau de miopia; cirurgia intraocular prévia; trauma; infecção durante a gravidez por toxoplasmose ou rubéola e fatores nutricionais (CENTURION *et al.*, 2003; ARIETA, 2011).

A catarata é responsável por 51% da cegueira mundial, representando cerca de 20 milhões de pessoas afetadas. O número estimado de pessoas com deficiência visual no mundo corresponde a 285 milhões; destes, 39 milhões são cegos e 246 milhões apresentam baixa acuidade visual (PASCOLINI, MARIOTTI, 2012).

Com o aumento da expectativa de vida, a previsão é o aumento consecutivo do surgimento de casos de catarata no mundo (OMS, 2012). Atualmente, esta patologia é a principal causa de cegueira na China, com cerca de 4,5 milhões de pessoas cegas decorrente dessa condição e com o surgimento de 400.000 casos novos de catarata a cada ano (LIU *et al.*, 2012). A visão pode ser restaurada por meio da remoção cirúrgica da lente natural afetada, substituindo-a por uma artificial (OMS, 2012).

A extração de catarata é um dos procedimentos cirúrgicos mais realizados nos serviços de saúde da Inglaterra; mais de 300.000 operações de catarata foram feitas no período de 2010-2011. Recursos e esforços significativos vêm sendo investidos em taxas cirúrgicas globalmente crescentes, pelo avanço das técnicas cirúrgicas e em resposta às exigências para manutenção de uma boa visão em idade mais avançada (DESAI, 2012). No Brasil, há alguns anos vêm se realizando investimentos para correção cirúrgica

da catarata, dentre eles, os mutirões cuja meta é chegar a 700 mil cirurgias de catarata por ano realizadas pelo Sistema Único de Saúde - SUS (BRASIL, 2012).

As cataratas são classificadas, de acordo com o local e o grau de opacidade. Há várias classificações, entretanto, o método clássico é o Sistema de Classificação de Opacidades do Cristalino III (*Lens Opacities Classification Systems III – LOCS III*), que tem como base a biomicroscopia pela lâmpada de fenda. O LOCS III faz uso de seis padrões de cor para opacidade nuclear e cinco graus de opacidade cortical e subcapsular (FREITAS, 2004; VALBON *et al.*, 2013). Esta classificação permite avaliar a severidade das cataratas e fornece dados para orientação da estratégia cirúrgica (FREITAS, 2004).

2.2.2 Extração de Catarata por Facoemulsificação

As principais técnicas de facectomia são: a extracapsular e a facoemulsificação. Esta última apresenta grandes vantagens pela incisão pequena, o que permite manter a câmara anterior praticamente fechada e, assim, preservar a integridade das estruturas oculares e a redução do risco de hemorragia expulsiva, bem como dispensa a necessidade de sutura.

O tratamento de catarata por facoemulsificação é a técnica mais utilizada atualmente na maioria dos países, por proporcionar reabilitação visual precoce, índices de complicações pós-operatórias reduzidos, menor tempo de permanência do paciente na sala de cirurgia e, conseqüentemente, menor custo (KARA-JOSÉ JÚNIOR *et al.*, 2004; HARIPRIYA *et al.*, 2012).

Existem várias técnicas para extração de catarata por facoemulsificação. Em geral, é realizada mediante a utilização de energia ultrassônica, em que o cristalino opacificado é fracionado em micropartículas a serem aspiradas do interior do olho, para, em seguida, uma lente intraocular artificial ser implantada, substituindo o cristalino removido (FREITAS, 2002; MARBACK, 2005).

A facoemulsificação tem como base três mecanismos: a irrigação de solução balanceada, o ultrassom e a aspiração. A emulsificação do núcleo é resultante da ação da energia do ultrassom, e a remoção do cristalino emulsificado é realizada pelo sistema de irrigação e aspiração (GARCIA, 2009).

2.3 COMPLICAÇÕES PÓS-CIRURGIA DE EXTRAÇÃO DE CATARATA

2.3.1 Síndrome tóxica do segmento anterior

A TASS, do inglês *Toxic Anterior Segment Syndrome*, é uma reação inflamatória estéril ou não infecciosa em resposta a alguma substância tóxica, que pode ocorrer após a cirurgia do segmento anterior, mais comumente nas cirurgias de extração de catarata. Geralmente, os primeiros sinais e sintomas aparecem dentro de 12 a 48 horas. Entre os danos que podem ser causados no olho, o mais comum é o edema de córnea difuso, secundário aos danos provocados pela agressão tóxica da camada de células endoteliais, assim como a ruptura da barreira hemato-aquosa da câmara anterior, com formação de fibrina ou de hipópio e danos à íris, resultando em pupila dilatada ou irregular (MAMALIS, 2008; PECK *et al.*, 2010; BODNAR *et al.*, 2012).

O tratamento é feito com agentes esteroides e, na maioria dos casos, a inflamação cessa em um período de semanas a meses. Entretanto, em casos graves podem resultar em sequelas permanentes, como glaucoma, edema de córnea persistente, íris permanentemente dilatada ou irregular e outros danos decorrentes da inflamação (PECK *et al.*, 2010; BODNAR *et al.*, 2012).

A TASS pode ser causada por vários tipos de substâncias, tais como endotoxinas, viscoelástico desnaturado de dispositivos oftalmológicos, agentes conservantes e estabilizantes, metais pesados, resíduos do processo de limpeza e esterilização dos instrumentais, medicamentos intraoculares em doses tóxicas,

soluções de irrigação com pH inadequado, entre outros (BODNAR *et al.*, 2012).

Um estudo com o objetivo de identificar os fatores de riscos mais comuns associados com a TASS realizou uma análise retrospectiva dos questionários disponíveis no site da *American Society of Cataract and Refractive Surgery* (ASCRS) dos casos notificados de TASS, pelos centros cirúrgicos oftalmológicos dos Estados Unidos da América, Argentina, Brasil, Itália, México, Espanha e Romenia. Dados de visitas coletados pelos membros da *TASS Task Force* aos casos de TASS ocorridos em centros oftalmológicos dos Estados Unidos da América também foram analisados. Com base na análise dos questionários foram identificados 909 casos de TASS das 50.114 cirurgias de catarata, e dos 54 centros visitados, 367 casos de TASS foram identificados das 143.919 cirurgias realizadas. Os fatores de riscos para TASS foram: limpeza inadequada dos instrumentais de irrigação e aspiração, emprego de produtos para limpeza, como o detergente enzimático em concentrações erradas, lavagem ultrassônica, uso de antibióticos na solução salina balanceada e conservantes presentes nas medicações, uso de luva com pó, reutilização de produtos de uso único e falta de manutenção das autoclaves (PECK *et al.*, 2010).

No estudo de Peck e colaboradores (2010) falhas no processamento da caneta de facoemulsificação e das vias de irrigação e aspiração e o uso de detergente enzimático foram identificados em vários centros oftalmológicos. Os autores abordaram a reutilização dessas vias de irrigação e aspiração, como um problema potencial pela dificuldade de limpar e esterilizar esses canulados. Assim como o emprego de detergente enzimático por deixar resíduos, quando a quantidade de água para o enxágue não for adequada, sobretudo, resíduos como as enzimas amilases que apenas são inativadas com temperatura acima de 140°C. A lavagem ultrassônica também foi desencorajada, por acreditar que endotoxinas presentes na água do banho ultrassônico acumulam no

dispositivo, pelo menos que estejam nas recomendações do fabricante, devendo ser rigorosamente seguidas. Nas visitas realizadas, foram identificadas também manutenção inadequada das autoclaves; entre os achados, foram observados ferrugem, partículas e fiapos dentro da autoclave, o que se consideram contaminantes suspeitos para causar TASS, e a limpeza do gerador de vapor não estava sendo feita com a periodicidade prevista.

Uma revisão atualizada desse banco de dados analisou 1.454 casos de TASS de 66.000 cirurgias notificados por meio dos questionários e 71 visitas foram realizadas por membros da *TASS Task Force* aos Centros Oftalmológicos dos Estados Unidos da América que apresentaram surtos de TASS. As análises mostraram que falhas no processo de limpeza dos instrumentais, em especial, da caneta de facoemulsificação, uso de detergente enzimático e lavagem ultrassônica continuam sendo os fatores de riscos mais comuns associados à TASS. Melhorias foram identificadas no uso de água apropriada (destilada ou esterilizada) para o enxágue final, bem como um volume adequado de água para limpeza da caneta de facoemulsificação e separação dos instrumentais oftalmológicos para o processamento; não houve redução significativa do uso de vias de irrigação e aspiração de facoemulsificação reutilizáveis. Foi observada uma diminuição na frequência dos casos de TASS (BODNAR *et al.*, 2012).

Leder e colaboradores (2012) investigaram se a exposição a detergentes enzimáticos utilizados na limpeza de instrumentais cirúrgicos oftalmológicos pode induzir a TASS, por meio de um estudo randomizado, controlado em modelo animal (coelhos), realizado no centro de pesquisas da FDA. Diferentes concentrações dos detergentes foram injetados nos olhos dos coelhos dos grupos experimentais e avaliadas as respostas para inflamação do segmento anterior no início e em 1, 3, 6, 24, 48 e 72 horas. Os resultados demonstraram que o detergente enzimático causou uma resposta severa nas concentrações mais elevadas testadas,

entretanto, incomum com as respostas inflamatórias em seres humanos com a TASS.

Além disso, no estudo de Leder e colaboradores (2012) a simulação do processamento dos instrumentais cirúrgicos oftalmológicos com lúmen, considerando as piores condições de limpeza, demonstrou que o detergente residual que poderia entrar no olho de um paciente é significativamente menor que a dose mais baixa utilizada no estudo. Não houve diferença estatística entre os achados no grupo em que foi testada a concentração mais baixa e o controle negativo. Desse modo, o estudo refuta a hipótese de que resíduos de detergente enzimático em instrumentais cirúrgicos oftalmológicos seja uma das causas para o desenvolvimento de TASS.

Na literatura, vários surtos de TASS são relatados, entre eles, em um centro cirúrgico de 21 cirurgias de catarata, oito evoluíram com complicações para TASS. A investigação inicial sugeriu contaminação dos equipamentos cirúrgicos por falhas no processamento e mudança do pessoal. Entretanto, outras investigações identificaram a presença de impurezas, como sulfatos, cobre, zinco, níquel e sílica no vapor da autoclave, atribuído à manutenção inadequada do sistema de vapor de esterilização da mesma. Quando estes fatores foram eliminados, não houve mais casos de TASS (HELLINGER *et al.*, 2006).

Outro relato de surto foi identificado em sete centros cirúrgicos de oftalmologia nos Estados Unidos da América com 112 casos de TASS, e a causa foi atribuída à contaminação da solução salina balanceada (BSS) com endotoxinas, com níveis superiores ao limite de 0,5 EU/ mL (KUTTY *et al.*, 2008).

Uma análise retrospectiva de 15 casos de TASS, após a cirurgia de catarata senil por facoemulsificação, investigou as possíveis causas com base na averiguação do BSS, medicamentos, lentes intraoculares, instrumentais cirúrgicos e as técnicas de esterilização desses. Os autores suspeitaram de uma relação dos

casos com o processo de esterilização a gás óxido de etileno, pois, quando este foi substituído por autoclavação, não houve mais nenhum caso (CHOI; SHYN, 2008).

2.3.2 Endoftalmite

O desenvolvimento da endoftalmite, após cirurgia de catarata, é caracterizada por uma inflamação intraocular grave, causada pela introdução de micro-organismos no olho. A incidência da infecção aguda da endoftalmite varia de 0,03% a 0,15%. A endoftalmite, frequentemente, resulta em perda visual grave, apesar da tentativa de tratamento com antibiótico (PATHENGAY *et al.*, 2012). Outras implicações negativas incluem tempo prolongado de hospitalização, e necessidade potencial de uma nova cirurgia (McCOY *et al.*, 2012).

Após cirurgia de catarata, surtos da endoftalmite são motivos de grande preocupação aos profissionais de saúde. As bactérias podem aderir à lente intraocular implantada, e a subsequente formação de biofilme sobre sua superfície pode conduzir a uma infecção crônica, difícil de tratar (McCOY *et al.*, 2012). Fontes potenciais de contaminação incluem instrumentos cirúrgicos intraoculares, fluidos de irrigação contaminados e o ambiente cirúrgico (PATHENGAY *et al.*, 2012). Algumas más práticas no controle de infecção relacionada à quebra da técnica asséptica pela equipe cirúrgica são acrescentadas a esses fatores, durante os procedimentos operatórios e o uso do *kit* de facoemulsificação (vias de irrigação e aspiração e cassete) de um paciente a outro sem algum processamento (GARCIA, 2009).

Em um estudo foi relatado um surto de endoftalmite por *Empedobacter brevis*, após cirurgia de catarata, isolados de 12 pacientes submetidos à cirurgia no mesmo dia e com o mesmo cirurgião. Falhas no processo de esterilização das vias de irrigação e aspiração de facoemulsificação foram relacionadas como uma possível fonte de infecção, visto que esse produto foi esterilizado em

uma mesma solução química a todos os pacientes agendados para um dia de operação. Desse modo, falhas na esterilização poderiam ter levado a problemas em todos os pacientes (JANKNECHT; SCHNEIDER, 2002).

Kenchappa e colaboradores (2005) realizaram uma investigação em dois surtos da endoftalmite, após cirurgia de catarata para detecção da fonte de infecção. Depois da amostragem completa de micro-organismos do ambiente da sala cirúrgica e dos equipamentos, *P. aeruginosa* foi isolada da caneta de facoemulsificação no surto do primeiro hospital avaliado e da região interna das linhas de irrigação e aspiração de facoemulsificação, no segundo hospital investigado. Nestas investigações, falhas no processo de esterilização do produto de facoemulsificação foram evidenciadas, como responsáveis pelos surtos.

Em uma revisão sistemática foram analisados 27 estudos que relataram, entre 1985 e 2011, surtos de endoftalmite após cirurgia de catarata, com um total de 264 pacientes vitimados. As duas causas mais comuns associadas aos surtos foram soluções contaminadas e contaminação das vias de irrigação e aspiração de facoemulsificação, correspondendo, respectivamente, a 37% e 22,2% do total de casos. Entre as outras fontes de contaminação evidenciadas, falhas na esterilização de instrumentais representaram 11,1%. Dentre os micro-organismos identificados, 85,2% dos surtos foram causados por bactérias, sendo a *P. aeruginosa* o agente etiológico mais isolado nos surtos (PATHENGAY *et al.*, 2012).

A virulência do micro-organismo envolvido nos casos de endoftalmite está relacionada com o prognóstico final da acuidade visual; micro-organismos como *Bacillus* spp. e *Pseudomonas* spp. apresentam uma forte tendência para um mal prognóstico visual (BHAGAT *et al.*, 2011).

Um estudo retrospectivo de caso-controle foi realizado para identificar os fatores de risco para endoftalmite pós-operatória causada por *P. aeruginosa*. Os pacientes (casos) com endoftalmite

por este micro-organismo apresentaram mal prognóstico, com acuidade visual de percepção de luz ou pior, e dois casos evoluíram para evisceração. Os fatores de risco identificados foram maior tempo de duração da facoemulsificação e provável contaminação ambiental de uma determinada sala cirúrgica (LUZ *et al.*, 2013).

2.4 ENDOTOXINA, BIOFILME E ATP: RELAÇÃO COM OS TESTES UTILIZADOS NESTE ESTUDO.

As bactérias são consideradas seres procariotos porque suas células exibem uma estrutura interna mais simples, desprovida de organelas envoltas por membranas. Deste modo, as reações de conservação de energia, na maioria desses seres, são realizadas na membrana citoplasmática por não possuírem mitocôndrias, como as células eucarióticas (MADIGAN *et al.* 2010).

Morfologicamente, as bactérias podem ser classificadas como cocos, bacilos, espirilos, espiroquetas, apendiculares e filamentosas. Com base nas características morfotintoriais, pela reação de coloração de Gram, são distinguidas em dois grupos principais, Gram-positivos e Gram-negativos. Esta diferenciação deve-se às características específicas da parede celular (MADIGAN *et al.*, 2010).

Em bactérias Gram-positivas, a parede celular constitui-se de multicamadas de peptideoglicana e contém ácidos teicoicos que regulam a movimentação de cátions para o interior e exterior da célula, assim como dificultam a ruptura da parede celular. A parede celular das bactérias Gram-negativas apresenta uma ou poucas camadas de peptideoglicana e uma membrana externa. As lipoproteínas estão ligadas à peptideoglicana na membrana externa e no periplasma – um fluído com alta concentração de enzimas de degradação e proteínas de transporte, semelhante a um gel que, está localizado entre a membrana externa e a membrana plasmática. Como a parede celular das Gram-negativas não possui

ácidos teicoicos são mais vulneráveis ao rompimento mecânico (TORTORA *et al.*, 2012). A Figura 2 apresenta uma ilustração da parede celular das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Figura 2: Ilustração da parede celular das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Fonte: microbiologiaonlineblog.blogspot.com.br

2.4.1 Endotoxinas

A membrana externa das bactérias Gram-negativas forma uma segunda bicamada lipídica, não apenas com fosfolípidos e proteínas como na membrana citoplasmática, mas contém também polissacarídeos. Essa ligação entre lipídeos e polissacarídeos forma um complexo na camada externa, que se denomina como camada lipopolissacarídica ou LPS. O LPS consiste em três subunidades: polissacarídeo cerne, polissacarídeo O e lipídeo A, este último é formado por diferentes ácidos graxos (MADIGAN *et al.*, 2010).

O lipídeo A é o que confere as propriedades tóxicas associadas à camada LPS também denominado endotoxinas. Estas são liberadas em grande quantidade, quando a bactéria sofre lise

celular, são extremamente termoeestáveis e pirogênicas (MADIGAN *et al.*, 2010).

Testes de análises das endotoxinas, com alta sensibilidade, foram desenvolvidos com base nos lisados de amebócitos do caranguejo-ferradura, *Limulus polyphemus*. Extratos de amebócitos de *Limulus* são adicionados à amostra a ser analisada, no ensaio padrão do lisado de amebócitos de *Limulus* (LAL); se houver endotoxina, esta causará lise dos amebócitos formando uma gelificação ou turbidez. O teste vem sendo utilizado amplamente para detecção das endotoxinas em amostras clínicas, água e soluções injetáveis (MADIGAN *et al.*, 2010), assim como, na liberação de produtos para a saúde (SILVA, PINTO, 2005; SILVA *et al.*, 2006).

2.4.2 Biofilmes

Estruturas de superfície externas à parede celular

Diferentes estruturas podem ser encontradas externamente à parede celular dos procariotos, como o glicocálice, flagelos, filamentos axiais, fímbrias e *pili* (TORTORA *et al.*, 2012).

O glicocálice é comumente descrito, como uma cápsula por estar firmemente aderido à parede celular. É constituído de polissacarídeos, polipeptídeos ou ambos, formando um polímero viscoso e gelatinoso. Protege as bactérias patogênicas de serem fagocitadas pelo hospedeiro e em algumas espécies contribuem para a virulência bacteriana, a exemplo, o *Streptococcus pneumoniae* que só é capaz de produzir pneumonia em sua forma encapsulada, do contrário, é rapidamente fagocitado, além disso, contribui na adesão inicial do biofilme a um substrato (TORTORA *et al.*, 2012).

Os flagelos são longos apêndices filamentosos que têm por função propiciar mobilidade às bactérias. Estes realizam rotação no

sentido horário ou anti-horário e necessitam da produção contínua de energia pela célula. A grande vantagem desta mobilidade é permitir que a bactéria desloque-se em direção a um ambiente favorável ou distancie-se de um adverso. Similarmente aos flagelos, os filamentos axiais também atuam na mobilidade microbiana, entretanto são constituídos por feixes de fibrilas que formam um espiral em torno da célula, estão presentes no grupo das bactérias espiroquetas (TORTORA *et al.*, 2012).

Os *pili* e as fímbrias são estruturas filamentosas constituídas de proteínas e possuem diversas funções. Os *pili* apresentam comprimento maior que as fímbrias e entre as suas funções agem no processo de conjugação, facilitando a troca genética entre as células procarióticas, bem como na mobilidade bacteriana. Um tipo incomum de motilidade realizada por uma classe de *pili* denominada *pili* tipo IV é a motilidade pulsante. Esta permite que a célula seja arrastada ao longo de uma superfície sólida, sendo característica de alguns gêneros bacterianos, como a *Pseudomonas* e *Moraxella* (MADIGAN *et al.*, 2010; TORTORA *et al.*, 2012).

