

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
ESCOLA DE ENFERMAGEM**

Síntia de Souza Evangelista

**LIMPEZA MANUAL X LIMPEZA AUTOMATIZADA: UMA ANÁLISE DE
CARGA MICROBIANA DE INSTRUMENTAIS CIRÚRGICOS APÓS O USO
CLÍNICO EM CIRURGIAS DO APARELHO DIGESTIVO**

BELO HORIZONTE

2014

Síntia de Souza Evangelista

**LIMPEZA MANUAL X LIMPEZA AUTOMATIZADA: UMA ANÁLISE DE
CARGA MICROBIANA DE INSTRUMENTAIS CIRÚRGICOS APÓS O USO
CLÍNICO EM CIRURGIAS DO APARELHO DIGESTIVO**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-graduação da Escola de Enfermagem da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Enfermagem.

Área de concentração: Saúde e Enfermagem

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Adriana C. de Oliveira

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Simone G. dos Santos

BELO HORIZONTE

2014

E921 Evangelista, Sítia de Souza.
Limpeza manual X Limpeza automatizada [manuscrito]: uma análise de carga microbiana de instrumentais cirúrgicos após o uso clínico em cirurgias do aparelho digestivo. / Sítia de Souza Evangelista. - - Belo Horizonte: 2014.
111f.: il.
Orientadora: Adriana Cristina de Oliveira.
Co-Orientador: Simone Gonçalves dos Santos.
Área de concentração: Saúde e Enfermagem.
Dissertação (mestrado): Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem.
1. Controle de Infecções. 2. Carga Bacteriana. 3. Instrumentos Cirúrgicos/microbiologia. 4. Segurança do Paciente. 5. Dissertações Acadêmicas. I. Oliveira, Adriana Cristina de. II. Santos, Simone Gonçalves dos. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Escola de Enfermagem. IV. Título.

NLM: WC 195



Universidade Federal De Minas Gerais
Escola De Enfermagem
Programa De Pós Graduação

Dissertação intitulada “Limpeza manual x limpeza automatizada: uma análise de carga microbiana de instrumentais cirúrgicos após o uso clínico em cirurgias do aparelho digestivo” de autoria da mestranda Síntia de Souza Evangelista, aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

Professora Dr.^a Adriana Cristina de Oliveira

Escola de Enfermagem / UFMG

Orientadora

Professora Dr.^a Simone Gonçalves dos Santos

Departamento de Microbiologia/ Instituto de Ciências Biológicas / UFMG

Coorientadora

Professor Dr. Evandro Watanabe

Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/ USP

Examinador

Professor Dr. Dirceu Carrara

Instituto do Coração/ Hospital das Clínicas / Faculdade de Medicina / USP

Examinador

Belo Horizonte, 23 de abril de 2014

Av. Professor Alfredo Balena, 190 - Belo Horizonte – Minas Gerais – 30.130-100
– Brasil. Tel/fax: (031) 3409-9853

DEDICATÓRIA

A Deus, por ter me dado a vida e por estar sempre cuidando de mim e da minha família, nos protegendo e amparando em todos os momentos.

À minha mãe, Berenice, pela dedicação, incentivo e generosidade em todos os momentos da minha vida, por ter me ensinado o valor da educação e pelo exemplo que sempre foi e será para mim.

Ao meu noivo, Tadeu Vinícius, que, com seu amor e cuidado, soube ser compreensivo, companheiro e paciente durante minhas tantas ausências. Obrigada por escolher estar comigo e por fazer parte da minha vida.

À minha orientadora, que admiro tanto como pessoa quanto pela profissional que é, por ter me concedido a oportunidade de aprender e evoluir.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, professora doutora Adriana Oliveira, meu exemplo profissional e grande incentivadora há tantos anos. Obrigada por investir na minha formação, pela paciência, pelos “puxões de orelha” e por possibilitar a realização deste sonho tão esperado. A você, que tanto me ensinou, meus agradecimentos sinceros.