Por outro lado, as fímbrias conferem a capacidade de adesão microbiana a uma superfície ou entre si, estando envolvidas no processo de formação de biofilmes (MADIGAN *et al.*, 2010; TORTORA *et al.*, 2012).

De modo geral, todas estas estruturas de superfície celular auxiliam no desenvolvimento de biofilmes, seja por meio da mobilidade microbiana, direcionando o micro-organismo a uma superfície ou no processo de adesão.

Estrutura e formação

Os dados indicam que a habilidade para formar biofilme é uma característica integral e antiga dos procariontes. No contexto da evolução e adaptação, é provável que biofilmes promovam homeostasia em condições hostis da terra primitiva (temperaturas extremas, pH e exposição à luz ultravioleta), facilitando o

desenvolvimento da complexa interação entre células individuais e proporcionando um ambiente suficiente para o desenvolvimento de sinalização celular e motilidade quimiotática (HALL-STOODLEY *et al.*, 2004).

As características da superfície celular dos micro-organismos são importantes na fase inicial de adesão e formação dos biofilmes. A presença de flagelos, pili, fímbrias ou glicocálice pode facilitar a adesão microbiana inicial ao substrato, visto que, na aproximação do micro-organismo à superfície do substrato, este deve ultrapassar as forças repulsivas comuns a todos os produtos e permanecer ligado ao filme condicionante, até o estabelecimento de uma adesão permanente (DONLAN, 2001b).

Uma sequência de eventos encontra-se relacionada à formação do biofilme, tais como: aderência inicial a um substrato, multiplicação microbiana, produção de matriz de substâncias poliméricas extracelulares e desprendimento das células sésseis, ocasionando a formação de novos biofilmes em outros locais ou causando infecção no hospedeiro (SAUER *et al.*, 2007).

A matriz é o elemento-chave no desenvolvimento dessa complexa comunidade microbiana e a principal responsável pela adesão a um substrato e na manutenção das células unidas, é composta de polissacarídeos, proteínas e ácido nucleico (SAUER *et al.*, 2007). Substratos não celulares, tais como cristais minerais, partículas corrosivas, argila, sedimentos ou componentes sanguíneos, dependendo do ambiente onde o biofilme tenha se desenvolvido, podem também ser encontrados em sua matriz (DONLAN, 2002).

A estrutura do biofilme demonstra um nível de diferenciação que requer um sofisticado sistema de sinalização e especialização celular. Sua arquitetura facilita a troca de nutrientes, permitindo o desenvolvimento de uma considerável espessura e complexidade, o que mantém as células individuais em situação ideal de nutrição em diversos locais do biofilme (STOODLEY *et al.*, 2002).

A forma estrutural do biofilme pode variar de monocamadas irregulares, para finas ou grossas biomassas planas, organizadas em forma de cogumelos, ondulações ou estruturas filamentosas (PUREVDORJ-GAGE, STOODLEY, 2004).

As células dentro do biofilme são vistas em estrutura semelhante a favo de mel, tridimensional e flexível. Estas redes estruturadas proporcionam estabilidade mecânica, ajudando os biofilmes a sobreviverem, quando são submetidos às forças de cisalhamento. A forma de favo de mel pode permitir a deformação em resposta à tensão aplicada ao longo de qualquer um de seus seis eixos de simetria e retornar à sua forma original, quando a tensão for removida. Essa estrutura hexagonal pode reduzir o gasto de energia das células confrontadas com nutrientes limitados, bem como aumentar a área disponível para absorção de nutrientes (SCHAUDINN *et al.*, 2007).

Os biofilmes podem formar-se em uma ampla variedade de superfícies, incluindo tecidos (esmalte dos dentes, válvulas cardíacas, pulmão e ouvido), produtos para saúde e sistema de água potável (DONLAN, 2002).

No processo de adesão microbiana e formação inicial do biofilme, as características do substrato podem ter um efeito significativo sobre a taxa e extensão da adesão por micro-organismos. Substratos mais hidrofóbicos e ásperos irão desenvolver biofilmes mais rapidamente. Existe uma série de produtos hidrofóbicos, tais como: o látex, diversos produtos plásticos e silicone, bem como há uma grande variedade de produtos hidrofílicos, a exemplo dos vidros e vários metais. Entretanto, qualquer substrato exposto a um ambiente fluido, como a corrente sanguínea ou trato urinário, adquire uma película ou revestimento de condicionamento composto basicamente por produtos proteicos presentes no líquido, irá conferir propriedades químicas sobre a superfície do substrato, podendo mascarar suas características originais (DONLAN, 2001b).

Os biofilmes e os produtos para a saúde

Os biofilmes têm grande importância para a saúde pública. Atualmente, mais de 60% das infecções bacterianas desenvolvidas no mundo estão envolvidas com a formação de biofilme. Nesses casos, tratamentos bem-sucedidos dependem de longo tempo, alta dose de antibioticoterapia e, em muitos casos, da remoção do dispositivo invasivo contaminado (FUX *et al.*, 2005).

A contaminação microbiana de um produto para a saúde pode levar à formação de biofilmes, a depender de algumas variáveis, como: adesão irreversível do micro-organismo à superfície do dispositivo; número e tipos de células no líquido no qual o dispositivo é exposto; da taxa de fluxo de líquido por meio do produto e das características físico-químicas da superfície. Os componentes do líquido em que o produto é exposto, podem alterar as propriedades da superfície e também afetar a taxa de adesão (DOLAN, 2001).

Os principais dispositivos e implantes relacionados com infecções associadas à formação de biofilmes são: cateter venoso central, cateter urinário, válvulas cardíacas, dispositivos de assistência ventricular, próteses articulares, implantes mamários, dispositivos para fixação de ossos fraturados e lentes intraoculares (COSTERTON *et al.*, 2005).

Bactérias dentro de biofilmes diferem geneticamente das planctônicas, o que influencia em múltiplas características, que podem ser observadas até depois dessas bactérias serem removidas do biofilme, como aumento da habilidade de disseminação, aderência, resistência microbiana a antibióticos e aceleração da formação de novos biofilmes. A presença dessas diversas funções aumenta a habilidade desta comunidade séssil adaptar-se ao estresse ambiental (SAUER *et al.*, 2007).

Normalmente, as infecções causadas por biofilmes não conseguem ser tratadas por antibióticos, o que as tornam,

tipicamente, recorrentes (COSTERTON *et al.*, 1999). Bactérias envolvidas em biofilme podem ser até 1.500 vezes mais resistentes a antibióticos, desinfetantes e quimioterápicos, quando comparadas a mesma espécie de bactéria planctônica (SAUER *et al.*, 2007).

Alguns mecanismos de resistência são comuns a desinfetantes e antibióticos (EUROPEAN COMMISSIONS, 2009). O estudo de Walsh e colaboradores (2003) sobre o desenvolvimento de resistência bacteriana a vários desinfetantes e os efeitos na sensibilidade aos antibióticos identificou sob condições laboratoriais que a exposição das bactérias a vários agentes desinfetantes diminui a sensibilidade destes, bem como dos antibióticos.

Vickery e colaboradores (2012) identificaram a presença de biofilmes contendo micro-organismos multirresistentes viáveis após limpeza terminal (realizada com detergente neutro e seguida de desinfecção com cloro 500 ppm) em leitos e superfícies de equipamentos de pacientes e áreas comuns em Unidade de Terapia Intensiva (UTI). Os autores sugeriram que as práticas de limpeza correntes são insuficientes para controlar o desenvolvimento de biofilmes, e a presença de micro-organismos multirresistentes nestes. O fato pode ser o mecanismo pelo qual esses micro-organismos persistem no ambiente hospitalar.

Os biofilmes podem ser identificados em um produto por meio de microscopias eletrônica de varredura, confocal e epifluorescência (DOLAN, 2002). A proposta inicial deste estudo era adotar um desses métodos para identificar os possíveis biofilmes nas vias de irrigação e aspiração processadas, a fim de validar o protocolo de processamento elaborado. Entretanto, em conversa com especialista em identificação de biofilmes (Dr. René Peter Schneider), a autoclavação desses produtos desnaturaria a estrutura do biofilme (matriz de exopolissacarídeos e micro-organismos), inviabilizando a identificação deste. Considerando que a presença de endotoxinas e micro-organismos viáveis são riscos a serem contornados no processamento dos materiais em apreço, optou-se por análise

desses elementos, como melhor caminho para avaliar o protocolo proposto.

2.4.3 Produção de ATP pelos Micro-organismos e o monitoramento da limpeza

As células e os organismos vivos necessitam de energia para permanecerem vivos e reproduzirem. A principal fonte de energia para vários processos celulares é obtida na forma de Trifosfato de Adenosina (ATP), pela clivagem da ligação fosfoanidrido para produzir difosfato de adenosina (ADP) e íon fosfato inorgânico (HPO_4^{2-}), ou em monofosfato de adenosina (AMP).

Esta reação libera energia, e é caracterizada como exergônica, e as reações em que há absorção de energia, são denominadas de endergônicas (NELSON, COX, 2011). A energia liberada pela ligação fosfato de alta energia, geralmente, é usada nas reações biossintéticas e em atividades da função celular (MADIGAN *et al.*, 2004). Considerando o metabolismo microbiano há uma produção constante de energia para o desenvolvimento ou manutenção da célula, como o transporte ativo de substrato e de íons (SENGÖR *et al.*, 2013).

As atividades desenvolvidas na célula dependem basicamente de moléculas, como proteínas e ácidos nucleicos, que são macromoléculas constituídas de subunidades que necessitam de energia química (ATP) para manter-se unidas por ligações covalentes e ordenadas, como os aminoácidos em uma sequência. Todas as macromoléculas biológicas podem ser consideradas cineticamente estáveis e, portanto, para que haja uma reação química é necessária a presença de biocatalisadores (enzimas), para liberação de energia (NELSON, COX, 2011).

As reações que possuem enzimas como catalisadores são inúmeras e são organizadas de modo que o produto de uma reação é utilizado como o reagente da próxima (NELSON, COX, 2011). Desta forma, há um equilíbrio dinâmico entre a taxa de reações

catabólicas (liberam energia) e anabólicas (absorvem energia) e, portanto, são constantes as concentrações intracelulares de ATP, ADP e fosfato inorgânico (SENGÖR *et al.*, 2013).

Os mecanismos utilizados pelos micro-organismos para conservação de energia podem ocorrer pela fermentação e/ou respiração, e este processo ocorre no interior da célula ao longo da membrana plasmática nas bactérias, visto que não possui mitocôndrias. Estes mecanismos de conservação de energia são resultantes de reações de oxidação-redução, produzindo compostos de alta energia (ATP). As reações ocorrem por transferência de elétrons de um doador para um aceptor e necessitam de carreadores, a exemplo das coenzimas nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD⁺) e NAD-fosfato (NADP⁺) (MADIGAN *et al.*, 2004).

Os micro-organismos também fabricam polímeros insolúveis para o armazenamento de energia, como a glicose, o polímero lipídico poli- β -hidroxibutirato e o enxofre elementar e são depositados no interior da célula na forma de grandes grânulos. Quando as substâncias que produzem energia não estão disponíveis no ambiente, a célula promove reação de oxidação para a produção de ATP, mantendo assim as funções celulares ativas (MADIGAN *et al.*, 2004). Diferentes tipos de carboidratos, lipídeos, ácidos nucleicos, proteínas e suas subunidades são sintetizadas pela célula em uma quantidade exata às suas necessidades. A exemplo, a síntese do aminoácido isoleucina em *E. coli*, em que a produção acentuada desse aminoácido é maior que a demanda necessária para a síntese de proteína, o acúmulo de isoleucina inibe a atividade da primeira enzima envolvida no processo interrompendo sua produção (NELSON, COX, 2011).

Monitoramento da limpeza em ambientes hospitalares pelo método de ATP-bioluminescência

A verificação da eficácia da limpeza em produtos para a saúde ou superfícies no ambiente na rotina hospitalar, geralmente, é realizada por inspeção visual. A RDC 15 da ANVISA (2012) determina que a avaliação do processo de limpeza manual ou automatizada em produtos para a saúde seja feita por meio de inspeção visual, com o auxílio de lentes intensificadoras de imagem, de, no mínimo, oito vezes de aumento, e por testes químicos disponíveis no mercado, quando houver indicação.

Uma nova tecnologia baseada na análise de ATP-bioluminescência vem sendo utilizada para fornecer resultados mais precisos quanto à qualidade da limpeza. Estas são capazes de medir a quantidade de ATP usada em todas as células vivas, como fonte de energia. O princípio do método de bioluminescência parte da reação da enzima luciferase, extraída de vagalumes da espécie *Photinus pyralis*, com o substrato luciferina. A luciferina é convertida em oxiluciferina na presença de oxigênio e íons de magnésio, e a ATP é clivada em monofosfato de adenosina (AMP) com a liberação de pirofosfato inorgânico. Esta reação emite luz gama com comprimento de ondas de 470 – 700nm, e a luz emitida é diretamente proporcional à quantidade de ATP presente (FRAGA, 2008; SHAMA; MALIK, 2013). Esta reação está representada abaixo:

Os testes com o ATP-bioluminescência avaliam a presença de contaminação invisível a olho nu, em tempo real, de superfícies ou da água utilizada no enxágue de produtos para a saúde, especialmente, canulados. Os resultados são expressos em Unidades Relativas de Luz (RLU) e comparados com níveis

predeterminados que indicam a eficácia ou não da limpeza, e quanto menor for a leitura de RLU maior será a eficácia da limpeza (Catálogo 3M).

Um estudo realizou 960 avaliações da limpeza de superfície de ambientes em enfermarias clínicas e cirúrgicas, por meio de quatro métodos: inspeção visual, ATP *bioluminescence swabs*, microbiológico por contagem de colônias aeróbicas e identificação de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA). Cada avaliação foi realizada antes e após o processo de limpeza, e caracterizada como limpa, de acordo com o padrão de cada teste predeterminado em estudos anteriores (número de colônias aeróbicas < 2,5 UFC/ m², ausência de detecção de MRSA sobre uma superfície e ATP-bioluminescência < 500 RLUs). Os resultados demonstraram que o método de inspeção visual foi bem menos sensível, especialmente, quando comparado com o ATP-bioluminescência (SHERLOCK *et al.*, 2009).

Um estudo desenvolvido por Alfa e colaboradores (2013) realizou a validação do método *Clean-Trace ATP water test* (3M®) para monitorar a limpeza manual, de endoscópios flexíveis, determinando o nível de RLUs aceitável, correlacionando-o com limites aceitáveis de resíduos orgânicos dosados por espectrofotometria. Como contaminação-desafio, foi utilizado o *Artificial Test Soil*, simulando a sujidade orgânica, e 10⁸ UFC de *Enterococcus faecalis* e *Pseudomonas aeruginosa*. O estudo demonstrou que uma limpeza eficaz capaz de reduzir os resíduos orgânicos e a carga microbiana para limites aceitáveis (<6,4 µg/cm² de proteína, <2,2 µg/cm² de hemoglobina e <4-log₁₀ UFC/ cm²) correspondeu à faixa entre 27,7 RLUs e 154 RLUs (média <200 RLUs). Em outras palavras, a limpeza pode ser caracterizada como inadequada quando a quantidade de RLUs na água do lavado for acima desse valor.

Além das análises de superfície ou da água do enxágue, ATP-bioluminescência vem sendo estudado para averiguar a

concentração de bioaerossóis no ambiente. Park e colaboradores (2013) analisaram uma metodologia para romper as membranas celulares com íons de ar e realização de detecção de ATP-bioluminescência para monitorar, em tempo real, a concentração de bioaerossol. Sob condições experimentais, bioaerossóis com *Staphylococcus epidermidis* e *Escherichia coli* foram produzidos por um atomizador e um ionizador de fibra de carbono utilizado para averiguar a presença de ATP das células bacterianas. As concentrações de bioaerossóis foram estimadas com o método tradicional de cultivo microbiológico e de ATP, e as equações de correlação foram realizadas entre os dois métodos. Os resultados demonstraram que 1 RLU corresponde a, aproximadamente, 1.8 UFC de bactérias em aerossol. Esta equação pode converter facilmente os resultados obtidos em RLU/m³ para UFC/m³. Conforme os autores, o sistema de detecção de ATP por bioluminescência apresenta grandes vantagens pelo curto intervalo de tempo para fornecer o resultado e sua fácil manipulação.

2.5 PROCESSAMENTOS DE PRODUTOS PARA A SAÚDE

2.5.1 Limpeza

O Centro de Material e Esterilização é um serviço técnico de apoio aos Estabelecimentos de Saúde, que tem como missão transformar os materiais sujos e contaminados em limpos, descontaminados e funcionalmente seguros. Neste contexto, a limpeza é uma das etapas mais importantes do processamento de produtos para a saúde, por afetar as fases subsequentes, desinfecção e esterilização se realizadas inadequadamente. Consiste no processo de remoção de sujidades orgânicas e inorgânicas por meio de ação mecânica, manual e/ou automatizada, utilizando água e detergente (RUTALA; WEBER, 2008).

Para garantir a eficácia do processo de limpeza, Hebert Sinner propôs quatro elementos centrais, conhecidos como o Círculo

de Sinner: ação química, temperatura, ação mecânica e tempo (WIRTANEN, SALO, 2003; VLKOVÁ, 2008).

A ação química é obtida por meio de soluções detergentes na concentração e temperatura ideal. A temperatura aumenta a velocidade das reações químicas ao propiciar uma maior agitação das moléculas, e é a energia de ativação do processo. E a ação mecânica pode ser alcançada por meio de um jato fluído produzindo tensões de cisalhamento com a superfície, o que contribui para a eliminação da sujidade. O tempo está relacionado ao fato do rompimento das ligações químicas ser diretamente proporcional ao tempo da reação; deste modo, quanto maior for o tempo de exposição da sujidade aos produtos químicos mais ligações serão rompidas. No círculo de Sinner, cada componente está distribuído na mesma proporção, ou seja, 25% para cada componente específico. Assim, quando se deseja reduzir a ação de um desses agentes ou mesmo retirá-lo, é preciso compensar com os demais (FORNI, 2007; VLKOVÁ, 2008).

Geralmente, a ação mecânica é realizada por meio de fricção direta com artefatos indicados (escovas/discos de silicone) ou nos produtos para a saúde, que não permitem o acesso direto como exemplo, os canulados longos, esta é feita com fluido sob pressão ou energia ultrassônica. Esta última tecnologia remove a sujidade por cavitação e implosão de bolhas de ar, nas quais ondas de energia acústica são propagadas em soluções aquosas e rompem as ligações que mantêm as partículas ligadas à superfície (RUTALA, WEBER, 2008).

A RDC 15 da ANVISA (2012) estabelece que os produtos para saúde com conformações complexas devem ser submetidos à limpeza manual e complementada com a automatizada em lavadora ultrassônica. E é obrigatório o uso de lavadora ultrassônica com fluxo intermitente e com conectores para canulados nos produtos para a saúde, cujo lúmen possua diâmetro interno menor que 5 milímetros.

Tanto na limpeza manual como na automatizada a utilização de agentes químicos, como detergentes contribui para facilitar o processo de limpeza por atuar na remoção da matéria orgânica (RUTALA; WEBER, 2008). Os detergentes comumente usados nos estabelecimentos de assistência à saúde são os neutros, alcalinos e enzimáticos. Os enzimáticos são constituídos por diferentes tipos de enzimas, a depender de sua formulação, podem conter protease, amilase, lipases, entre outras, e são capazes de catalisar a hidrólise das ligações químicas dos compostos orgânicos (MAURER, 2010). A RDC nº 55 da ANVISA de 14 de novembro de 2012 que dispõe sobre os detergentes enzimáticos de uso restrito em estabelecimentos de assistência à saúde, com indicação para limpeza de dispositivos médicos, determina a obrigatoriedade de conter amilase em sua formulação, podendo ser acrescida de outras enzimas, por exemplo, da subclasse das amilases e lipases.