Aos colegas do Núcleo de Estudos e Pesquisas em Infecções Relacionadas ao Cuidar em Saúde (NEPIRCS) espaço onde crescemos e compartilhamos conhecimento, amizade e companheirismo. Obrigada pelo apoio e incentivo de todas vocês em todos os momentos ao longo deste curso.

Às equipes de enfermagem da Central de Material e Esterilização e do Bloco Cirúrgico, que me receberam de braços abertos durante a realização deste trabalho. Serei eternamente agradecida a vocês por toda a ajuda e o tempo dispensados a mim e a este trabalho.

À Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte, à equipe do Centro de Saúde Conjunto Santa Maria e minha gerente Jalda, pelo apoio.

À professora doutora Simone Gonçalves dos Santos, pela disponibilidade e pela oportunidade de aprendizagem. Obrigada por ter aberto as portas do Laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios (MOA), pelo tempo dispensado e pela contribuição à execução deste trabalho.

Ao Tadeu, meu noivo, pela companhia e pela assessoria nas questões tecnológicas; e à minha sogra, Lourdinha, pelos almoços de domingo e pelo auxílio na captação de voluntários para participação nesta pesquisa.

Aos demais professores do MOA, Luíz, Paula e Maria Auxiliadora; aos amigos do ICB, em especial a Luciana, Carol, João, Rafaela, Priscila, Augusto e Jaqueline, que me socorreram em tantos momentos neste ano.

À minha irmã Silma, que contribuiu neste trabalho com coleta de dados, tabulação de dados, assessoria estatística e formatação, pela disponibilidade e pela companhia nas noites “intermináveis” de trabalho no laboratório.

À acadêmica Isabela Pacheco, pela enorme colaboração de forma voluntária durante a etapa de coleta de dados. Sua participação foi de extrema importância e imprescindível à conclusão deste trabalho.

À minha amiga Ivone Mussel, pelo coleguismo durante as aulas e pela colaboração na execução da pesquisa.

À professora doutora Maria Aparecida, do Departamento de Micologia ICB, pela colaboração na identificação das amostras de fungos.

A caminhada foi longa e cansativa, mas se tornou mais confortável com a ajuda de todos vocês.

“Agradeço todas as dificuldades que enfrentei; não fosse por elas, eu não teria saído do lugar. As facilidades nos impedem de caminhar. Mesmo as críticas nos auxiliam muito”.

(Francisco Candido Xavier)

EVANGELISTA, S. S. Limpeza manual x limpeza automatizada: uma análise de carga microbiana de instrumentais cirúrgicos após o uso clínico em cirurgias do aparelho digestivo, 2014, 111 f. Dissertação (Mestrado em Enfermagem) - Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