Um estudo investigou o efeito de vários tipos de detergentes na remoção de biofilmes em endoscópios flexíveis e em diferentes tempos de exposição. Constatou-se que o uso de detergente contribui para a remoção do biofilme e comparando os grupos de detergentes enzimáticos e não enzimáticos, o último apresentou melhor eficácia. Com relação ao tempo de exposição de 3, 5 e 7 minutos, não houve diferença significativa (REN *et al.*, 2013).

Vickery e colaboradores (2009) avaliaram o efeito de múltiplos ciclos de contaminação, seguidos por limpeza com detergente e desinfecção consecutiva no desenvolvimento de biofilmes-desafio em canais de endoscópios. Biofilmes foram desenvolvidos no lúmen de canais de Teflon de endoscópio (diâmetro interno de 4 mm e comprimento de 1m) a partir de *P. aeruginosa* e caldo enriquecido. Após a contaminação, os canais foram submetidos ao processo de limpeza, sendo colocados em uma solução com detergente enzimático e não enzimático por 10 minutos à temperatura ambiente e, em seguida, na máquina de limpeza e desinfecção. Após a limpeza, foram expostos a solução de

glutaraldeído 2% por 20 minutos, enxágue com água, *flush* com álcool e secagem com ar. Este ciclo de contaminação e processamento foi repetido por 20 vezes. As amostras foram analisadas antes da primeira lavagem e após os 5º, 10º e 20º processamentos. Os achados evidenciaram que a realização da limpeza sem o uso de detergente, apesar do uso de elevadas taxas de fluxos e da pressão da água, produzindo maior força de cisalhamento, não foi suficiente para a remoção de biofilmes com múltiplas camadas e com grande quantidade de matriz. A reatividade química dos detergentes vinculada à força física da pressão de água apresentou um efeito aditivo. Entretanto, com o aumento do número de recontaminação e ciclos de lavagem/desinfecção, cerca de 10% das amostras avaliadas ainda apresentaram biofilmes aderidos.

Biofilmes aderidos à superfície dos produtos aumentam a complexidade do processo de limpeza, em razão da dificuldade de sua remoção (VICKERY et al., 2004). Cuidados no processamento devem ser tomados para reduzir a quantidade de micro-organismos nos produtos para a saúde e, conseqüentemente, a redução da presença de endotoxinas, como a realização de uma limpeza eficiente, o controle da qualidade da água e a manipulação adequada dos produtos (PADOVEZE e GRAZIANO, 2011).

A RDC 15 da ANVISA (2012) estabelece que o enxágue dos produtos para saúde seja feito com água que atenda aos padrões de potabilidade e ao enxágue final de produtos considerados críticos utilizados em cirurgias, como os oftalmológicos que devem ser realizados com água purificada. A AAMI (2007) estabelece os contaminantes orgânicos e inorgânicos máximos permitidos na água purificada, sendo a destilada e a submetida à osmose reversa àquelas que atendem a esses pré-requisitos.

2.5.2 Esterilização

A esterilização é o processo de destruição dos micro-organismos, desde vírus e fungos até esporos, de modo que não

seja mais possível sua detecção em meio de cultura em que previamente haviam proliferado. Um produto para a saúde é considerado estéril, quando a probabilidade de sobrevivência microbiana for menor que 10^{-6} (SOUZA *et al.*, 2012). Em outras palavras, o tempo de esterilização de um determinado método deve ser o dobro do tempo que foi necessário para eliminar um milhão de esporos bacterianos comprovadamente resistentes ao método.

Nos estabelecimentos de assistência à saúde, os métodos de esterilização empregados são os físicos e físico-químicos. A seleção do método de esterilização considera, primeiramente, a termorresistência dos produtos, sendo o vapor saturado sob pressão o mais seguro e que apresenta maiores vantagens (MORIYA *et al.*, 2011).

Conforme estabelecido pela RDC 15 da ANVISA (2012), é necessário o monitoramento do processo de esterilização a cada ciclo, com indicadores físicos e em cada carga com integradores químicos, classes 5 ou 6. O monitoramento com indicador biológico deve ser realizado diariamente.

O referencial teórico aqui desenvolvido teve a finalidade de substanciar o objetivo a ser executado na presente investigação, além de fundamentar a discussão dos resultados laboratoriais.

3 OBJETIVO

3 OBJETIVO

Validar um procedimento operacional padrão para o processamento das vias de irrigação e aspiração do *kit* de facoemulsificação com vistas à segurança em sua reutilização.

4 MATERIAL E MÉTODO

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 TIPO DE ESTUDO

Esta pesquisa foi caracterizada como um estudo laboratorial. A princípio, planejou-se uma pesquisa pragmática (de campo) para o estudo microbiológico das vias de irrigação e aspiração ao longo de suas reutilizações; no entanto, a dificuldade na obtenção das amostras para estudo, a título de doação pelas clínicas de oftalmologia, fez com que fosse redirecionado para este tipo de pesquisa desenvolvida.

4.2 LOCAIS DO ESTUDO

- Laboratório de Ensaaios Microbiológicos (LEM) do Departamento de Enfermagem Médico-Cirúrgica da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo – onde foram realizadas a contaminação intencional, limpeza e esterilização dos corpos de prova, análise por ATP e cultura microbiológica;
- Laboratório de Microbiologia do Serviço de Infecção Hospitalar da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo da Faculdade de Ciências Médicas – serviço onde foi preparada a suspensão bacteriana para contaminação-desafio com o micro-organismo teste e identificação microbiana das amostras que apresentaram turvação do meio de cultura;
- Laboratório de Controle de Medicamentos, Cosméticos, Domissanitários e produtos afins e as respectivas matérias primas – CONFAR – da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo – onde foram realizadas as análises de endotoxina; e
- Centro de Lasers e Aplicações, do Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares da Universidade de São Paulo – IPEN/USP – onde foi realizada a Espectroscopia de

Infravermelho dos corpos de prova, comparando-os com as vias originais.

4.3 MATERIAL

As vias de irrigação e aspiração do *kit* de facoemulsificação são utilizadas em cirurgia de extração de catarata, conectadas à caneta de facoemulsificação. A via de irrigação conduz a solução salina balanceada (conhecida pela sigla na língua inglesa como BSS) de pronto uso para o canal de irrigação da caneta de facoemulsificação. A irrigação mantém a pressão e o fluxo intraocular, e o conteúdo do cristalino facoemulsificado é aspirado para o canal interno de drenagem da caneta e, em seguida, para a via de aspiração para ser eliminado (Figura 3).

Figura 3 – Vias de facoemulsificação conectadas à caneta de facoemulsificação, ao frasco de BSS e ao facoemulsificador. São Paulo, 2013.

Fonte: própria do autor.

A matéria prima que constitui as vias de irrigação e aspiração é o silicone. A via de irrigação possui comprimento de 2,0 m e diâmetro do lúmen de 2,5 mm, e a via de aspiração, 1,8 m e 1,0 mm, respectivamente, e são comercializadas, como produtos para a saúde passíveis de processamento.

As vias de irrigação e aspiração foram substituídas por corpos de prova (Figura 4), utilizando a tubagem de silicone hospitalar (Tubo de silicone de procedência Perfimed®, referência 140 e 178) com as mesmas propriedades físico-químicas e comprimentos das vias originais. Os diâmetros dos lumens dos corpos de prova foram de 2,0 mm e 1,0 mm. Para avaliar a similaridade da matéria-prima silicone que compõe as vias originais com as dos corpos de prova foi realizada a Espectroscopia de infravermelho. O anexo 1 apresenta as características do produto e as instruções de uso dos corpos de prova indicados pelo fabricante.

Figura 4 – Vias de irrigação e aspiração do *kit* de facoemulsificação e os corpos de prova. São Paulo, 2013.

Fonte: própria do autor.

4.4 MÉTODO

A elaboração do POP a ser validado para a descontaminação das vias de irrigação e aspiração do *kit* de facoemulsificação foi baseada nas recomendações da *American Society of Cataract and*

Refractive Surgery (ASCRS), da *American Society of Ophthalmic Registered Nurses* (ASORN), da RDC 15 da ANVISA (2012) e do fabricante do produto. Reforça-se a informação de que nenhuma fonte citada apresentou dados que validassem a segurança do alcance de seus resultados.

Antes da realização dos experimentos propriamente ditos, foram feitas as validações metodológicas descritas a seguir.

4.4.1 VALIDAÇÕES METODOLÓGICAS

4.4.1.1 Análise do corpo de prova – tubo de silicone de procedência Perfimed®, referência 140 e 178 - por espectroscopia de infravermelho para certificação da similaridade com as vias de irrigação e aspiração do *kit* de facoemulsificação

A similaridade do silicone, que compõe as vias de irrigação e aspiração e os corpos de prova, foi verificada por Espectroscopia de Infravermelho. Neste estudo, as análises foram realizadas em um espectrômetro não dispersivo – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR).

Um fragmento de cerca de 1,0 cm foi obtido das vias originais e dos corpos de prova, sendo posicionado no espectrômetro gerando um espectrograma no computador com as características das moléculas apresentadas em bandas ou picos. A Figura 5 apresenta os passos realizados.

Figura 5 – Realização de espectroscopia de infravermelho. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor. Legenda: (1) amostra sendo colocada no FTRI; (2) e (3) análise da amostra; (4) leitura em espectrograma.

4.4.1.2 Número de *flushes* necessários para o enxágue completo do produto

Como parte do POP a ser validado, a quantidade de água destilada necessária para o enxágue completo dos corpos de prova foi validada por meio do teste Clean-Trace™ Water Total ATP (3M®, United Kingdom), avaliando a contaminação residual expressa em RLUs.

Os corpos de prova utilizados nesta validação foram as tubagens com maior comprimento e diâmetro (dimensões: 2,0 m X 2mm), utilizando 14 unidades amostrais.

Inicialmente, sob a técnica asséptica, foram injetados cerca de 7,0 mL da solução contaminante no lúmen dos corpos de prova com o auxílio de uma seringa de 10 mL. Esta foi constituída de uma suspensão de *Pseudomonas aeruginosa* – ATCC 27853 10^6 UFC/mL acrescida de 20% de albumina humana em meio de cultura enriquecido de *Tryptic Soy Broth* (TSB) com solução salina balanceada (maiores detalhes a seguir no item 4.4.5). Em seguida,

suas extremidades foram clampeadas com uma pinça tipo Kelly. Após 5 minutos de contato, o excesso do contaminante foi removido com uma seringa (Ribeiro, 2006) e deixado em repouso por 60 minutos para promover a secagem parcial e a aderência do contaminante sobre as superfícies do lúmen. Sequencialmente, os corpos de prova foram submetidos à limpeza, de acordo com o POP proposto e descrito no item 4.4.6.

Para validação da quantidade de água necessária para o enxágue completo, após a limpeza foram formados dois grupos, A e B, com um número amostral de sete unidades para cada grupo. O grupo A constituiu-se das amostras submetidas a três *flushes* de água destilada, utilizando uma seringa de 60 mL, ou seja, 180 mL de água destilada no total. Nas amostras do grupo B, foi usado apenas um *flush*, no total de 60 mL de água destilada. Esta validação teve como finalidade simplificar o POP, quando na transposição deste para a prática do dia a dia.

Após o enxágue, foram injetados 40 mL de água esterilizada e apirogênica (SAPP-Flex®, Água para injeção, L 01476/2) no lúmen dos corpos de prova e coletada em um tubo esterilizado. Foi dosada a ATP desses lavados, utilizando o dispositivo do teste *Clean-Trace ATP water test* (3M®) e a medição de RLUs das amostras realizadas por meio do luminômetro (3M®). As imagens das análises por ATP estão exibidas na Figura 6.

Figura 6: Validação da quantidade de água necessária para o enxágue completo, por meio do teste Clean-Trace ATP water test (3M®). São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor. Legenda: (1) *flush* com água esterilizada no lúmen do corpo de prova; (2) imersão do dispositivo de ATP no lavado; (3) medição da quantidade de RLUs no Luminômetro.

4.4.1.3 Recuperação de endotoxina nos corpos de prova

Para averiguar a capacidade promotora de recuperação de endotoxinas no produto em estudo – de constituição de silicone – foi realizada a validação do método, utilizando o *Kit* Cinético Turbidimétrico (Lonza Walkersville, Inc, MD USA, N588) com sensibilidade de detecção $<0,01$ EU/mL a 100 EU/mL e contaminando as amostras com endotoxina padrão de valor conhecido. A realização técnico-operacional das análises contou com o auxílio de uma farmacêutica representante da empresa que comercializou o *kit* e foi executada no laboratório CONFAR da FCF-USP em função da necessidade de uso do software para leitura dos resultados.

Foram usadas quatro unidades amostrais dos corpos de prova, conforme são apresentadas nos dados do Quadro 1.

Quadro 1: Condições dos corpos de prova avaliados pelo método cinético-turbidimétrico e número amostral. São Paulo, 2013.

Condições dos corpos de prova	Número amostral		
	Corpos de prova de 1mm	Corpos de prova de 2 mm	Total
Submetidos à contaminação intencional com endotoxina	1	1	2
Condições provenientes do fabricante	1	1	2

Fonte: Própria do autor.

Inicialmente, foi realizada a reconstituição do Lisado do Amebócito *Limulus* (LAL) reagente (Lonza Walkersville. Inc, MD USA; Pyrogen-5000 LAL Reagente, N588) com tampão de reconstituição Pyrogen-5000 LAL, agitando vagarosamente para evitar a formação de espuma, conforme a orientação do fabricante, bem como a reconstituição da endotoxina de alta concentração (Lonza Walkersville. Inc, MD USA; E. coli Endotoxin, N185; 9250000 EU/vial) com 5 mL de água apirogênica (SAPP-Flex®, Água para injeção, L 01476/2), agitando vigorosamente em agitador Vortex (Phoenix AP56; N.5157) por 30 minutos.

Cada corpo de prova foi colocado em um béquer despirogenizado com capacidade volumétrica de 80 mL. Em seguida, foram adicionadas cerca de 80 mL de água apirogênica (SAPP-Flex®, Água para injeção, L 01476/2). Em uma unidade amostral de cada corpo de prova, foi inserido 1 mL de endotoxina de alta concentração, reconstituída de valor conhecido (Lonza Walkersville. Inc, MD USA; E. coli Endotoxin, N185; 9250000 EU/vial) para contaminação intencional e verificar a recuperação das endotoxinas no produto em estudo.

Em seguida, foi feita a reconstituição do frasco de Endotoxina *E.coli* 055:B5 (Lonza Walkersville. Inc, MD USA; *E.coli* 055:B5

Endotoxin, N588), adicionando 3,6 mL de água apirogênica e agitando por 15 minutos em vórtex (Phoenix AP56; N.5157). Esta endotoxina é utilizada, como Controle Positivo do Produto (PPC – *Positive Product Control*), que corresponde à amostra contaminada com uma quantidade conhecida de endotoxina, para construção da curva-padrão, sendo usada para monitoramento da inibição ou desenvolvimento das endotoxinas no produto, além de permitir a comparação com a quantidade das endotoxinas nas amostras.

Diluições seriadas, até 1/100, foram realizadas, utilizando seis tubos para diluição apirogênicos (Lonza Walkersville. Inc, MD USA; tubos para diluição apirogênicos 130 x 10 mm, W50 -100). Foram pipetados 100µL de endotoxina em 1 mL de água apirogênica para injeção e agitados por 1 minuto em agitador vórtex (Phoenix AP56; N.5157), uma alíquota de 100 µL foi retirada e adicionada ao tubo seguinte, contendo 1 mL de água apirogênica.

Em seguida, uma alíquota de 100 µL de cada amostra dos corpos de prova contaminados com endotoxina de alta concentração e os não contaminados, as diluições seriadas e o PPC foram pipetados em cada poço da placa apirogênica (Lonza Walkersville. Inc, MD USA; placa apirogênica 96 cavidades, N.25-340). Com vista de manter o rigor do método, a água apirogênica (SAPP-Flex®, Água para injeção, L 01476/2) também foi monitorada quanto ao nível de endotoxina.

Logo após as amostras terem sido pipetadas nos poços da placa, foram adicionados 100 µL do LAL por cima delas. A placa foi colocada no leitor de microplacas (Cambrex Elx808 cse – Bio-Tek Instruments. Inc. Highland Park, Box 998, Winooski, VT 05404-0998, Serial n. 200776; Software WinKQCL 3.0 Lonza) para incubação por 40 minutos e em seguida realizada a leitura dos resultados. As imagens da validação estão apresentadas na Figura 7.

Figura 7: Validação do método para análise da endotoxina nos corpos de provas em estudo. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor. Legenda: (1) corpos de prova imersos em água apirrogênica; (2) reagentes LAL; (3) endotoxina de alta concentração; (4) diluição seriada; (5) agitação em vórtex; (6) amostras sendo pipetadas nos poços da placa apirrogênica; (7) agitação da endotoxina padrão para controle positivo; (8) LAL pipetado por cima das amostras; (9) placa no leitor de microplacas para incubação e leitura.

4.4.1.4 Validação do método de análise microbiológica

A recuperação do micro-organismo teste poderia ser pelo método quantitativo (primeira escolha) ou qualitativo. Com o intuito de validar a possibilidade do método quantitativo, um par de vias de irrigação e aspiração de facoemulsificação (doadas pelo Instituto de Oftalmologia Tadeu Cvintal, após vários usos) foram usadas, conforme as técnicas descritas abaixo:

Técnica 1: em cabine de proteção biológica (modelo VLFS 12, VECO®, com filtro HEPA) foi realizado um método de moldagem. Com seringa de 20 mL, foi injetado meio de cultura *Tryptic Soy Agar* - TSA (Difco™ BD, France. Tryptic Soy Agar – Soybean-Casein

Digest Agar, L8036386) na região interna das vias de irrigação e aspiração, clampeando as extremidades com pinça tipo Kelly.

Técnica 2: em cabine de proteção biológica (modelo VLFS 12, VECO®, com filtro HEPA), utilizando a técnica asséptica, as vias de irrigação e aspiração foram cortadas com tesoura esterilizada em fragmentos de 8,0 cm. Com auxílio de pinça esterilizada, cada fragmento foi inoculado em um tubo de vidro esterilizado, contendo 15 mL de meio de cultura *Tryptic Soy Broth* - TSB (Bacto™ BD, France. Tryptic Soy Broth – Soybean-Casein Digest Medium, L.2206180).

O material foi incubado à temperatura de 37°C por 14 dias em estufa (FANEM®, Brasil – Estufa para cultura bacteriológica ORION®, Modelo 502, Série/TAC-18964) e realizada a leitura diária para averiguar o possível crescimento microbiano (USP 34 – NF 29, 2011). A Figura 8 apresenta as imagens das duas técnicas realizadas.

Figura 8: Demonstração das técnicas 1 e 2 analisadas na validação microbiológica. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor.

4.4.2 PREPARO DO MATERIAL PARA O EXPERIMENTO

Corpos de prova

Antes da realização dos experimentos, as tubagens de silicone utilizadas como corpos de prova foram cortadas em comprimentos iguais aos das vias de irrigação e aspiração de facoemulsificação, separadas por grupos de estudo, embaladas em SMS (Spunbonded + Meltblow + Supndbonded) e esterilizadas em autoclave a vapor saturado sob pressão (Tuttnauer®, modelo 3850ELVC, capacidade 62 litros), termicamente qualificada, conforme a norma ISO/NBR 17.665-1/2010 (ABNT, 2010), a 135°C por 5 minutos.

Tubos de vidro com tampas rosqueáveis

Cerca de 50 tubos de vidro com tampas rosqueáveis foram distribuídos em suportes próprios e esterilizados em autoclave a vapor saturado sob pressão (Tuttnauer®, modelo 3850ELVC, capacidade 62 litros), a 135°C por 5 minutos, para serem utilizados na coleta e análise por ATP.

Despirogenização dos béqueres

Os béqueres usados nas análises de endotoxina foram despirogenizados no Confar em estufa (Nova Ética Indústria®, modelo: 400-D, temperatura: 20 a 300°C) à temperatura de 250°C por 1h30.

Meios de cultura enriquecido

Os meios de cultura TSB (Bacto™ BD, Tryptic Soy Broth – Soybean-Casein Digest Medium, Ref.211825) foram preparados, de acordo com as instruções do fabricante, com uso de água destilada. Em seguida, o meio foi dispensado em 60 tubos com tampas rosqueáveis, no volume de 70 mL cada e esterilizados a 121°C por

20 minutos em autoclave a vapor saturado sob pressão (Tuttnauer®, Israel, modelo 3850ELVC, capacidade 62 litros).

Os tubos contendo TSB permaneceram na bancada à temperatura ambiente por 36 dias, para averiguação de crescimento microbiano.

Destilação de água

Foram destilados 25 litros de água para serem utilizados no enxágue dos corpos de prova, em destilador (Cristófoli®, Brasil), com o período de armazenamento máximo de 7 dias, sob abrigo da luz.

Dias antes da execução do experimento, uma alíquota de 1 mL da água destilada foi coletada em triplicata e inoculada em tubos, contendo meio de cultura TSB (Bacto™ BD, *Tryptic Soy Broth* – Soybean-Casein Digest Medium). Estes foram incubados em estufa (FANEM®, Brasil – Estufa para cultura bacteriológica ORION®, Modelo 502, Série/TAC-18964) por 72 horas, sem crescimento microbiano em nenhuma das amostras.

Monitoramento do processo de esterilização

Conforme as recomendações da RDC 15 da ANVISA (2012), o processo de esterilização foi monitorado com indicador biológico (Attest^{MR} - 3M/USA, *Geobacillus stearothermophilus*, L.201402) e integrador químico classe 5 (Comply^{MR} SteriGage^{MR} - 3M®/USA), bem como o acompanhamento dos parâmetros físicos dos ciclos quais sejam: temperatura, pressão e tempo.

Monitoramento da água do LEM

O monitoramento e o registro da água utilizada no experimento (água de torneira, destilada e de osmose reversa) seguiram as recomendações da Portaria N° 2.914 (2011) e da AAMI (2007); as amostras foram analisadas por um laboratório de referência.

4.4.3 GRUPOS DO ESTUDO

Com o propósito de validar o POP, para as vias de irrigação e aspiração de facoemulsificação, foram constituídos os seguintes grupos de estudo:

- **Grupo de estudo 1:** verificação da limpeza por meio do método *Clean-Trace ATP water test* (3M®), após a contaminação-desafio, seguida de limpeza;
- **Grupo de estudo 2:** análise quanto à presença de endotoxinas, após a contaminação-desafio, limpeza e esterilização; e
- **Grupo de estudo 3:** teste de esterilidade por meio de cultura microbiológica, após a contaminação-desafio, limpeza e esterilização.

Os experimentos foram acompanhados por grupos controles, positivos e negativos, conforme apresentados nos dados do Quadro 2. O tamanho amostral total correspondeu a 110 amostras, sendo definido para cada grupo de estudo 30 unidades. O poder do tamanho amostral para avaliação da eficácia da limpeza (grupo de estudo 1 – ATP-bioluminescência) foi de 93% pelo teste de equivalência. Para o grupo de estudo 2 correspondente às análises das endotoxinas, o poder foi próximo a 100%, averiguado pelo teste T de uma amostra. Para o grupo de estudo 3, o teste de esterilidade, apresentou poder do tamanho amostral de 100%, averiguado pelo teste binomial.

Quadro 2 – Distribuição do número amostral por grupos de estudo e tipos de análises. São Paulo, 2013.

Tipo de Análise	Grupos do Estudo	Condições dos corpos de prova	Número amostral		
			1mm*	2mm**	Total
ATP	Grupo 1	Contaminação-desafio e limpeza.	15	15	30
	Controle positivo 1	Contaminação-desafio, SEM limpeza.	3	-	3
	Controle negativo 1	Limpeza - SEM contaminação-desafio	3	-	3
Endotoxina	Grupo 2	Contaminação-desafio, limpeza e esterilização.	15	15	30
	Controle positivo 2	Contaminação-desafio, SEM limpeza e esterilizados	3	-	3
	Controle negativo 2	Corpos de prova originais fornecidos pelo fabricante	1	1	2
Teste de esterilidade	Grupo 3	Contaminação-desafio, limpeza e esterilização.	15	15	30
	Controle positivo 3 (a)	Contaminação-desafio, SEM limpeza.	3	-	3
	Controle positivo 3 (b)	Contaminação-desafio e limpeza.	3	-	3
	Controle negativo 3	Limpeza e esterilização - SEM contaminação-desafio prévia	3	-	3
					110

Fonte: própria do autor.

*corpos de prova com diâmetro do lúmen de 1 mm;

** corpos de prova com diâmetro do lúmen de 2 mm.

4.4.4 CONTAMINAÇÃO-DESAFIO

Conforme a AAMI (2011), a contaminação-desafio deve representar a sujidade real do dispositivo no uso clínico. Nas vias de irrigação do *kit* para facoemulsificação, em condições habituais de uso clínico, não são esperados micro-organismos circulantes. Como

resíduos orgânicos, são esperadas proteínas resultantes do cristalino facoemulsificado restrito à via de aspiração; como resíduos inorgânicos são esperados aqueles derivados da solução do BSS. A fim de desafiar o POP sob validação, os corpos de prova foram submetidos à contaminação significativamente superior às condições reais (*P. aeruginosa* ATCC 27853 10^6 UFC/mL) acrescidas de material proteico humano e eletrólitos.

Detalhando a composição do contaminante desafio, este constituiu-se de:

- 50 mL de albumina humana 20% (Alburex® 20 – CSL Behring AG). Conforme Smith (2011), o cristalino é composto, essencialmente, por água e proteínas e, entre estas, as albuminoides.
- Suspensão de *P. aeruginosa* ATCC 27853 10^6 UFC/mL, 1,0 L preparado em meio de cultura enriquecido TSB (Bacto™ BD, *Tryptic Soy Broth – Soybean-Casein Digest Medium*).
- 250 mL de BSS (Sistema Fechado Soluflex®). O BSS é uma solução balanceada rica em sais, tais como: cloreto de sódio, cloreto de potássio, cloreto de cálcio, cloreto de magnésio, acetato de sódio, citrato de sódio e água para injetáveis.

A suspensão do contaminante foi preparada próxima à chama do bico de Bunsen, no laboratório de microbiologia da Santa Casa, e contou com o auxílio de uma microbiologista. Após todos os componentes terem sido adicionados ao TSB presente no balão volumétrico este foi agitado manualmente para homogeneização. Em seguida, como controle positivo, uma alíquota da suspensão foi utilizada para umedecer um *swab* de algodão estéril; este foi usado para semear toda a superfície da lâmina de Uribac (Probac do Brasil®). O Uribac é um sistema de cultura em lâmina, composto por uma face larga, contendo o meio CLED (*Cystine lactose electrolyte deficient*) e, na outra face, os meios Citrato de Simmons e Meio I. Este procedimento foi realizado com a finalidade de certificar a

concentração de 10^6 UFC/mL da suspensão de *P. aeruginosa* (ATCC 27853). Por fim, a suspensão foi transferida para frascos de vidro esterilizados com tampas rosqueáveis e transportados em uma caixa de isopor até o LEM. As imagens do preparo da suspensão estão apresentadas na Figura 9.

Figura 9: Preparo da contaminação desafio. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor. Legenda: (1) cultura estoque de *P. aeruginosa*; (2) adição de albumina humana ao TSB; (3) adição do BSS; (4) homogeneização manual; (5) semeadura na lâmina de uribac; (6) transferência da suspensão para frascos de vidro esterilizados.

4.4.5 EXECUÇÃO DO PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO

Conforme citado, o POP formulado e sob validação neste estudo teve como base as recomendações da ASCRS, ASORN, RDC 15 da ANVISA (2012), do fabricante do produto em análise e das recomendações, como boas práticas de processamento de material. As seguintes instruções foram estabelecidas:

- Pré-umectação do material contaminado por 5 minutos em água potável de torneira com preenchimento do lúmen com a água;

- Lavagem externa com água potável de torneira e do lúmen, usando pistola de água sob pressão por 60 segundos;
- Limpeza automatizada em lavadora ultrassônica com retrofluxo (na presente investigação, foi usada a da Medisafe, modelo sonic irrigator AS, MED11160, Série 010848396-27) e detergente enzimático (3M®- Detergente Multienzimático - 5 enzimas), à temperatura de 45°C por 15 minutos;
- Enxágue abundante externo com água destilada e, internamente, com um jato de 60 mL de água destilada;
- Injeção de ar ambiente no lúmen com seringa de 60 mL para retirada do excesso de água do enxágue;
- Acondicionamento em embalagem de papel grau-cirúrgico ou em outra embalagem compatível com calor, como papel crepado e SMS;
- Esterilização em vapor saturado sob pressão a 134°C por 3 minutos (Nos experimentos, a temperatura foi de 135°C e o tempo de exposição a 5 minutos, parâmetros estes estabelecidos, após a qualificação da autoclave do LEM);

A água submetida à osmose reversa foi usada para abastecer a lavadora ultrassônica, e conexões *luer lock* foram empregadas como acessórios durante o processo de limpeza para ajustar a conexão do retrofluxo da lavadora. A Figura 10 apresenta as imagens da execução do POP.

Figura 10: Execução do POP. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor. Legenda: (1) pré-umectação; (2) lavagem do lúmen com pistola de água sob pressão e (3) automatizada em lavadora ultrassônica; (4) enxágue final.

4.4.6 DETALHAMENTO METODOLÓGICO DOS GRUPOS DO ESTUDO

4.4.6.1 Grupo de estudo 1 – avaliação da limpeza

Em cabine de proteção biológica (modelo VLFS 12, VECO®, com filtro HEPA) e com técnica asséptica, os corpos de prova foram dispostos para a contaminação-desafio. Foram injetados cerca de 7 mL da solução contaminante no lúmen de cada corpo de prova de 2mm de diâmetro, e 3 mL, no corpo de prova de 1 mm com o auxílio de uma seringa de 10 mL, de modo que os lumens ficaram totalmente preenchidos com o contaminante. Em seguida, as extremidades foram clampeadas com pinça tipo Kelly. Após 5 minutos de contato, o excesso do contaminante foi removido com a mesma seringa (RIBEIRO, 2006), e os corpos de prova foram deixados em repouso por 60 minutos, tempo médio estimado para cirurgia de extração de catarata e início do processamento. A Figura 11 apresenta imagens da execução da contaminação-desafio.

Figura 11: Execução da contaminação-desafio nos corpos de prova. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor. Legenda: (1) corpos de prova; (2) contaminação dos corpos de prova com o contaminante-desafio; (3) corpos de prova em repouso por 60 minutos, após a contaminação.

Em seguida, os corpos de prova foram submetidos à limpeza, de acordo com o procedimento descrito no item 4.4.6. Logo após o enxágue, foi realizada a avaliação da eficácia da limpeza utilizando o *Clean-Trace ATP water test* (3M®). Nos corpos de prova com 1 mm de diâmetro, foram injetados 20 mL de água esterilizada (SAPP-Flex®, Água para injeção, L 01476/2), e nos de 2 mm de diâmetro foram injetados 40 mL.

Em razão de um problema técnico na lavadora ultrassônica, seis amostras dos corpos de prova de 1 mm e 4, dos corpos de prova de 2 mm permaneceram 17 horas em contato com o contaminante em lugar de 60 minutos, antes do processo de limpeza. Esta situação interveniente possibilitou estudar a validade do POP em tempos superiores a 60 minutos de contato com material contaminado.

Grupo controle positivo 1 – avaliação da limpeza

Da mesma forma descrita no grupo de estudo 1, os corpos de prova foram submetidos à contaminação-desafio, permanecendo em

contato com a solução contaminante por 60 minutos. Logo após, foi realizado um *flush* de 20 mL com água esterilizada (SAPP-Flex®, Água para injeção, L 01476/2) e analisada a quantidade de ATP em RLUs.

Grupo controle positivo 2 – avaliação da limpeza

Os corpos de prova do grupo foram submetidos à contaminação-desafio, conforme o grupo de estudo 1, entretanto permaneceram em contato com o contaminante por 17 horas. Em seguida, um *flush* de 20 mL de água esterilizada (SAPP-Flex®, Água para injeção, L 01476/2) foram injetados no lúmen e analisada a quantidade de RLUs.

Grupo controle negativo – avaliação da limpeza

SEM a execução da etapa de contaminação-desafio, os corpos de prova foram submetidos à limpeza e análise de ATP, conforme procedimento descrito no grupo de estudo 1.

4.4.6.2 Grupo de estudo 2 – avaliação de endotoxina

Os corpos de prova deste grupo foram contaminados, conforme descrito no grupo de estudo 1 e submetidos à limpeza (POP descrito no item 4.4.6), e esterilização por calor saturado sob pressão a 135°C por 5 minutos.

A análise da endotoxina pelo método cinético-turbidimétrico foi realizada no laboratório CONFAR da FCF-USP, sob a supervisão da farmacêutica representante da empresa do *kit* utilizado (Lonza®).

Inicialmente, sobre a bancada foi disposto um campo cirúrgico esterilizado com técnica asséptica, os corpos de prova foram fragmentados em cerca de 5 cm, com auxílio de tesoura esterilizada, e colocados diretamente em um béquer despirogenizado com capacidade volumétrica de 1.000 mL. Em seguida, foram adicionados de 180 a 500 mL de água apirogênica (SAPP-Flex®, Água para injeção, L 01476/2). Seguindo as recomendações da

United States Pharmacopeia (USP 34 – NF29, 2011) que indica selecionar de três a dez dispositivos médicos para uma única análise, em um béquer despirogenizado, foram colocadas sete unidades amostrais dos corpos de prova e em outro, oito unidades para cada tipo de corpo de prova, conforme apresentado nos dados do Quadro 3. As amostras foram colocadas em estufa a 37°C por 30 minutos, como parte do procedimento para a extração da endotoxina (USP 34 – NF29, 2011).

Quadro 3: Distribuição das unidades amostrais dos corpos de prova por análise da endotoxina. São Paulo, 2013.

Grupo de estudo 2	Condições dos corpos de prova	Número amostral	Unidades amostrais agrupadas por análise	Total de análises de endotoxina
Corpos de prova de 1 mm	Submetidos contaminação -desafio, limpeza e esterilização	15	7/1	2
			8/1	
Corpos de prova de 2 mm		15	7/1	2
			8/1	

As reconstituições do Lisado do Amebócito *Limulus* (LAL) reagente (Lonza Walkersville. Inc, MD USA; Pyrogent-5000 LAL Reagente, N588), com tampão de reconstituição Pyrogent-5000 LAL, e do frasco de Endotoxina *E.coli* 055:B5 (Lonza Walkersville. Inc, MD USA; *E.coli* 055:B5 Endotoxin, N588) foram realizadas na validação de recuperação das endotoxinas no produto em estudo descrito no item 4.4.2.2, sendo utilizadas dentro do prazo estabelecido pelo fabricante. Houve a necessidade apenas de serem agitadas em vórtex (Phoenix AP56; N.5157) por 30 minutos.

Como os corpos de prova foram submetidos à limpeza e esterilização, não houve necessidade de realizar diluições seriadas. Deste modo, uma alíquota de 100 µL foi retirada diretamente de cada amostra dos corpos de prova e, em seguida, pipetada em

poços da placa apirogênica (Lonza Walkersville. Inc, MD USA; placa apirogênica 96 cavidades, N.25-340). Com vista a manter o rigor do método, a água apirogênica (SAPP-Flex®, Água para injeção, L 01476/2) também foi monitorada quanto ao nível de endotoxina.

Logo após, as amostras terem sido pipetadas nos poços da placa, foram adicionados 100 µL do LAL por cima das amostras. A placa foi colocada no leitor de microplacas (Cambrex Elx808 cse – Bio-Tek Instruments. Inc. Highland Park, Box 998, Winooski, VT 05404-0998, Serial n. 200776; Software WinKQCL 3.0 Lonza) para incubação por 40 minutos e, em seguida, foi realizada a leitura dos resultados. A Figura 12 apresenta os passos realizados nesse grupo de estudo.

Figura 12 – Imagens sequenciais da execução do grupo de estudo 2. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor. Legenda: (1) corpos de prova fragmentados e imensos em água apirogênica; (2) amostras em estufa para extração da endotoxina; (3) coleta de alíquota direto da amostra para placa apirogênica; (4) agitação do LAL em vórtex; (5) LAL pipetado sobre as amostras na placa apirogênica; (6) incubação e leitura no leitor de microplacas.

Grupo controle positivo – avaliação de endotoxina

Os corpos de prova foram submetidos à contaminação-desafio, conforme descrito no grupo de estudo 1 e SEM a realização de limpeza, foram esterilizados por calor saturado sob pressão a 135°C por 5 minutos e submetidos à análise da endotoxina, seguindo os passos descritos no grupo de estudo 2. Como este grupo estava contaminado, optou-se por realizar uma diluição seriada de 1/10.

Grupo controle negativo – avaliação de endotoxina

Os corpos de prova foram analisados quanto à presença de endotoxina SEM a realização de procedimento algum, ou seja, foram analisados nas condições provenientes do fabricante, conforme descrito no item 4.4.2.2 da validação.

4.4.6.3 Grupo de estudo 3 – avaliação da esterilidade

Seguindo os mesmos procedimentos executados no grupo de estudo 2, os corpos de prova foram submetidos à contaminação-desafio, limpeza e esterilização.

Em cabine de proteção biológica (modelo VLFS 12, VECO®, com filtro HEPA) e com técnica asséptica, os corpos de prova foram cortados em fragmentos de cerca de 8,0 cm cada e inoculados em um tubo, contendo 70 mL de meio de cultura enriquecido TSB (Bacto™ BD, *Tryptic Soy Broth – Soybean-Casein Digest Medium*, Ref.211825). Em seguida, foram incubados em estufa (FANEM®, Brasil – Estufa para cultura bacteriológica ORION®, Modelo 502, Série/TAC-18964) a 37°C por 14 dias (USP 34 – NF 29, 2011), com leitura diária para identificação de turvação (Figura 13).

Figura 13 – Imagens da execução sequencial do grupo de estudo 3 – testes de esterilidade. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor. Legenda: (1) fragmentação do corpo de prova; (2) inoculação em meio de cultura; (3) incubação em estufa.

Grupo controle positivo (a) – avaliação da esterilidade

Os corpos de prova foram submetidos à contaminação-desafio, conforme descrito no item 4.4.5 e SEM a realização da limpeza foram fragmentados e incubados a 37°C por 14 dias (USP 34 – NF 29, 2011) em estufa (FANEM®, Brasil – Estufa para cultura bacteriológica ORION®, Modelo 502, Série/TAC-18964) com leitura diária para averiguar turvação.

Grupo controle positivo (b) – avaliação da esterilidade

Conforme o grupo de estudo 1, os corpos de prova foram submetidos à contaminação-desafio e limpeza. Em seguida, foram fragmentados, inoculados em TSB e incubados de acordo com o descrito no grupo de estudo 3. A justificativa da inclusão desse grupo teve por finalidade avaliar a capacidade promotora de descontaminação do procedimento isolado da limpeza.

Grupo controle negativo – avaliação da esterilidade

Neste grupo, SEM a realização da contaminação-desafio, os corpos de prova foram submetidos à limpeza, esterilização e incubação, conforme o grupo de estudo 3.

4.4.7 IDENTIFICAÇÃO MICROBIANA

As amostras que apresentaram crescimento microbiano, independente do tipo de turvação do meio de cultura, foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia do Serviço de Infecção Hospitalar da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de São Paulo para identificação de gênero e espécie.

4.4.8 TRATAMENTO E ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Os resultados foram apresentados por meio de quadros e tabelas. As análises estatísticas foram realizadas por testes de equivalência e teste T para comparação entre duas amostras.

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 VALIDAÇÕES

5.1.1 Análise do corpo de prova – tubo de silicone de procedência Perfimed®, referência 140 e 178 – por espectroscopia de infravermelho

A similaridade da composição da matéria-prima de silicone utilizada como os corpos de prova e as vias de irrigação e aspiração originais do *kit* de facoemulsificação foram comprovadas por meio da espectroscopia de infravermelho, apresentada no gráfico da Figura 14. Os espectros basicamente se sobrepuseram um ao outro, demonstrando não haver diferença entre as composições das amostras.

Figura 14: Gráfico dos espectros das amostras das vias de irrigação e aspiração originais e dos corpos de prova, analisados por espectroscopia de infravermelho. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor.