RESUMO

Diversos produtos para a saúde (PPS), dentre eles a maioria dos instrumentais cirúrgicos, são planejados com a finalidade de permitir sua reutilização. A presença da contaminação microbiana em PPS após o processamento pode inviabilizar a reutilização destes instrumentais, devido ao risco de transmissão cruzada de micro-organismos, favorecendo a ocorrência da Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Objetivou-se avaliar a carga microbiana presente em instrumentais cirúrgicos utilizados em cirurgias do aparelho digestivo após uso clínico e limpeza manual e automatizada. Tratou-se de uma pesquisa experimental realizada no Laboratório de Microbiologia Oral e Anaeróbios. A amostra foi composta por 125 instrumentais provenientes de 25 cirurgias do aparelho digestivo, potencialmente contaminadas e não contaminadas, submetidos a dois processos de limpeza, manual e automatizado. Os instrumentais foram imersos em sacos plásticos estéreis contendo água destilada estéril e submetidos a sonicação em lavadora ultrassônica, seguida de agitação. As amostras foram divididas em cinco partes iguais e submetidas à filtração em membrana Millipore® de 0,45µm. As membranas foram então depositadas em meios de cultura específicos para a avaliação da carga microbiana e o isolamento de grupos microbianos de relevância epidemiológica. A identificação dos micro-organismos foi realizada no sistema Vitek II Biomeriëux, com cartões específicos para cada grupo de micro-organismos. A média de carga microbiana nas diferentes etapas foi 93,1UFC/100ml após o uso, 41UFC/100ml e 8,24UFC/100ml nas duas etapas sequenciais de limpeza manual e 75UFC/100ml e 16,1UFC/100ml em instrumentais submetidos a limpeza automatizada. A redução de carga microbiana entre as etapas sequenciais de limpeza não foi significativa para instrumentais submetidos a limpeza em lavadora ultrassônica. A carga microbiana após o uso foi influenciada pelo potencial de contaminação da cirurgia. Após o uso clínico, 64% dos instrumentais apresentaram carga microbiana maior que 10^1 e 10^2 UFC/100ml. Após a primeira etapa do método manual, 44% permaneceram nesta faixa, enquanto este valor foi de 52% naqueles submetidos a limpeza automatizada. Ao final da última etapa de limpeza, não foi recuperada carga microbiana na maioria dos instrumentais. Contudo, aproximadamente 10% apresentavam carga microbiana maior que 10 e 100 UFC/100 ml. *Staphylococcus coagulase negativo* esteve entre os micro-organismos mais frequentemente isolados em todas as etapas avaliadas. Além deste, os principais isolados por etapa foram *Escherichia coli* após o uso, *Pseudomonas* spp. e *Stenotrophomonas maltophilia* após a primeira etapa de limpeza manual e automatizada, sendo que nesta última *Acinetobacter baumannii complex* também se destacou. A limpeza manual com imersão em detergente enzimático e escovação neste estudo demonstrou ser mais efetiva quando comparada àquela realizada em lavadora ultrassônica, com redução expressiva da carga microbiana. Contudo, a utilização de termodesinfecção em etapa subsequente foi capaz de reduzir essa contaminação significativamente para instrumentais em ambos os métodos.

Descritores: Segurança do paciente. Controle de infecção. Instrumentos cirúrgicos. Microbiologia. Carga bacteriana.

EVANGELISTA, S. S. Manual cleaning x automated cleaning: an analysis of microbial load on surgical instruments after clinical use in surgery of the digestive tract, 2014, 111 s. Master of Science degree dissertation (Master's degree in nursing) – School of Nursing, Minas Gerais Federal University, Belo Horizonte, 2014.

ABSTRACT

Several health products (HP), among them the most surgical instruments, are designed in order to allow its reuse. The presence of microbial contamination on HP after its processing can limit the reuse of these instruments, because of the risk of cross-transmission of microorganisms, favoring the occurrence of Health Care-Associated Infections. The aim was to evaluate the microbial load present in surgical instruments used in the digestive tract surgeries after its clinical use and manual and automated cleaning. This was an experimental study carried out in the Laboratory of Oral Microbiology and Anaerobes. The sample was composed of 125 instruments from 25 gastrointestinal surgeries, potentially contaminated and contaminated, undergone two cleaning processes, manual and automated. The instruments were immersed in sterile plastic bags containing sterile distilled water and exposed to sonication in ultrasonic washer, followed by stirring. The samples were divided into five equal parts and filtrated on Millipore® membrane of 0.45µm. The membranes were then deposited in specific culture substance for the assessment of microbial load and isolation of microbial groups of epidemiologic relevance. The identification of micro-organisms was performed on the system Vitek II Biomeri ux, with specific cards for each group of micro-organisms. The average microbial load in the different stages was 93.1CFU/100ml after use, 41CFU/100ml and 8.24CFU/100ml in the two sequential steps of manual cleaning and 75CFU/100 and 16.1CFU/100ml in instrumental that went to automated cleaning. The reduction of microbial load between the sequential cleaning steps was not significant for instrumental undergoing the cleaning in ultrasonic washer. The microbial load after use was influenced by the potential for contamination of surgery. After the clinical use, 64% of the instruments showed microbial load higher than 10^1 and 10^2 CFU/100ml. After the first stage of the manual method, 44% remained in this range, while this figure was 52% in those undergoing automated cleaning. At the end of the last stage of cleaning, it was not recovered microbial load in most instruments. However, approximately 10% had load greater than 10 and 100CFU/100ml. Negative *Staphylococcus coagulase* was among the micro-organisms commonly isolated in all stages evaluated. In addition, the main insulations by step were *Escherichia coli* after use, *Pseudomonas* spp. and *Stenotrophomonas maltophilia* after the first step of manual and automated cleaning, in the last *Acinetobacter baumannii* complexx also stood out. Manual cleaning with immersion in enzymatic detergent and brushing, in this study, demonstrated to be more effective when compared to that performed in ultrasonic washer, with a significant reduction of microbial load. However, the use of thermal disinfection at a subsequent stage was able to significantly reduce such instruments contamination in both methods.