5.1.2 Número de *flushes* necessários para enxágue completo do produto

Os resultados da validação da quantidade de água destilada utilizada no enxágue dos corpos de prova estão apresentados nos dados da Tabela 1. No grupo A, foram injetados três *flushes* de água destilada de 60 mL cada, e no grupo B, apenas um *flush* de 60 mL.

Tabela 1 – Resultados da validação do enxágue pela análise de ATP-bioluminescência expresso em RLUs. São Paulo, 2013.

AMOSTRAS	QUANTIDADE DE RLUs	
	Grupo A*	Grupo B**
1	6	3
2	3	3
3	5	4
4	3	3
5	2	5
6	2	8
7	3	7
Média	3,428	4,714
DP	1,511857892	2,05866346

Fonte: Própria do autor.

*3 *flushes* de água destilada

** 1 *flush* de água destilada

Não houve diferença estatística ($p=0,1825$) na comparação das médias de RLUs entre os grupos A e B enxaguados, respectivamente, com três *flushes* de água destilada ou com apenas um *flush*.

5.1.3 Recuperação da endotoxina nos corpos de prova

A curva-padrão do experimento, apresentada na Figura 15, demonstrou que o processo de análise da endotoxina nos corpos de prova foi adequado, não havendo falhas na reação.

Figura 15 – Curva-padrão da análise da endotoxina pelo método cinético turbidimétrico. São Paulo, 2013.

STANDARDS	CONCENTRATION	WELL	REACTION TIME (sec)	AVG. TIME	BACK PREDICTION (LR)
Blank	Blank	A 1	****	****	****
		A 2	****		
Std. 1	0,01	B 1	2100	2118	0,00965
		B 2	2135		
Std. 2	0,1	C 1	986	979	0,106
		C 2	972		
Std. 3	1	D 1	467	471	1,03
		D 2	475		
Std. 4	10	E 1	226	231	9,40
		E 2	235		
Std. 5	100	F 1	106	107	103
		F 2	108		

Fonte: Própria do autor.

Os resultados da recuperação da endotoxina nos corpos de prova avaliados estão apresentados nos dados da Tabela 2. Nos corpos de prova que não foram submetidos à intervenção, ou seja, foram analisados nas condições provenientes do fabricante, a quantidade de endotoxina recuperada foi inferior à capacidade de leitura do equipamento ($<0,01$ UE). Nas amostras contaminadas intencionalmente com endotoxina, 23.125 UE/mL, houve recuperação acima da capacidade de leitura do equipamento, o que demonstra a capacidade promotora de se medir as endotoxinas nas superfícies dos corpos de prova de matéria-prima silicone. Os

resultados detalhados do teste estão apresentados no Apêndice A.

Tabela 2 – Recuperação das endotoxinas nos corpos de prova pelo método cinético-turbidimétrico. São Paulo, 2013.

Condições dos corpos de prova	Diluições	Quantidade de Endotoxina em EU/mL	
		Corpos de prova de 1mm	Corpos de prova de 2mm
Sem intervenção	-	< 0,01	< 0,01
Contaminação intencional com endotoxina	1	>100	54,7
	10	126	71,8
	100	163	117

5.1.4 Validação do método de análise microbiológica

Não houve crescimento microbiano em nenhum dos fragmentos inoculados em meio de cultura TSB, assim como na via de irrigação e aspiração submetida à técnica de moldagem.

Considerando a facilidade técnica e o menor risco de contaminação acidental das amostras entre os dois métodos testados, optou-se pela técnica 2, que consistiu em inocular os fragmentos diretamente em TSB. A técnica 1 (moldagem com TSA) apresentou as seguintes desvantagens: dificuldade de conectar a seringa nas vias de irrigação e aspiração; dificuldade de injetar o meio de cultura no lúmen em razão da resistência do ar; solidificação rápida do meio de cultura, formando bolhas de ar no interior das vias; houve redução no tamanho do TSA, com desprendimento da parede do lúmen, após alguns dias de incubação.

Esta validação indicou a técnica 2, como o método escolhido para a análise microbiológica do produto em estudo.

5.2 MONITORAMENTO DA QUALIDADE DA ÁGUA UTILIZADA NO EXPERIMENTO

A qualidade da água utilizada no experimento foi monitorada, conforme as recomendações da RDC 15 da ANVISA (2012) e seus resultados estão apresentados nos dados da Tabela 3.

Tabela 3 – Análises químicas e bacteriológicas da água utilizada nos experimentos. São Paulo, 2013.

Tipo de análise	Água de torneira	Água destilada	Água de osmose reversa
Bactérias heterotróficas UFC/mL	220	100	150
Endotoxina EU/mL	4,70	0,101	0,973
Cloreto total mg Cl/L	6,18	<1,00	<1,00
Cobre total mg Cu/L	0,04	<0,01	<0,01
Condutividade $\mu\text{S/cm}$	66,0	13,6	1,8
Dureza total mg CaCO_3/L	22,7	<1,50	<1,50
Ferro total mg Fe/L	<0,10	<0,10	<0,10
Manganês total mg Mn/L	<0,01	<0,01	<0,01
Níquel total mg Ni/L	<0,02	<0,02	<0,02
Sólidos dissolvidos totais mg/L	<100	<100	<100

Fonte: As análises bacteriológica e dos componentes inorgânicos foram realizadas pela CETESB, e das endotoxinas pela Sterileno.

5.3 RESULTADOS DOS GRUPOS DE ESTUDO E SEUS CONTROLES

5.3.1 Grupo de estudo 1 – avaliação da limpeza

Nos corpos de prova que permaneceram 1h em contato com a contaminação-desafio, houve redução de 789,66 RLUs (média do controle positivo 1) para 4,17 RLUs (média dos corpos de prova com 1h de contato com o contaminante e após a limpeza) - 98,5% após

execução do POP de limpeza. Os dados destes resultados estão apresentados nos Quadros 4 e 5.

Quadro 4 – Resultados das amostras do grupo de estudo analisada por meio do teste *Clean-Trace™ Water Total ATP* para avaliação da contaminação residual, após 1 hora em contato com a contaminação-desafio, após o procedimento de limpeza. São Paulo, 2013.

GRUPO DE ESTUDO		
1 hora de contato com a contaminação desafio		
Amostra	Resultados de ATP em RLUs	
	Corpos de Prova de 1mm	Corpos de Prova de 2mm
1	7	6
2	4	3
3	5	5
4	6	3
5	6	2
6	6	2
7		3
8		3
9		3
10		4
11		3
Média	5,67	3,36
DP*	1,033	1,206

Fonte: Própria do autor. Legenda: *Desvio Padrão.

Quadro 5 – Resultados das amostras dos grupos controles positivo e negativo analisadas por meio do teste *Clean-Trace™ Water Total ATP*. São Paulo, 2013.

GRUPOS CONTROLES		
Amostra	Resultados de ATP em RLUs	
	POSITIVO	NEGATIVO
1	652	4
2	454	5
3	1263	4
Média	789,66	4,3
DP*	421,7	0,577

Fonte: Própria do autor. Legenda: *Desvio-Padrão.

Nas amostras que permaneceram 17h em contato com a contaminação-desafio, houve redução de 48.242,33 RLUs (média do controle positivo 2) para 5,8 RLUs (média dos corpos de prova com 17h em contato com o contaminante, após a limpeza) -99,98%.

Comparando os resultados obtidos de ATP, após a limpeza com o tempo de permanência de contato com a contaminação-desafio não houve diferença estatística significativa ($p= 0,064$). Os resultados estão apresentados nos dados do Quadros 6.

Quadro 6 – Resultados das amostras analisadas por meio do Teste *Clean-Trace™ Water Total ATP* para avaliação da contaminação residual, após 17 hora, em contato com a contaminação-desafio e após o procedimento de limpeza. São Paulo, 2013.

GRUPO DE ESTUDO		
17 hora de contato com a contaminação desafio		
Amostra	Resultados de ATP em RLUs	
	Corpos de Prova de 1mm	Corpos de Prova de 2mm
1	3	5
2	9	8
3	5	9
4	4	7
5	4	
6	4	
Média	4,83	7,25
DP*	2,137	1,708
GRUPO CONTROLE POSITIVO		
1	30.543	
2	47.150	
3	67.034	
Média	48.242,33	
DP*	18.270,01	

Fonte: Própria do autor. Legenda: *Desvio-Padrão

5.3.2 Grupo de estudo 2 – avaliação de endotoxina

A curva-padrão deste grupo de estudo está apresentada na Figura 16 e demonstra que o processo de análise de endotoxina nos corpos de prova foi adequado, não havendo falhas na reação.

Figura 16 – Curva-padrão da análise da endotoxina nos corpos de prova do grupo de estudo 2. São Paulo, 2013.

STANDARDS	CONCENTRATION	WELL	REACTION TIME (sec)	AVG. TIME	BACK PREDICTION (LR)
Blank	Blank	A 1	****	****	****
		A 2	****		
Std. 1	0,01	B 1	2100	2113	0,00952
		B 2	2125		
Std. 2	0,1	C 1	1093	1103	0,101
		C 2	1113		
Std. 3	1	D 1	568	573	1,10
		D 2	577		
Std. 4	10	E 1	297	313	9,87
		E 2	329		
Std. 5	100	F 1	163	168	94,9
		F 2	172		

Fonte: Própria do autor.

A quantidade da endotoxina recuperada nos corpos de prova submetidos ao POP foi inferior à capacidade de leitura do equipamento ou muito baixa, como demonstrado nos dados do Quadro 5. Para o grupo controle negativo, foi considerado o resultado obtido na validação, para os corpos de provas que foram analisados nas condições provenientes do fabricante.

A água apirogênica (SAPP-Flex®, Água para injeção, L 01476/2) utilizada neste experimento apresentou resultado inferior à capacidade de leitura do equipamento, confirmando, assim, seu caráter apirogênico. Os resultados gerais do teste estão apresentados no Apêndice 2.

Quadro 7 – Resultado da recuperação das endotoxinas nos grupos em estudo e na água apirogênica utilizada como diluente. São Paulo, 2013.

Grupo de estudo		Quantidade de endotoxinas EU/mL
Corpos de prova de 1 mm	Amostra 1	<0,01
	Amostra 2	0,0147
Corpos de prova de 2 mm	Amostra 1	0,0192
	Amostra 2	<0,100
Grupo Controle Negativo		
Corpos de prova de 1 mm		<0,01
Corpos de prova de 2 mm		<0,01
Grupo Controle Positivo		
Diluição	1	0,259
	10	0,171
Água		<0,01

Fonte: Própria do autor.

5.3.3 Grupo de estudo 3 – avaliação da esterilidade

Não houve recuperação do micro-organismo-teste, *P. aeruginosa*, utilizado como contaminação-desafio em nenhuma das 30 amostras do grupo de estudo e do controle negativo.

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

A pesquisa confirmou a legitimidade do POP proposto, rigorosamente validado por meio das análises com ATP-bioluminescência, endotoxina e teste de esterilidade. Este POP foi formulado com base nas recomendações internacionais (ASCRS e ASORN) e nacionais (RDC 15 da ANVISA/ 2012), das instruções do fabricante, da literatura científica e das boas práticas de processamento de produtos para a saúde.

Embora os órgãos oficiais, nacionais e internacionais recomendem obediência às instruções estabelecidas pelos fabricantes do produto reutilizável para seu processamento, há que se ter um cuidado especial, quando estas não são validadas e incoerentes com as boas práticas de processamento em vigor. É o caso do objeto desta investigação, as vias de irrigação e aspiração do *kit* de facoemulsificação, cujas instruções de limpeza por parte de seus fabricantes (Millennium™ Bausch & Lomb; Sovereing®), anexo 2, apresentarem a ausência do uso de detergente e de limpeza ultrassônica (Sovereing®). As instruções de limpeza fornecidas restringem-se basicamente à utilização de água destilada em todo o processo com uma seringa de 60cc e injeções de ar ambiente. Pode-se hipotetizar que as exclusões do uso de detergente enzimático e da lavadora ultrassônica nas orientações dos fabricantes sejam decorrentes de grandes discussões relacionadas à utilização destes, como fontes possíveis de endotoxinas e, conseqüentemente, casos de TASS (PECK *et al.*, 2010; BODNAR *et al.*, 2012). O fato está, sobretudo, ligado aos resíduos de detergentes retidos pela substância viscoelástica desnaturada, em razão da não remoção completa em uma limpeza deficiente das cânulas de oftalmologia (MAMALIS *et al.*, 2006; BODNAR *et al.*, 2012).

A hipótese de que os resíduos de detergente enzimático nos dispositivos cirúrgicos oftalmológicos possam desencadear TASS,

foi refutada no estudo de Leder e colaboradores (2012) que analisaram a exposição da conjuntiva de olhos de coelhos a detergentes enzimáticos, comprovando que mesmo considerando as piores condições de enxágue dos instrumentais cirúrgicos oftalmológicos com lúmen, o detergente residual que poderia entrar em contato com o olho de um paciente, não é suficiente para induzir o desenvolvimento de TASS.

Outro estudo que reforça essa comprovação foi desenvolvido por Tamashiro e colaboradores (2013), em que cânulas de oftalmologia tiveram os seus lumens preenchidos com solução viscoelástica e submetidas a processamento, utilizando detergente enzimático e lavagem ultrassônica, seguindo o protocolo baseado nas recomendações das ASCRS e ASORN. Os resultados confirmaram que as amostras não apresentaram citotoxicidade em cultura celular.

A RDC 15 da ANVISA (2012) estabelece que as etapas do processamento de produtos para saúde devem ser executadas de acordo com o POP elaborado com base na normatização pertinente e no referencial científico atualizado, devendo ser amplamente divulgado e disponibilizado para consulta. A RDC 17 (2010) define o POP como: “procedimento escrito e autorizado que fornece instruções para a realização de operações não necessariamente específicas a um dado produto ou material, mas, de natureza geral (como exemplo, operação, manutenção e limpeza de equipamentos; validação, limpeza de instruções e controle ambiental; amostragem e inspeção)”.

Deste modo, com o intuito de que o POP proposto seja seguro e passível de implementação na prática de processamento de materiais, várias validações foram realizadas neste estudo, resultando no rigor metodológico utilizado, o que leva à confiabilidade dos achados.

Os resultados demonstraram que, mesmo diante da superestimação da contaminação-desafio com *P. aeuruginosa* na

ordem de 1 milhão/mL (10^6 UFC/mL), o que é uma quantidade incomum de se encontrar na prática assistencial, e a albumina humana, como matéria orgânica, mostrou uma redução total microbiana, após a limpeza e esterilização aplicadas. Já nos ensaios intermediários de avaliação de ATP somente após a limpeza, constatou-se uma redução drástica do contaminante presente nos corpos de prova, reforçando a tese do poder da limpeza na redução microbiana, especialmente, pelo mecanismo de arraste do substrato (sujidade orgânica). Esta etapa de limpeza contribuiu, indubitavelmente, para a redução de endotoxinas e garantir a esterilidade do produto. Ressalta-se que o produto em estudo é um dispositivo de conformação complexa, em razão de seu longo comprimento e lúmen estreito, não permitindo a fricção direta das suas superfícies com escovas, além de sua constituição ser de material hidrofóbico, silicone. Retomando o círculo de Sinner apresentado no referencial teórico deste estudo, o sucesso da limpeza pode ser atribuído ao fluxo de água sob pressão associado à ação de cavitação da lavadora ultrassônica com refluxo, temperatura de 45°C que, certamente, otimizou a ação do detergente enzimático utilizado, como tensoativo no tempo suficiente para remoção da sujidade desafio.

Após a limpeza dos corpos de prova com o POP, houve uma alta redução da quantidade de ATP expressa em RLUs, mesmo após longas horas de contato com a contaminação-desafio. Na validação do método *Clean-Trace ATP water test* (3M®) realizada por Alfa e colaboradores (2013), para monitoramento da limpeza manual de endoscópios, o valor determinado e aceitável de ATP para considerar uma limpeza eficaz é de até, no máximo, 200 RLUs. No presente estudo, a média de RLUs obtida após a aplicação do POP de limpeza foi de 5,25 para os corpos de prova de 1 mm de diâmetro e 4,40 para os de 2 mm de diâmetro, mas Alfa e colaboradores (2013) obtiveram 27,7 e 154 RLUs, respectivamente,

para os canais de biópsia/aspiração e ar/água dos endoscópios. Estes dados reforçam a eficácia do POP proposto.

Em outro estudo realizado por Alfa e colaboradores (2013b), foram avaliados canais de colonoscópios e duodenoscópios utilizados por pacientes em uma clínica de endoscopia, antes e após a limpeza manual, de acordo com as recomendações do fabricante e após o reprocessamento completo por desinfecção de alto nível com glutaraldeído 2% por 20 minutos. Os achados evidenciaram que 96% (115/120) dos canais de colonoscópios e duodenoscópios apresentaram nível de ATP menor que 200 RLUs e diminuição de matéria orgânica e carga microbiana para níveis residuais aceitáveis, após limpeza.

Outros estudos vêm evidenciando a importância da limpeza na redução microbiana e de matéria orgânica. Camargo (2013) avaliou diferentes métodos de limpeza para o instrumental laparoscópico e constatou uma redução de 93% a 100% de carboidrato, proteína e hemoglobina, após a limpeza.

Ribeiro (2006) também avaliou diferentes métodos de limpeza nos cateteres de angiografia cardiovasculares antes e após a utilização pelo paciente, por simulação com teste-desafio e esterilização por óxido de etileno a 100%. Os achados demonstraram que, antes da realização da limpeza, a carga microbiana média de 500 UFC/unidade foi reduzida para 250 UFC/unidade, após a limpeza. E os resíduos orgânicos basais apresentaram as concentrações: 146,3 µg/unidade de hemoglobina, 628,5 µg/unidade de proteína, 7,0 µg/unidade de carboidrato e 38,0 UE/unidade das endotoxinas. Estas concentrações foram reduzidas para: hemoglobina indireta foi abaixo do limite de detecção do teste, proteína indireta = 107,7 µg/unidade, carboidrato indireto = 340,1 µg/unidade e endotoxina = 5,4 UE/unidade após cinco simulações de reuso. Tal qual relatado no estudo de Ribeiro, a redução da quantidade de micro-organismos e contaminantes orgânicos, após a

limpeza. Nesse estudo, a eficácia e importância do processo de limpeza foram evidenciadas.

No presente estudo, quanto à análise para averiguar a quantidade das endotoxinas, após o processamento, os resultados mostraram a efetividade do POP para a remoção das endotoxinas nos corpos de prova, visto a quantidade recuperada ser muito baixa ou mesmo a não recuperação da endotoxina, apesar da alta sensibilidade do método ($<0,01$ UE/mL) e da redução, quando comparado ao grupo controle positivo (0,259 UE/mL).

A FDA (2012), baseada na farmacopeia americana (USP, capítulo 161), determina que o limite da endotoxina para dispositivos médicos que entram em contato, direto ou indiretamente, com o sistema cardiovascular e o linfático seja de 0,5 UE/mL ou 20 UE/dispositivos. Para os produtos que entram em contato com o líquido cefalorraquidiano, o limite é de 0,06 UE/mL ou 2,15 UE/dispositivos. E aos dispositivos que entram em contato direto ou indireto com o ambiente intraocular, o limite de endotoxina deve ser ainda menor, embora não seja especificado um valor exato do limite da endotoxina tolerável. Desse modo, neste estudo, foram aceitos apenas os valores que estiveram abaixo do limite de 0,06 UE/mL.

Sakimoto e colaboradores (2009) investigaram a concentração mínima da endotoxina que causa inflamação no segmento anterior de olhos de coelho. Injeções intracamerais de soluções das endotoxinas nas concentrações de 0,03; 0,06; 0,125; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0 EU foram realizadas. Os achados demonstraram que a concentração mínima da endotoxina para causar inflamação, que variaram de 0,23 a 0,60 UE em olhos de coelhos.

As endotoxinas presentes em produtos para a saúde usados em cirurgias oftalmológicas podem levar ao desenvolvimento de TASS. Um agravamento que acarreta grandes transtornos aos pacientes pelas alterações causadas no olho e o risco de sequelas permanentes, como o glaucoma e a íris permanentemente dilatada ou irregular (PECK *et al.*, 2010; BODNAR *et al.*, 2012).

Outro agravo identificado, após a cirurgia de extração de catarata é a endoftalmite, caracterizada por uma inflamação intraocular grave, causada pela introdução de micro-organismos no olho que, frequentemente, resulta em perda visual (PATHENGAY *et al.*, 2012). A endoftalmite foi relacionada em alguns estudos às falhas no processamento das vias de aspiração e irrigação e da caneta de facoemulsificação, em que micro-organismos foram isolados nos mesmos, resultando em surtos de endoftalmite, após a cirurgia de extração de catarata (KENCHAPPA *et al.*, 2005).

No presente estudo, o fato justifica a realização do teste de esterilidade para identificação de micro-organismos viáveis, após a limpeza e esterilização com o POP empregado. Das 30 amostras do grupo de estudo que foram contaminadas com uma quantidade superestimada de *P. aeruginosa* na ordem de 10^6 UFC, não houve crescimento microbiano para o micro-organismo utilizado na contaminação-desafio, o que reforça a robustez do POP proposto.

Antes da realização dos experimentos, a água do LEM foi analisada, e os resultados apresentaram valores bem abaixo dos padrões estabelecidos pela Portaria N° 2.914 (2011), a exemplo das bactérias heterotróficas na água de torneira encontradas em uma concentração de 220 UFC/mL, quando esta Portaria estabelece o limite de até 500 UFC/mL. A RDC 15 da ANVISA (2012) estabelece que o enxágue final dos produtos para saúde seja realizado com água purificada; neste estudo, foi utilizada água destilada para tal.

7 CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

Esta pesquisa comprovou a segurança do POP para o processamento das vias de irrigação e aspiração do *kit* de facoemulsificação utilizadas em cirurgia para extração de catarata, executando os seguintes passos: pré-umectação do material contaminado em água potável com o preenchimento do lúmen; lavagem externa e do lúmen, utilizando pistola de água sob pressão por 60 segundos; complementação da limpeza em lavadora ultrassônica com retrofluxo, usando detergente enzimático pelo tempo e temperatura recomendados pelo fabricante; enxágue abundante externo com água destilada e, internamente, com pelo menos, 60 mL de água destilada; injeção de ar ambiente no lúmen com seringa de 60 mL para retirada do excesso de água do enxágue; acondicionamento em embalagem compatível com calor; esterilização em vapor saturado sob pressão.

Em que pese o rigor metodológico utilizado na condução desta investigação, esta pesquisa trouxe para a Enfermagem do Centro de Material e Esterilização, responsável pelo processamento de produtos utilizados na saúde, a certeza da descontaminação segura das vias de irrigação e aspiração do *kit* de facoemulsificação utilizadas em cirurgia de extração de catarata, fortalecendo a ciência do processamento de produtos para a saúde.

Nesta pesquisa, a validação do POP proposto comprovou a eficácia da limpeza, mesmo sem a utilização de fricção direta por escovação ou outros artefatos, fazendo uso de jato de água sob pressão, detergente enzimático e ultrassonicação em dispositivos cirúrgicos oftalmológicos de conformação complexa.

Esta conclusão não deve ser extrapolada aos reusos subsequentes autorizados pelos fabricantes sem a realização de novos testes até o número máximo de reusos permitidos, justificados pelo fato da superfície dos lumens tornarem-se alteradas a cada

processamento e isto poderá redundar em dificuldades adicionais para a limpeza, contribuindo para a formação de biofilmes.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ALFA, M.J.; FATIMA, I.; OLSON, N. Validation of adenosine triphosphate to audit manual cleaning of flexible endoscope channels. *American Journal of Infection Control*. 2013; 41: 245-248.

ALFA, M.J.; FATIMA, I.; OLSON, N. The adenosine triphosphate test is a rapid and reliable audit tool to assess manual cleaning adequacy of flexible endoscope channels. *American Journal of Infection Control*. 2013 (b); 41: 249-253.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de microbiologia clínica para o controle de infecção em serviços de saúde. Ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasília. 2004.

ARIETA, C.E.L. Cegueira e epidemiologia da catarata senil. In: ALVEZ, M.R.; ARIETA, C.E.L.; PADILHA, M.A. *Cristalino e catarata*. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2.ed. 2011.

ASSOCIATION FOR THE ADVANCEMENT OF MEDICAL INSTRUMENTATION (AAMI); FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Reprocessing 2011 Summit: priority issues from the AAMI/FDA medical device reprocessing summit. AMMI. 2011.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). NBR ISO 17665-1: Esterilização de produtos para saúde – Vapor. Parte 1: Requisitos para o desenvolvimento, validação e controle de rotina nos processos de esterilização de produtos para saúde. Rio de Janeiro; 2010.

BHAGAT N, NAGORI S, ZARBIN M. Post-traumatic infectious endophthalmitis. *Survey of Ophthalmology* 2011; 56(3): 214-251.

BODNAR, Z.; CLOUSER, S.; MAMALIS, N. Toxic anterior segment syndrome: update on the most common causes. *J Cataract Refract Surg*. 2012; 38:1902-1910.

BRASIL – Ministério da Saúde. Ministério realiza mutirão para cirurgia de catarata. Portal da Saúde, 2012. Disponível em: <http://portalsaude.saude.gov.br/portalsaude/noticia/6786/162/ministerio-da-saude-realiza-mutirao-para-cirurgias-de-catarata.html>.

BROOKS, G.F.; CARROLL, K.C.; BUTEL, J.S. Microbiologia médica de Jawetz, Melnick e Adelberg. 25.ed. – Porto Alegre: AMGH, 2012.

CAMARGO, T.C.; Avaliação da esterilização a vapor do instrumental laparoscópico montado: abordagem laboratorial. [tese]. São Paulo: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2013.

CATALOGO 3M. Teste ATP. 3M do Brasil. Disponível em: http://solutions.3m.com.br/wps/portal/3M/pt_BR/Microbiology/FoodSafety/product-information/product-catalog-br/?PC_Z7_RJH9U5230GD8A0I8TS8A0O2C43000000_nid=NZ57HF7NKVbe7HSGQ0LWFNgl

CENTURION V, FIGUEIREDO CG, CARVALHO D, TRINDADE F, REZENDE F, ALMEIDA HG et al. Projeto Diretrizes: Catarata – Diagnóstico e Tratamento. Associação Médica Brasileira, Conselho Federal de Medicina, Conselho Brasileiro de Oftalmologia, 2003.

CHOI, J.S.; SHYN, KH. Development of toxic anterior segment syndrome immediately after uneventful phaco surgery. Korean J Ophthalmol. 2008; 22(4): 220-227.

COSTERTON JW, STEWART PS, GREENBERG EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science 1999; 284(5418): 1318-1322.

COSTERTON JW, MONTANARO L, ARCIOLA CR. Biofilm in implant infections: its production and regulation. [abstract] Int J Artif Organs. 2005; 28(11): 1062-1068. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16353112>

DANTAS, F.J. Anatomia do segmento anterior. In: ALVEZ, M.R.; ARIETA, C.E.L.; PADILHA, M.A. Cristalino e catarata. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2.ed. 2011.

DESAI P. Cataract surgery: one or both eyes? Br J Ophthalmol . 2012; vol 96(10): 1279 -1280.

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

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

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

FERNANDES, A.T.; RIBEIRO FILHO, N.; MAZZANO, R.S.; et al. Bactérias aeróbias. In.: FERNANDES, A.T.; FERNANDES, M.O.V.; RIBEIRO FILHO, N. Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde. São Paulo: Editora Atheneu, 2000.

FORNI, R. Projeto mecânico de um sistema de higienização CIP (Cleaning in Place). [Monografia] Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. 2007.

FREITAS MS. Nucleodissecação & facoemulsificação. Arq Bras Oftalmol. 2002; 65:243-248.

FREITAS, L.L. Cristalino e catarata – diagnóstico e tratamento. São Paulo: Livraria Santos editora. 2004.

FIORINI, E.J.; DAMIANI, F; TATSCH, P.J. Fourier Transform Infrared Spectroscopy – FTIR. IE 607 – Medidas para caracterização e análise de materiais – Universidade Estadual de Campinas – Faculdade de Engenharia Elétrica, 2000.

FRAGA, H. Firefly luminescence: a historical perspective and recente developments. Photochemical & Photobiological Sciences. 2008; 7:146-158.

FUX CA, COSTERTON JW, STEWART PS, STOODLEY P. Survival strategies of infectious biofilms. TRENDS in Microbiology; 2005; 13(1):34-40.

GARCIA TV. Estudo experimental sobre a contaminação por vírus no instrumental cirúrgico da facoemulsificação. 47f. [Dissertação de Mestrado] Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2009.

GRAZIANO KU, SILVA A, PSALTIKIDIS EM. Enfermagem em Centro de Produto e Esterilização. Barueri, SP: Manole, 2011.

HALL-STOODLEY L, COSTERTON JW, STOODLEY P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases . Nature Reviews/Microbiology; 2004; 2: 95-108.

HARIPRIYA A, CHANG DF, REENA M, SHEKHAR M. Complication rates of phacoemulsification and manual small-incision cataract surgery at Aravind Eye Hospital. J Cataract Refract Surg 2012; 38:1360-1369.

HELLINGER, W.C.; HASAN, S.A.; BACALIS, L.P. et al. Outbreak of toxic anterior segment syndrome following cataract surgery associated with impurities in autoclave steam moisture. Infection Control and Hospital Epidemiology. 2006; 27(3): 294-298.

JANKNECHT P & SCHNEIDER CM. Outbreak of Empedobacter brevis endophthalmitis after cataract extraction. Grafe's Arch Clin Exp Ophthalmol 2002; 240:291-295.

KENCHAPPA P, SANGWAN V, AHMED N, RAO KR, PATHENGAY A, MATHAI A et al. High-resolution genotyping of Pseudomonas aeruginosa strains linked to acute post cataract surgery endophthalmitis outbreaks in India. Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials 2005; 4:19.

KARA-JOSÉ JUNIOR N, AVAKIAN A, LOWER LMT, ROCHA AM, CURSINO M, ALVES MR. Facoemulsificação versus extração

extracapsular manual do cristalino: análise de custo. *Arq Bras Oftalmol* 2004; 67:481-489.

KUTTY, P.K.; FORSTER, T.S.; WOOD-KOOB, C. et al. Multistate outbreak of toxic anterior segment syndrome, 2005. *J Cataract Refract Surg*. 2008; 34: 585-590.

LEDER, H.A.; GOODKIN, M.; BUCHEN, S.Y. et al. An investigation of enzymatic detergents as a potencial cause of Toxic Anterior Segment Syndrome. *Ophthalmology*. 2012; 119: 1297-1302.

LIU T, CONGDON N, YAN X, JIN L, WU Y, FRIEDMAN D et al. A randomized, controlled trial of an intervention promoting cataract surgery acceptance in rural China: the Guangzhou uptake of surgery trial (GUSTO). *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2012; 53(9):5271-5278.

LUZ RA, PADOVEZE MC, CVINTAL T. Epidemiologic surveillance of postoperative endophthalmitis in a specialized ophthalmologic center in São Paulo, Brazil. *American Journal of Infection Control* 2012; 40: e1-e3.

LUZ, R.A.; PADOVEZE, M.C.; FALABELLA, P. et al. Risk factors for postoperative endophthalmitis caused by *Pseudomonas aeruginosa*: possible role of environment. *American Journal of Infection Control*. 2013; 41:1287-1289.

MADIGAN, M.T; MARTINKO, J.M; PARKER, J. Brock biology of microorganisms. São Paulo: Prentice Hall, 2004.

MADIGAN, M.T; MARTINKO, J.M.; DUNLAP, P.V.; CLARK, D.P. Microbiologia de Brock. 12.ed – Porto Alegre: Artmed, 2010.

MAMALIS, N. Toxic anterior segment syndrome. Disponível em: http://elibrary.rajavithi.go.th/homelibrary/EBook_data/Cataract%20Surgery/48.pdf

MAMALIS, N; EDELHAUSER, HF; DAWSON, DG et al. Toxic anterior segment syndrome. *J Cataract Refract Surg* 2006; 32: 324-333.

MARBACK EF. Resultados iniciais com a técnica de facoemulsificação por múltipla divisão circunferencial. *Rev Bras Oftalmol*. 2005; 64(2):87-91.

MAURER, K.H. Enzymes, detergente. *Encyclopedia of Industrial Biotechnology: bioprocess, bioseparation, and cell technology*. John Wiley & Sons, Inc. 2010; 1-17.

MEDEIROS, A; GONÇALVES, E.R. Cristalino – embriologia, anatomia de biomicroscopia. In: Padilha, M.A. Catarata. Rio de Janeiro: Cultura Médica – 2.ed. 2008.

McCOY CP, CRAIG RA, McGLINCHEY SM, CARSON L, JONES DS, GORMAN SP. Surface localization of photosensitisers on intraocular lens biomaterials for prevention of infectious endophthalmitis and retinal protection. Elsevier Biomaterials 2012; 33:7952-7958.

MORIYA GAA, SOUZA RQ, CAMARGO TC, GRAZIANO KU. Métodos de esterilização a baixa temperatura. In: GRAZIANO KU, SILVA A, PSALTIKIDIS EM. Enfermagem em Centro de Produto e Esterilização. Barueri, SP: Manole, 2011.

MOSES, KP; BANKS, JC; NAVA, PB; PETERSEN D. Atlas fotográfico de anatomia clínica. [Tradução: Claudia Coana et al.]. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

NELSON, D.L; COX,M.M. Princípios de bioquímica de Lehninger. – 5.ed. – Porto Alegre: Artmed, 2011; pag 19-27.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Health topics: Cataract. WHO, 2012. Disponível em: <http://www.who.int/blindness/causes/priority/en/index1.html>

PADOVEZE, MC; GRAZIANO, KU. Aspectos conceituais e microbiológicos relacionados ao processamento de materiais utilizados na assistência à saúde. In: GRAZIANO, KU; SILVA, A; PSALTIKIDIS, EM. Enfermagem em Centro de Material e Esterilização. Barueri, SP: Manole, 2011.

PARK, C.W.; PARK, J.W.; LEE, S.H; HWANG, J. Real-time monitoring of bioaerosols via cell-lysis by air ion and ATP bioluminescence detection. Biosensors and Bioelectronics. 2014, 52: 379-383.

PATHENGAY A, FLYNN Jr HW, ISOM RF, MILLER D. Endophthalmitis outbreaks following cataract surgery: causative organisms, etiologies, and visual acuity outcomes. J Cataract Refract Surg 2012; 38:1278-1282.

PASCOLINI D & MARIOTTI SP. Global estimates of visual impairment: 2010. Br J Ophthalmol 2012; 96:614-618.

PECK, C.M.C.; BRUBAKER, J.; CLOUSER, S.; DANFORD, C.; EDELHAUSER, H.E.; MAMALIS, N. Toxic anterior segment syndrome: common causes. J Cataract Refract Surg. 2010; 36: 1073-1080.

PUREVDORJ-GAGE LB & STOODLEY P. Biofilm structure, behavior, and hydrodynamics. In: Ghannoum M, O'toole G. Microbial biofilms. ASM Press. American Society for Microbiology. Washington 2004.

REN, W.; SHENG, X.; HUANG, X. et al. Evaluation of detergents and contact time on biofilm removal from flexible endoscopes. American Journal of Infection Control. 2013; 41: e89-e92.

RESOLUÇÃO RDC Nº 15, DE 15 DE MARÇO DE 2012. Dispõe sobre requisitos de boas práticas para o processamento de produtos para saúde e dá outras providências. Ministério da Saúde – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2012.

RESOLUÇÃO RDC Nº 17, de 16 de abril de 2010. Dispõe sobre as boas práticas de fabricação de medicamentos. Ministério da Saúde – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.

RIBEIRO, S.M.C.P. Reprocessamento de cateteres de angiografia cardiovascular após uso clínico e contaminados artificialmente: avaliação da eficácia da limpeza e da esterilização. [Tese] Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2006.

ROCHA, K.M.; SCHOR, P. Cirurgia de catarata. In: MARTINEZ, B.O.; CARVALHO, L.A.V. Óptica e fisiologia da visão – uma abordagem multidisciplinar. São Paulo: Roca, 2007; p. 188.

RUTALA WA, WEBER DJ and HEALTHCARE INFECTION CONTROL PRACTICES ADVISORY COMMITTEE (HICPAC). Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities, 2008. Center for Disease Control and Prevention (CDC) – Atlanta, EUA; 2008.

SAKIMOTO, A.; SAWA, M.; OSHIDA, T. et al. Minimum endotoxin concentration causing inflammation in the anterior segment of rabbit eyes. Japanese Journal Ophthalmol. 2009; 53: 425-432.

SANDFORD-SMITH J. Evisceration, enucleation and exenteration. In: Eye surgery in hot climates. F A THORPE, 3ed; 2004. Disponível em: <http://www.cehjournal.org/files/eye-surgery-hot-climates.html>

SAUER K, RICKARD AH, DAVIES DG Biofilms and Biocomplexity. Microbe. 2007; 2(7):347-353.

USP 34 – NF 29. UNITED STATES PHARMACOPHEIA – NATIONAL FORMULARY. Sterility Tests. [USP] 2011.

SCHAUDINN C, STOODLEY P, KAINOVIC' A, O'KEEFFE T, COSTERTON B, ROBINSON D et al. Bacterial biofilms, other structures seen as mainstream concepts. Microbe 2007; 2(5): 231-237.

SENGÖR, S.S.; GINN, T.R.; BRUGATO, C.J.; GIKAS, P. Anaerobic microbial growth near thermodynamic equilibrium as a function of ATP/ADP cycle: the effect of maintenance energy requirements. *Biochemical Engineering Journal*. 2013; 81: 65-72.

SHAMA, G; MALIK, D.J. The uses and abuses of rapid bioluminescence-based ATP assays. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2013; 216: 115-125.

SHERLOCK, O.; O'CONNELL, N.; CREAMER, E.; HUMPHREYS, H. Is it really clean? An evaluation of the efficacy of four methods for determining hospital cleanliness. *Journal of Hospital Infection*. 2009, 72: 140-146.

SILVA, M.V.; PINTO, T.J.A. Reutilização simulada de produtos médico-hospitalares de uso único, submetidos à esterilização com óxido de etileno. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 2005; 41(2): 181-189.

SILVA, M.V.; MARTINEZ, M.B.; PINTO, T.J.A. Microbiological evaluation of reused catheter guides in a Brazilian Hospital. *PDA J Pharm Sci and Tech*. 2006; 60: 356-365.

SMITH TE. Biologia molecular da célula - O olho: metabolismo e visão. In: Devlin TM. Manual de bioquímica com correlações clínicas. Traduzido por Yara M. Michelacci. São Paulo: Blucher, 2011.

SOUZA RQ, MORIYA GAA, GRAZIANO KU. Central de Produto e Esterilização. In: Programa de Atualização para Técnicos em Enfermagem – PROTENF. Organização: Associação Brasileira de Enfermagem. Porto Alegre: Artmed/ Panamericana Editora. 2012; 4(3):65-105.

STOODLEY P, SAUER K, DAVIES DG, COSTERTON JW. Biofilms as complex differentiated communities. *Rev. Microbiol*. 2002; 56:187-209.

TAMASHIRO, N.S.M.; SOUZA, R.Q.; GONÇALVES, C.R. et al. Cytotoxicity of cannulas for ophthalmic surgery after cleaning and sterilization: evaluation of the use of enzymatic detergent to remove residual ophthalmic viscosurgical device material. *J Cataract Refract Surg*. 2013; 39:937-941.

TEIXEIRA, L.M.; MERQUIOR, V.L.C.; TRABULSI, L.R. Streptococcus, Enterococcus e gêneros relacionados. In: TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F. Microbiologia. 5ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

TORTORA, G.J.; FUNKE, B.R.; CASE, C.L. Microbiologia. 10.ed. – Porto Alegre: Artmed, 2012.

VALBON, B.F.; ALVEZ, M.R.; AMBRÓSIO Jr., R. Correlações entre straylight, aberrometria, opacidade e densitometria do cristalino em pacientes com catarata. *Revista Brasileira de Oftalmologia*. 2013; 72(4): 244-248.

VICKERY K, NGO QD, 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; 37:470-475.

VICKERY K, PAJKOS A, COSSART Y, FRCPA SYDNEY. Removal of biofilm from endoscopes: evaluation of detergent efficiency. *AJIC* 2004; 32(3):170-176.