Descriptors: Patient safety. Infection control. Surgical instruments. Microbiology. Bacterial load.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1	Lavadora ultrassônica e lavadora termodesinfectora utilizados na CME ...	53
FIGURA 2	Exemplo de instrumentais cirúrgicos amostrados	54
FIGURA 3	Fluxograma das etapas de coleta	58
FIGURA 4	Instrumental submetido a banho ultrassônico	59
FIGURA 5	Preparação de meio de cultura	60
FIGURA 6	Capela de fluxo laminar - Veco®	61
FIGURA 7	Amostras armazenadas em tubos criogênicos	61
GRÁFICO 1	Carga microbiana categorizada por potencial de contaminação presente em instrumentais cirúrgicos após o uso, limpeza manual com detergente enzimático (etapa 1) e limpeza em termodesinfectora (etapa 2) - Belo Horizonte, 2014	69
GRÁFICO 2	Carga microbiana categorizada por potencial de contaminação presente em instrumentais cirúrgicos após o uso, limpeza automatizada em ultrassônica (etapa 1) e limpeza em termodesinfectora (etapa 2) - Belo Horizonte, 2014	70

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Distribuição dos procedimentos cirúrgicos selecionados para análise microbiológica de instrumentais cirúrgicos após o uso clínico de acordo com o potencial de contaminação - Belo Horizonte, 2014.....	64
TABELA 2	Tipo e frequência de instrumentais cirúrgicos selecionados a partir de cirurgias do aparelho digestivo para avaliação do perfil microbiológico nas diferentes etapas do processo de limpeza: pré-limpeza, método manual e automatizado - Belo Horizonte, 2014.....	65
TABELA 3	Carga microbiana recuperada em instrumentais cirúrgicos de cirurgias do aparelho digestivo estratificada por umidificação do instrumental pré-limpeza, potencial de contaminação e duração da cirurgia – Belo Horizonte, 2014.....	66
TABELA 4	Comparação entre a carga microbiana recuperada de instrumentais cirúrgicos após o uso clínico em cirurgias do aparelho digestivo em relação à verificada após primeira etapa do processo manual (fricção + detergente enzimático) e automatizado (após ultrassônica) - Belo Horizonte, 2014.....	67
TABELA 5	Comparação entre a carga microbiana recuperada de instrumentais cirúrgicos após primeira etapa de limpeza manual e automatizado em relação à verificada após segunda etapa de limpeza em lavadora termodesinfectora - Belo Horizonte, 2014	68
TABELA 6	Micro-organismos isolados em instrumentais cirúrgicos após uso clínico em cirurgias do aparelho digestivo - Belo Horizonte, 2014	71
TABELA 7	Micro-organismos isolados em instrumentais cirúrgicos após limpeza manual com imersão em detergente enzimático e escovação - Belo Horizonte, 2014.....	72
TABELA 8	Micro-organismos isolados em instrumentais cirúrgicos em cirurgias do aparelho digestivo após etapa 2 do processo de limpeza manual (termodesinfectora) - Belo Horizonte, 2014	73
TABELA 9	Micro-organismos isolados em instrumentais cirúrgicos utilizados em cirurgias do aparelho digestivo e submetidos a limpeza automatizada em lavadora ultrassônica - Belo Horizonte, 2014	74
TABELA 10	Micro-organismos isolados em instrumentais cirúrgicos em cirurgias do aparelho digestivo após segunda etapa de limpeza automatizada - Belo Horizonte, 2014	75