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. *Czech J. Food Sci.* 2008; 26: 309-323.

WIRTANEN, G.; SALO, S. Disinfection in food processing – efficacy testing of disinfectants. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*. 2003; 2:293-306.

APÊNDICE

Apêndice A – Resultados do teste de validação da recuperação da endotoxina nos corpos de prova

CONFAR - FCF/USP
Your Instrument Header Goes Here
Cambrex Bio Science Walkersville, Inc. - WinKQCL Version 3.00

Page 1 of 13

Analyst ID : TECNICO (VA)	BWI LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 12:15:09
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 22/8/2011
Template : TESTE ALDA	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808
Temp : 36.9°C - 37.0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502
Linear Regression :	CORR. = -1,000	SLOPE = -0,322	Y INT. = 2,677
Reader Parameters :	Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30
			Reads No. = 100

STANDARDS	CONCENTRATION	WELL	REACTION TIME (sec)	AVG. TIME	BACK PREDICTION (LR)
Blank	Blank	A 1	****	****	****
		A 2	****		
Std. 1	0,01	B 1	2100	2118	0,00965
		B 2	2135		
Std. 2	0,1	C 1	986	979	0,106
		C 2	972		
Std. 3	1	D 1	467	471	1,03
		D 2	475		
Std. 4	10	E 1	226	231	9,40
		E 2	235		
Std. 5	100	F 1	106	107	103
		F 2	108		

Analyst ID : TECNICO (VA)	BWL LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 12:15:09			
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 22/8/2011			
Template : TESTE ALDA	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808			
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502			
Linear Regression : CORR = -1,000	SLOPE = -0,322	Y INT. = 2,677				
Reader Parameters : Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30	Reads No. = 100			
TUBAGEM 1 MM						
Lot No. 0001						
Ref. Limit : 0,5						
SAMPLES	DILUTION	WELL	REACTION TIME (sec)	AVG. TIME	RAW EU	RESULTS (LR) EU/ml
S1	1	G 1	****	****	< 0,0100	< 0,0100
		G 2	****			
PPC	1	H 1	467	480	0,970	
		H 2	492			
PPC Value: 1		PPC % recovery : 97%		(PPC - SAMPLE 1) Endotoxin Recovered : 0,970		
Comment :						

Analyst ID : TECNICO (VA)	BW1 LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 12:15:09
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 22/8/2011
Template : TESTE ALDA	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502
Linear Regression : CORR. = -1,000	SLOPE = -0,322	Y INT. = 2,677	
Reader Parameters : Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30	Reads No. = 100

TUBAGEM 2MM						
Lot No. 00001						
Rel. Limit : 0,5						
SAMPLES	DILUTION	WELL	REACTION TIME (sec)	AVG. TIME	RAW EU	RESULTS (LR) EU/ml
S1	1	A 3	****	****	< 0,0100	< 0,0100
		A 4	****			
PPC	1	B 3	500	506	0,824	
		B 4	512			
PPC Value: 1		PPC % recovery : 82%		(PPC - SAMPLE 1) Endotoxin Recovered : 0,824		
Comment :						

Analyst ID : TECNICO (VA)	BWL LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 12:15:09			
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 22/8/2011			
Template : TESTE ALDA	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808			
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502			
Linear Regression :	CORR. = -1,000	SLOPE = -0,322	Y INT. = 2,677			
Reader Parameters :	Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30			
			Reads No. = 100			
TUBAGEM 1 MM						
Lot No. 0001						
Rel. Limit : 0,5						
SAMPLES	DILUTION	WELL	REACTION TIME (sec)	AVG. TIME	RAW EU	RESULTS (LR) EU/ml
S1	1	C 3	105	105	> 100	> 100
		C 4	105			
PPC	1	D 3	103	102	> 100	
		D 4	100			
PPC Value: 1		PPC % recovery :		N/A	(PPC - SAMPLE 1) Invalid Recovery	
Comment :						

Analyst ID : TECNICO (VA)	BW1 LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 12:15:09			
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 22/8/2011			
Template : TESTE ALDA	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808			
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502			
Linear Regression :	CORR. = -1,000	SLOPE = -0,322	Y INT. = 2,677			
Reader Parameters :	Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30			
			Reads No. = 100			
TUBAGEM 1 MM						
Lot No. 00001						
Rel. Limit : 0,5						
SAMPLES	DILUTION	WELL	REACTION TIME (sec)	AVG. TIME	RAW EU	RESULTS (LR) EU/ml
S1	100	G 3	410	406	1,63	163
		G 4	401			
PPC	100	H 3	361	358	2,41	
		H 4	354			
PPC Value: 1		PPC % recovery : 78%		(PPC - SAMPLE 1) Endotoxin Recovered : 0,780		
Comment :						

Analyst ID : TECNICO (VA)	BWI LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 12:15:09			
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 22/8/2011			
Template : TESTE ALDA	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808			
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502			
Linear Regression :	CORR. = -1,000	SLOPE = -0,322	Y INT. = 2,677			
Reader Parameters :	Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30			
			Reads No. = 100			
TUBAGEM 2 MM						
Lot No. 0001						
Rel. Limit : 0,5						
SAMPLES	DILUTION	WELL	REACTION TIME (sec)	AVG. TIME	RAW EU	RESULTS (LR) EU/ml
S1	10	C 5	257	252	7,18	71,8
		C 6	246			
PPC	10	D 5	254	247	7,64	
		D 6	239			
PPC Value: 1		PPC % recovery : 46%		(PPC - SAMPLE 1) Endotoxin Recovered : 0,460		
Comment :						

Analyst ID : TECNICO (VA)	BWI LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 12:15:09			
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 22/8/2011			
Template : TESTE ALDA	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808			
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502			
Linear Regression :	CORR. = -1,000	SLOPE = -0,322	Y INT. = 2,677			
Reader Parameters :	Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30			
			Reads No. = 100			
TUBAGEM 2 MM						
Lot No. 0001						
Rel. Limit : 0,5						
SAMPLES	DILUTION	WELL	REACTION TIME (sec)	AVG. TIME	RAW EU	RESULTS (LR) EU/ml
S1	100	E 5	466	452	1,17	117
		E 6	438			
PPC	100	F 5	411	409	1,59	
		F 6	407			
PPC Value: 1		PPC % recovery : 42%		(PPC - SAMPLE 1) Endotoxin Recovered : 0,420		
Comment :						

Analyst ID : TECNICO (VA)	BWI LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 12:15:09
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 22/8/2011
Template : TESTE ALDA	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502
Linear Regression : CORR. = -1,000	SLOPE = -0,322	Y INT. = 2,677	
Reader Parameters : Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30	Reads No. = 100

Curve Parameters

Parameter	Value	Specification	Status
Correlation Coefficient	-1.000	-1,000 to -0,980	PASS
Slope	-0.322	-0,400 to -0,100	PASS
Y Intercept	2.677	2,500 to 3,500	PASS

Standards

Concentration	Value	Specification	Status	Notes
0,01	1,17%	<10%	PASS	
0,1	1,01%	<10%	PASS	
1	1,20%	<10%	PASS	
10	2,75%	<10%	PASS	
100	1,32%	<10%	PASS	

(In Notes : ! - Masked Point(s), * - Point(s) Did Not React, ? - Atypical Point(s), > - High OD)

Analyst ID : TECNICO (VA)	BWL LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 12:15:09
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 22/8/2011
Template : TESTE ALDA	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502
Linear Regression : CORR. = -1,000	SLOPE = -0,322	Y INT. = 2,677	
Reader Parameters : Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30	Reads No. = 100

Product Summary					
Conc/Dil	Parameter	Result(LR)	Spec	Status	Notes
TUBAGEM 1 MM		Lot No. : 0001			
1	%CV	N/A	< 10%	Undefined	*
	Endotoxin	< 0,0100 EU/ml	≤ 0,5 EU/ml	PASS	
PPC	%CV	3,68%	< 10%	PASS	
PPC	% PPC Recovery	97%	50 to 200	PASS	
TUBAGEM 2MM		Lot No. : 00001			
1	%CV	N/A	< 10%	Undefined	*
	Endotoxin	< 0,0100 EU/ml	≤ 0,5 EU/ml	PASS	
PPC	%CV	1,68%	< 10%	PASS	
PPC	% PPC Recovery	82%	50 to 200	PASS	
TUBAGEM 1 MM		Lot No. : 0001			
1	%CV	0,00%	< 10%	PASS	
	Endotoxin	> 100 EU/ml	≤ 0,5 EU/ml	*** FAIL ***	
PPC	%CV	2,08%	< 10%	PASS	
PPC	% PPC Recovery	N/A	50 to 200	Undefined	
TUBAGEM 1 MM		Lot No. : 00001			
10	%CV	0,67%	< 10%	PASS	
	Endotoxin	126 EU/ml	≤ 0,5 EU/ml	*** FAIL ***	
PPC	%CV	14,33%	< 10%	*** FAIL ***	
PPC	% PPC Recovery	N/A	50 to 200	Undefined	
TUBAGEM 1 MM		Lot No. : 00001			
100	%CV	1,57%	< 10%	PASS	
	Endotoxin	163 EU/ml	≤ 0,5 EU/ml	*** FAIL ***	
PPC	%CV	1,38%	< 10%	PASS	
PPC	% PPC Recovery	78%	50 to 200	PASS	
TUBAGEM 2 MM		Lot No. : 0001			
1	%CV	4,32%	< 10%	PASS	
	Endotoxin	54,7 EU/ml	≤ 0,5 EU/ml	*** FAIL ***	
PPC	%CV	3,46%	< 10%	PASS	
PPC	% PPC Recovery	N/A	50 to 200	Undefined	
TUBAGEM 2 MM		Lot No. : 0001			
10	%CV	3,09%	< 10%	PASS	
	Endotoxin	71,8 EU/ml	≤ 0,5 EU/ml	*** FAIL ***	
PPC	%CV	4,29%	< 10%	PASS	
PPC	% PPC Recovery	46%	50 to 200	****FAIL****	

Analyst ID : TECNICO (VA)	BWL LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 12:15:09
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 22/8/2011
Template : TESTE ALDA	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502
Linear Regression :	CORR. = -1,000	SLOPE = -0,322	Y INT. = 2,677
Reader Parameters :	Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30
			Reads No. = 100

TUBAGEM 2 MM			Lot No. : 0001	
100	%CV	4,38%	< 10%	PASS
	Endotoxin	117 EU/ml	≤ 0,5 EU/ml	*** FAIL ***
PPC	%CV	0,69%	< 10%	PASS
PPC	% PPC Recovery	42%	50 to 200	****FAIL****

Accessories Summary

Name	Lot No.	Manufacturer	Calibration Due	Expiration
------	---------	--------------	-----------------	------------

Log Summary

Description	Comments	User ID	Date
Routine Assay RunDateTime: 22/8/2011 12:15:09 Serial # : 206502		TECNICO	22/8/2011 12:15:09
Analyst E-sig applied - TECNICO CAMBEX Run Date/Time - Aug 22 2011 12:15PM Number - 0		TECNICO	22/8/2011 13:29:19

Apêndice B – Resultados da recuperação da endotoxina no Grupo de Estudo 2 – Avaliação da endotoxina

CONFAR - FCF/USP
Your Instrument Header Goes Here
Cambrex Bio Science Walkersville, Inc. - WinKQCL Version 3.00

Page 1 of 11

Analyst ID : FELIPE (VA)	BWL LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 10:53:12
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 21/9/2011
Template : TESTE ALDA II	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502
Linear Regression : CORR. = -1,000	SLOPE = -0,275	Y INT. = 2,769	
Reader Parameters : Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30	Reads No. = 100

STANDARDS	CONCENTRATION	WELL	REACTION TIME (sec)	AVG. TIME	BACK PREDICTION (LR)
Blank	Blank	A 1	****	****	****
		A 2	****		
Std. 1	0,01	B 1	2100	2113	0,00952
		B 2	2125		
Std. 2	0,1	C 1	1093	1103	0,101
		C 2	1113		
Std. 3	1	D 1	568	573	1,10
		D 2	577		
Std. 4	10	E 1	297	313	9,87
		E 2	329		
Std. 5	100	F 1	163	168	94,9
		F 2	172		

Analyst ID : FELIPE (VA)	BWI LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 10:53:12			
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 21/9/2011			
Template : TESTE ALDA II	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808			
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502			
Linear Regression : CORR. = -1,000	SLOPE = -0,275	Y INT. = 2,769				
Reader Parameters : Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30	Reads No. = 100			
TUB 1 MM REF 140						
Lot No. 50454						
Rel. Limit : 0,5						
SAMPLES	DILUTION	WELL	REACTION TIME (sec)	AVG. TIME	RAW EU	RESULTS (LR) EU/ml
S1	1	G 1	****	****	< 0,0100	< 0,0100
		G 2	****			
PPC	1	H 1	518	534	1,42	
		H 2	550			
PPC Value: 1		PPC % recovery : 142%		(PPC - SAMPLE 1) Endotoxin Recovered : 1,42		
Comment :						

Analyst ID : FELIPE (VA)	BWL LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 10:53:12			
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 21/9/2011			
Template : TESTE ALDA II	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808			
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502			
Linear Regression : CORR. = -1,000	SLOPE = -0,275	Y INT. = 2,769				
Reader Parameters : Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30	Reads No. = 100			
TUB 1 MM REF 140						
Lot No. 50454						
Rel. Limit : 0,5						
SAMPLES	DILUTION	WELL	REACTION TIME (sec)	AVG. TIME	RAW EU	RESULTS (LR) EU/ml
S1	1	A 3	1865	1875	0,0147	0,0147
		A 4	1885			
PPC	1	B 3	564	565	1,15	
		B 4	566			
PPC Value: 1		PPC % recovery : 114%		(PPC - SAMPLE 1) Endotoxin Recovered : 1,14		
Comment :						

Analyst ID : FELIPE (VA)	BWI LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 10:53:12			
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 21/9/2011			
Template : TESTE ALDA II	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808			
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502			
Linear Regression : CORR. = -1,000	SLOPE = -0,275	Y INT. = 2,769				
Reader Parameters : Delta t = 60	Meas. Filtr. = 340	Delta mOD = 30	Reads No. = 100			
TUB 2 MM REF178						
Lot No. 49486						
Rel. Limit : 0,5						
SAMPLES	DILUTION	WELL	REACTION TIME (sec)	AVG. TIME	RAW EU	RESULTS (LR) EU/ml
S1	1	C 3	1790	1743	0,0192	0,0192
		C 4	1695			
PPC	1	D 3	574	563	1,17	
		D 4	551			
PPC Value: 1		PPC % recovery : 115%		(PPC - SAMPLE 1) Endotoxin Recovered : 1,15		
Comment :						

Analyst ID : FELIPE (VA)	BW1 LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 10:53:12			
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 21/9/2011			
Template : TESTE ALDA II	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808			
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000268978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502			
Linear Regression : CORR. = -1,000	SLOPE = -0,275	Y INT. = 2,769				
Reader Parameters : Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30	Reads No. = 100			
TUB 2 MM REF178						
Lot No. 49486						
Rel. Limit : 0,5						
SAMPLES	DILUTION	WELL	REACTION TIME (sec)	AVG. TIME	RAW EU	RESULTS (LR) EU/ml
S1	10	E 3	****	****	< 0,0100	< 0,100
		E 4	****			
PPC	10	F 3	568	558	1,21	
		F 4	548			
PPC Value: 1		PPC % recovery : 121%		(PPC - SAMPLE 1) Endotoxin Recovered : 1,21		
Comment :						

Analyst ID : FELIPE (VA)	BWI LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 10:53:12			
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 21/9/2011			
Template : TESTE ALDA II	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808			
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502			
Linear Regression :	CORR. = -1,000	SLOPE = -0,275	Y INT. = 2,769			
Reader Parameters :	Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30			
Reads No. = 100						
TUB 1 MM REF140 CONTAMINADO						
Lot No. 50454						
Rel. Limit : 0,5						
SAMPLES	DILUTION	WELL	REACTION TIME (sec)	AVG. TIME	RAW EU	RESULTS (LR) EU/ml
S1	1	G 3	835	852	0,259	0,259
		G 4	869			
PPC	1	H 3	526	511	1,66	
		H 4	495			
PPC Value: 1		PPC % recovery : 140%		(PPC - SAMPLE 1) Endotoxin Recovered : 1,40		
Comment :						

Analyst ID : FELIPE (VA)	BW1 LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 10:53:12			
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 21/9/2011			
Template : TESTE ALDA II	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808			
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502			
Linear Regression :	CORR. = -1,000	SLOPE = -0,275	Y INT. = 2,769			
Reader Parameters :	Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30			
Reads No. = 100						
TUB 1 MM REF140 CONTAMINADO						
Lot No. 50454						
Rel. Limit : 0,5						
SAMPLES	DILUTION	WELL	REACTION TIME (sec)	AVG. TIME	RAW EU	RESULTS (LR) EU/ml
S1	10	A 5	1810	1799	0,0171	0,171
		A 6	1787			
PPC	10	B 5	565	556	1,22	
		B 6	547			
PPC Value: 1		PPC % recovery : 120%		(PPC - SAMPLE 1) Endotoxin Recovered : 1,20		
Comment :						

Analyst ID : FELIPE (VA)	BWL LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 10:53:12			
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 21/9/2011			
Template : TESTE ALDA II	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808			
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502			
Linear Regression :	CORR. = -1,000	SLOPE = -0,275	Y INT. = 2,769			
Reader Parameters :	Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30			
			Reads No. = 100			
AGUA						
Lot No. 0001						
Rel. Limit : 0,250						
SAMPLES	DILUTION	WELL	REACTION TIME (sec)	AVG. TIME	RAW EU	RESULTS (LR) EU/ml
S1	1	C 5	****	****	< 0,0100	< 0,0100
		C 6	****			
PPC	1	D 5	****	****	< 0,0100	
		D 6	****			
PPC Value: 1		PPC % recovery : N/A		(PPC - SAMPLE 1) Invalid Recovery		
Comment :						

Analyst ID : FELIPE (VA)	BWL LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 10:53:12
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 21/9/2011
Template : TESTE ALDA II	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502
Linear Regression :	CORR. = -1,000	SLOPE = -0,275	Y INT. = 2,769
Reader Parameters :	Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30
			Reads No. = 100

Curve Parameters

Parameter	Value	Specification	Status
Correlation Coefficient	-1.000	-1,000 to -0,980	PASS
Slope	-0.275	-0,400 to -0,100	PASS
Y Intercept	2.769	2,500 to 3,500	PASS

Standards

Concentration	Value	Specification	Status	Notes
0,01	0,84%	<10%	PASS	
0,1	1,28%	<10%	PASS	
1	1,11%	<10%	PASS	
10	7,23%	<10%	PASS	
100	3,79%	<10%	PASS	

(In Notes : ! - Masked Point(s), * - Point(s) Did Not React, ? - Atypical Point(s), > - High OD)

Analyst ID : FELIPE (VA)	BWL LAL Lot No. : ML024L3LLF	Exp : 1/5/2014	Time : 10:53:12		
Routine Assay	Water Lot No. : 000021082013	Exp : 22/8/2013	Date : 21/9/2011		
Template : TESTE ALDA II	Endotoxin Lot No. : 0000293537	Exp : 4/5/2016	BioTek ELx808		
Temp : 36,9°C - 37,0°C	Recon. Buffer Lot No. : 0000288978	Exp : 25/4/2014	S/N 206502		
Linear Regression : CORR. = -1,000	SLOPE = -0,275	Y INT. = 2,769			
Reader Parameters : Delta t = 60	Meas. Filt. = 340	Delta mOD = 30	Reads No. = 100		
Product Summary					
Conc/Dil	Parameter	Result(LR)	Spec	Status	Notes
TUB 1 MM REF 140		Lot No. : 50454			
1	%CV	N/A	< 10%	Undefined	*
	Endotoxin	< 0,0100 EU/ml	≤ 0,5 EU/ml	PASS	
PPC	%CV	4,24%	< 10%	PASS	
PPC	% PPC Recovery	142%	50 to 200	PASS	
TUB 1 MM REF 140		Lot No. : 50454			
1	%CV	0,75%	< 10%	PASS	
	Endotoxin	0,0147 EU/ml	≤ 0,5 EU/ml	PASS	
PPC	%CV	0,25%	< 10%	PASS	
PPC	% PPC Recovery	114%	50 to 200	PASS	
TUB 2 MM REF178		Lot No. : 49486			
1	%CV	3,85%	< 10%	PASS	
	Endotoxin	0,0192 EU/ml	≤ 0,5 EU/ml	PASS	
PPC	%CV	2,89%	< 10%	PASS	
PPC	% PPC Recovery	115%	50 to 200	PASS	
TUB 2 MM REF178		Lot No. : 49486			
10	%CV	N/A	< 10%	Undefined	*
	Endotoxin	< 0,100 EU/ml	≤ 0,5 EU/ml	PASS	
PPC	%CV	2,53%	< 10%	PASS	
PPC	% PPC Recovery	121%	50 to 200	PASS	
TUB 1 MM REF140 CONTAMINADO		Lot No. : 50454			
1	%CV	2,82%	< 10%	PASS	
	Endotoxin	0,259 EU/ml	≤ 0,5 EU/ml	PASS	
PPC	%CV	4,29%	< 10%	PASS	
PPC	% PPC Recovery	140%	50 to 200	PASS	
TUB 1 MM REF140 CONTAMINADO		Lot No. : 50454			
10	%CV	0,90%	< 10%	PASS	
	Endotoxin	0,171 EU/ml	≤ 0,5 EU/ml	PASS	
PPC	%CV	2,29%	< 10%	PASS	
PPC	% PPC Recovery	120%	50 to 200	PASS	
AGUA		Lot No. : 0001			
1	%CV	N/A	< 10%	Undefined	*
	Endotoxin	< 0,0100 EU/ml	≤ 0,250 EU/ml	PASS	
PPC	%CV	N/A	< 10%	Undefined	*
PPC	% PPC Recovery	N/A	50 to 200	Undefined	
(In Notes : ! - Masked Point(s), * - Point(s) Did Not React, ? - Atypical Point(s), # - Modified, > - High OD)					

ANEXO 1 – AS CARACTERÍSTICAS DO PRODUTO E AS INSTRUÇÕES DE USO DAS TUBAGENS INDICADOS PELO FABRICANTE

INSTRUÇÕES DE USO

TUBO DE SILICONE PERFIMED®

ATENÇÃO: Leia antes as instruções de uso para operar ou instalar este produto. Caso haja alguma dificuldade, consulte a Perfitécnica Perfis Técnicos de Borracha Ltda para maiores esclarecimentos. Este produto só deve ser manuseado por pessoas capacitadas e o não cumprimento das regras de segurança poderá causar sérios danos materiais e humanos.

- **Descrição Geral:**
O silicone apresenta elevada inércia química, resistente à ação do calor e frio, estável à temperatura de -20°C a 200°C. Também apresenta elevada maciez e tem excelente biocompatibilidade.
- **Aplicações:**
O tubo de silicone Perfimed® é indicado para utilização como meio de condução de fluidos e/ou gases para entrega ao paciente.
- **Características do Produto:**
Cumrem os requisitos da Norma ISO 10993 como ensaios de irritação/corrosão dérmica, toxidez aguda sistêmica, citotoxicidade "in vitro", sensibilização dérmica maximizada, compatibilidade sanguínea, hemólise e toxidez intracutânea.
- **Armazenamento:**
O tubo de silicone Perfimed® não exige condições especiais de armazenagem. Manter em lugar seco e arejado, limpar com água e sabão neutro e/ou álcool.
- **Ítems e Peças:**
Não existem ítems e peças, pois os tubos de silicone Perfimed® são peças únicas.
- **Instruções de Uso:**
O tubo de silicone Perfimed® com a dimensão apropriada deve ser cortado no comprimento adequado e fixado, se necessário, com braçadeiras (não objetos deste registro) para garantir uma ótima conexão e evitar qualquer tipo de vazamento.
- **Lavagem:**
 - * Lave com cuidado, em água quente, usando detergente neutro;
 - * Enxágue em água destilada para eliminar as altas concentrações de cloro e/ou outros contaminantes que possam afetar os materiais.
- **Teste de Funcionamento:**
 - * Antes de cada utilização deverá ser feita uma inspeção visual em toda a extensão do tubo

de silicone Perfimed® para verificar se existem furos que possam gerar vazamentos, e consequentemente ineficácia do tratamento do paciente;

* Caso seja detectado qualquer furo, rasgo ou anormalidade, descarte esse tubo e substitua por um novo;

* Só utilize o tubo de silicone Perfimed® em perfeitas condições, qualquer anormalidade ou em caso de dúvidas, contate imediatamente o serviço de assistência técnica Perfitécnica Perfis Técnicos de Borracha Ltda.

• Embalagem:

O tubo de silicone Perfimed® é embalado individualmente em embalagem plástica e selado a quente. Dentro de cada embalagem está inserido um manual de instruções. Na parte externa da embalagem, estará fixada uma etiqueta com o código de barras.

• Métodos de Esterilização:

Os métodos de esterilização devem ser realizados de acordo com o procedimento de cada estabelecimento de saúde. Lembramos que:

* Os tubos de silicone Perfimed® podem ser esterilizados com mistura de líquido químico (glutaraldeído);

* Ou em óxido de etileno ou autoclave (com temperatura máxima de 130°C);

* Ou outro processo de esterilização da escolha do usuário;

* Após o processo de esterilização as peças devem ser secas;

* Realize o teste de funcionamento antes de utilizar novamente.

• Restrição quanto ao número possível de esterilização:

Número máximo de esterilização: 06 (seis).

• Precauções:

* Antes da sua utilização deve sofrer o processo de esterilização, se aplicável;

* Mantenha o tubo de silicone Perfimed® limpo e em bom estado de conservação. Para este procedimento consulte as seções "Lavagem" e "Métodos de esterilização", contidas neste manual de instruções de uso;

* Não tente manipular o tubo de silicone Perfimed® sem prévio conhecimento ou supervisão adequada;

* Não tente fazer qualquer reparo no tubo de silicone Perfimed®. Em caso de dúvidas consulte a Perfitécnica Perfis Técnicos de Borracha Ltda.

Este produto destina-se exclusivamente ao uso odonto-médico-hospitalar.

**ANEXO 2 – RECOMENDAÇÕES DE PROCESSAMENTO DAS
VIAS DE IRRIGAÇÃO E ASPIRAÇÃO PELOS FABRICANTES DO
PRODUTO**

Instruções para a utilização do
ESTOJO ANTERIOR ECONÓMICO VENTURI

POR

A ser utilizado com os sistemas microcirúrgicos Millennium™, Premiere™ e Protec™ unicamente para cirurgia do segmento anterior.

ATENÇÃO: A legislação federal (EUA) restringe a venda deste dispositivo aos médicos ou por ordem destes. **Advertência:** O conjunto de tubagem para I/A e a cassete devem ser limpos e esterilizados antes da primeira utilização e imediatamente depois de cada utilização. Consulte as seguintes instruções de limpeza, conforme se aplique.

**CONJUNTO DE TUBAGEM PARA I/A E CÂMARA DE ENSAIO.
 INSTRUÇÕES DE LIMPEZA E ESTERILIZAÇÃO**

ATENÇÃO: Utilize unicamente água destilada ou desionizada quente entre 30° e 40° C (85° and 105° F) nas instruções seguintes.

LIMPEZA DO CONJUNTO DE TUBAGEM PARA I/A E CÂMARA DE ENSAIO.

1. Imediatamente após cada utilização, enxágue completamente a tubagem para I/A e as câmaras de ensaio utilizando água quente.
2. Proceda à infusão de 60 cc de água destilada ou desionizada quente através de cada lúmen da tubagem:
 - A. Posicione a ponta da seringa num recipiente com água destilada ou desionizada quente e encha a seringa até à marca dos 60 cc.
 - B. Ligue a ponta da seringa ao centro da válvula de segurança de 3 vias. A seguir, ligue o acessório "Luer" macho da válvula de segurança ao acessório Luer do tubo de aspiração.
 - C. Gire a alavanca da válvula de segurança para permitir o fluxo para o acessório "Luer" macho.
 - D. Empurre o êmbolo da seringa para forçar o líquido através do lúmen para um recipiente de descarte.
 - E. Remova a ligação da seringa. Encha a seringa com ar, volte a ligar a válvula de segurança, e empurre o êmbolo da seringa para forçar o ar através do lúmen. Remova a ligação da seringa.
 - F. Encha novamente a seringa com 60 cc de água destilada ou desionizada quente.
 - G. Volte a ligar a ponta da seringa ao centro da válvula de segurança de 3 vias. Ligue o acessório Luer fêmea da válvula de segurança ao acessório Luer do tubo de irrigação. Gire a alavanca da válvula de segurança para permitir que o líquido passe para o acessório "Luer" fêmea.
 - H. Repita as etapas D e E.
3. Coloque a tubagem para I/A num banho ultra-sónico contendo água destilada ou desionizada quente.
4. Encha ambos os lúmenes submergindo o conjunto de tubagem para I/A.
5. Limpe por ultra-sons a tubagem para I/A durante 5 minutos.
6. Depois da limpeza por ultra-sons, enxágue ambos os lúmenes com 60 cc de água destilada ou desionizada quente.
7. Encha a seringa com ar, volte a ligar a válvula de segurança, e empurre o êmbolo da seringa para forçar o ar através de cada lúmen.

ESTERILIZAÇÃO DO CONJUNTO DE TUBAGEM PARA I/A E CÂMARA DE ENSAIO.

- Coloque o conjunto de tubagem para I/A e as câmaras de ensaio em pano CSR ou equivalente. Esterilize em autoclave de vapor a 121° C (250° F) durante 30 minutos, ou em pré-vácuo a 134° C (274° F) durante 3 minutos, ou em autoclave rápido a 132° C (270° F) não embalado mas coberto durante 10 minutos.

AMO™

SOVEREIGN® Kit Reutilizável - REF: OPO55

Descrição:

O SOVEREIGN® Kit Reutilizável sustenta o caminho do líquido de irrigação necessário para a realização de uma intervenção de irrigação/aspiração (I/A) ou de um procedimento de facoemulsificação. O SOVEREIGN® Kit Reutilizável é constituído pelos seguintes artigos:

- SOVEREIGN® Condutas Reutilizáveis
- Conjunto de Tubagens Reutilizável

Indicações de Utilização:

O SOVEREIGN® Kit Reutilizável é utilizado com o SOVEREIGN® dispositivo de facoemulsificação. O SOVEREIGN® Kit reutilizável é esterilizado por óxido de etileno para a primeira utilização, sendo reutilizável até 20 vezes.

Representação esquemática do produto:

Figura A

Instruções de utilização:

Queira, por favor, consultar as instruções de seguida apresentadas sobre a forma de instalar adequadamente o SOVEREIGN® Kit Reutilizável. Para instruções adicionais, queira, por favor, consultar o Manual do Utilizador.

A realizar pelo instrumentista (scrub):

1. Fixe as extremidades da peça de mão de tubos ao dispositivo de facoemulsificação, ao dispositivo de I/A ou à peça de mão de virectomia, conforme necessário.
2. Instale o AMO® Conjunto de Administração (P/N: OM2505191) no dispositivo de facoemulsificação de acordo com as Instruções de Utilização fornecidas com o AMO® Conjunto de Administração.
3. Coloque o conjunto de condutas sobre uma superfície plana, da forma apresentada na figura A.
4. Fixe o encaixe de aspiração Luer (conjunto de tubos) (dispositivo de fecho macho Luer com marcador vermelho) no conjunto de condutas (dispositivo de fecho fêmea Luer com marcador vermelho).
5. Insira o conjunto de tubos na ranhura adequada do conjunto de condutas. Certifique-se de que o tubo de irrigação (marcador azul) fica totalmente encaixado nas ranhuras inferiores. Certifique-se de que o tubo de ventilação (marcador branco) fica totalmente encaixado nas ranhuras superiores.
6. Fixe o Saco de Drenagem Descartável (P/N OPO56) à extremidade do tubo do segmento azul da bomba de acordo com as Instruções de Utilização incluídas no Saco de Drenagem Descartável.
7. Agora, enquanto o tubo de irrigação/aspiração é mantido no campo estéril, o kit montado pode ser entregue ao Circulador (pessoal de enfermagem).

A realizar pelo enfermeiro ajudante (circulator):

1. Abra a lingueta das condutas no SOVEREIGN® painel de fluidicos. Ligue as condutas ao SOVEREIGN® painel de fluidicos. Feche a lingueta com firmeza. Quando adequadamente presa, soará um clique proveniente da lingueta.
2. Com cuidado mas com força suficiente, estique o tubo do segmento azul da bomba através da bomba. Feche a lingueta da bomba.
3. Prenda o saco de drenagem à parte lateral do dispositivo (directamente abaixo do Painel de Fluidicos).
4. Prepare a solução de irrigação no frasco da forma habitual. Retire o protector do frasco em forma de cavilha da cavilha perfurante. Com o frasco na posição vertical, insira o protector do frasco em forma de cavilha no centro do bujão em borracha. Não torça nem dobre a cavilha ao inseri-la no bujão. Prenda o frasco ao pólo I/V. Aperte e liberte a câmara de gotejamento até ficar 1/2 a 3/4 cheia.
5. Leve a cabo a sequência de purga de acordo com o manual do utilizador.

A realizar pelo instrumentista (scrub):

1. Com a câmara de teste desligada da ponta da peça de mão, observe o líquido enquanto este se desloca em direcção à peça de mão e enche a câmara de teste. Encha a câmara de teste com líquido, eliminando todo o ar, e coloque a câmara de teste na peça de mão. O dispositivo levará a cabo a sequência de purga do sistema e a sequência de afinação do sistema de uma forma automática.

Limpeza:

O procedimento de limpeza de seguida descrito deve ser levado a cabo no final de cada intervenção cirúrgica.

NOTA: Utilize sempre água destilada para limpar o SOVEREIGN® Kit Reutilizável para evitar a acumulação de partículas estranhas no interior dos tubos.

Separe os tubos das condutas. Para tal, puxe com cuidado o tubo de ventilação (o tubo com marcador branco) e o tubo de irrigação (tubo com marcador azul) para fora do conjunto das condutas e desligue o tubo de aspiração Luer (tubo com marcador vermelho) das condutas. Ligue as extremidades dos tubos e coloque as extremidades do tubo de aspiração (Luer macho com marcador vermelho) no escoadouro. Utilize uma seringa de 60cc para enxaguar os tubos e as condutas da seguinte forma:

1. Encha a seringa e prenda-a ao conector Luer fêmea no tubo de irrigação previamente preso ao conjunto de administração por irrigação. Aperte o tubo de irrigação (no marcador azul) e esvazie a seringa através do tubo de ventilação (tubo com marcador branco) para o interior do escoadouro (a água descerá a conduta de irrigação e, depois, voltará a subir a conduta de aspiração em direcção ao escoadouro).
2. Volte a encher a seringa e volte a fixá-la ao tubo de irrigação. Aperte o tubo de ventilação (no marcador branco) e esvazie a seringa através do tubo de irrigação desobstruído para o interior do escoadouro.
3. Repita os passos 1 a 2.
4. Repita os passos 1 a 2, utilizando ar na seringa em vez de água destilada. Deste modo, a maior parte da água será eliminada dos tubos, mas sobrará a quantidade suficiente para o processo de autoclave.
5. Torne a encher a seringa com água destilada e prenda-a ao conector Luer fêmea situado no tubo de aspiração das condutas (tubo com o marcador vermelho). Esvazie a seringa através do tubo de aspiração para o interior do escoadouro.
6. Repita o passo 5.
7. Repita o passo 5, utilizando ar na seringa em vez de água destilada. Deste modo, a maior parte da água será eliminada das condutas, mas sobrará a quantidade suficiente para o processo de autoclave.

Re-esterilização:

CUIDADO: NÃO ESTERILIZE OS TUBOS ANTES DE EFECTUAR O PROCESSO DE LIMPEZA DESCRITO ANTERIORMENTE.

Os componentes foram concebidos para suportar os parâmetros de procedimentos aprovados de acordo com a directriz AAMI sobre ("Good Hospital Practice: Steam Sterilization and Sterility Assurance", ANSI/AAMI ST46-1993).

A fim de maximizar o rendimento e a vida útil dos produtos reutilizáveis, deverão utilizar-se as técnicas, os tempos e as temperaturas de esterilização seguintes:

Ciclos de esterilização a vapor:

Ciclo de deslocamento da gravidade	Ciclo de pré-vácuo
270°F/132°C 10 minutos	270°F/132°C 4 minutos

NOTA: Os ciclos mencionados requerem que o produto esteja dentro de um invólucro. Certifique-se de que existe humidade nos tubos antes de iniciar a esterilização por autoclave.

Em situações de emergência poderá utilizar-se uma esterilização instantânea, segundo o estabelecido pelo Instituto de normas norte-americano, American National Standards Institute em ANSI/AAMI ST37-1996 "Good Hospital Practice: Flash Sterilization-Steam Sterilization of Patient Care Items for Immediate Use". Deverão utilizar-se os parâmetros estabelecidos para os itens mistos porosos e não porosos. A garantia da esterilidade é da responsabilidade do utilizador.

Advertência: Não se recomenda a utilização de esterilização por gás.

A refrigeração não é necessária antes da remontagem; no entanto, tome as precauções necessárias para evitar a ocorrência de queimaduras.

Armazenamento e manipulação:

- Depois da esterilização, armazene o conjunto de tubos num lugar seguro e limpo. Mantenha este local seco e sem pó. Certifique-se de que o conjunto de tubos fica adequadamente protegido durante o seu armazenamento. Não se esqueça de reesterilizar o conjunto de condutas antes de cada utilização.
- Certifique-se de que os tubos não ficam demasiadamente apertados e de que nada de pesado é colocado sobre eles. Um armazenamento incorrecto pode provocar dobras e buracos nos tubos, o que comprometerá o seu desempenho.

Precauções:

- O conteúdo é estéril quando a bolsa se encontra vedada e não-danificada.
- Utilize exclusivamente este SOVEREIGN® Kit Reutilizável com o SOVEREIGN® dispositivo de factoemulsificação.
- A limpeza imprópria/inadequada pode resultar na aderência de partículas estranhas às superfícies internas das condutas. Além disso, a função e a duração de vida do conjunto de condutas podem ficar seriamente comprometidas.
- O desempenho global do sistema pode ser prejudicado pelo uso combinado de produtos não-AMO.
- Se o desempenho do produto ficar comprometido durante a sua utilização, interrompa e proceda aos testes adequados conforme descritos no Manual do Utilizador. Se os resultados não se mostrarem satisfatórios, substitua o SOVEREIGN® Kit Reutilizável de acordo com as instruções definidas no Manual do Utilizador.
- Após um máximo de 20 reutilizações, o SOVEREIGN® Kit Reutilizável tem de ser eliminado.
- Certifique-se sempre de que utiliza as predefinições adequadas do dispositivo de factoemulsificação com o SOVEREIGN® Kit Reutilizável.

Se o SOVEREIGN® Kit for recebido em más condições, queira, por favor, contactar imediatamente o ser revendedor oficial AMO. Cada conjunto de tubos é identificado por meio de um número de lote, que deve ser indicado em qualquer correspondência ou queixa.

Telefone nos E.U.A.: Número gratuito (800) 366-6554.

Símbolos utilizados na embalagem estéril:

SÍMBOLO	INGLÊS	PORTUGUÊS
See Instructions for Use Sterilized by Ethylene Oxide Part/Catalog number Lot/Batch number USE BY [YYYY-MM] year-month	Consultar as instruções de Utilização Esterilizado por Óxido de Etileno Número da Parte/do Catálogo Lot/Número do lote USAR ANTES DE [AAAA-MM] ano-mês

Cuidado: A Lei Federal (E.U.A.) limita a venda deste dispositivo por um médico ou mediante a ordem de um médico.

AMO e o Logótipo AMO são marcas comerciais da Advanced Medical Optics, Inc. SOVEREIGN é uma marca registada de Advanced Medical Optics, Inc.

Fabricado por:
Advanced Medical Optics, Inc.
Santa Ana, CA 92705 USA

www.amo-inc.com

Distribuído em Portugal:
Medotec
Distribuição de Medicamentos LDA
Av. Dos Bombeiros Voluntários 40-B
Algés, 1495 Lisboa
Portugal