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	Adenosina Trifosfato
BHI	<i>Brain Heart Infusion</i>
CME	Central de Material e Esterilização
COEP	Conselho de Ética em Pesquisa
DEPE	Departamento de Ensino e Pesquisa
EU	<i>Endotoxins Units</i>
FDA	Food and Drug Administration
HC	Hospital das Clínicas
HEPA	<i>High Efficiency Particulate Air</i>
ICB	Instituto de Ciências Biológicas
IRAS	Infecções Relacionadas à Assistência a Saúde.
ISC	Infecção de Sítio Cirúrgico
LAL	<i>Limulus Amebocyte Lysate</i>
LPS	Lipopolissacarídeo
MOA	Microbiologia Oral e Anaeróbios
PPS	Produtos Para a Saúde
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RLU	<i>Relative Units Light</i>
SAL	<i>Sterility Assurance Level</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
USP	<i>United States Pharmacopeia</i>
VDTE	Vice - Diretoria Técnica de Enfermagem

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Objetivos	19
1.1.1	<i>Objetivo geral</i>	19
1.1.1	<i>Objetivos específicos</i>	19
2	REVISÃO DE LITERATURA	20
2.1	A etapa de limpeza no processamento de PPS	20
2.1.1	<i>Pré- limpeza</i>	21
2.1.2	<i>Agentes e soluções empregados na limpeza de PPS</i>	24
2.1.3	<i>Métodos de limpeza</i>	28
2.1.4	<i>Enxágue e secagem</i>	35
2.1.5	<i>Avaliação da etapa de limpeza</i>	36
2.2	Aspectos microbiológicos relacionados ao processamento de PPS	40
2.2.1	<i>Biofilmes</i>	44
2.2.2	<i>Endotoxinas</i>	48
3	MATERIAL E MÉTODO	51
3.1	Delineamento do estudo	51
3.2	Local de estudo	51
3.3	População/ amostragem	53
3.4	Variáveis do estudo	55
3.5	Coleta de dados	56
3.5.1	<i>Avaliação dos espécimes clínicos</i>	58
3.5.2	<i>Processamento microbiológico e enzimático dos espécimes clínicos</i>	59
3.5.3	<i>Identificação bioquímica/fisiológica dos micro-organismos recuperados</i>	62
3.6	Análise de dados	62
3.7	Aspectos éticos	63
4	RESULTADOS	64
4.1	Carga microbiana recuperada de instrumentais cirúrgico utilizados em cirurgias do aparelho digestivo durante a etapa de limpeza	66
4.2	Perfil de micro-organismos recuperados de instrumentais cirúrgicos utilizados em cirurgias do aparelho digestivo durante etapa de limpeza	71
5	DISCUSSÃO	76
6	CONCLUSÃO	86
	REFERÊNCIAS	88
	ANEXOS	100
	APÊNDICES	102

INTRODUÇÃO

Diversos produtos para a saúde (PPS), dentre eles a maior parte dos instrumentais cirúrgicos, são planejados com a finalidade de permitir sua reutilização em diversos pacientes durante sua vida útil. Estes materiais são classificados como “PPS passíveis de processamento”, uma vez que sua forma, tamanho e constituição permitem que possam ser submetidos a diversos ciclos de limpeza, preparo e esterilização, a fim de serem reutilizados, até que seja atingido um limite de sua eficácia e funcionalidade (BRASIL, 2012). O emprego destes produtos pode levar à redução tanto dos custos envolvidos na realização de procedimentos cirúrgicos quanto da quantidade de resíduos gerados decorrente da utilização de itens de uso único (ALPEGREN *et al.*, 1994; MALCHESKY *et al.*, 1995; DEPREZ *et al.*, 2000).

As técnicas empregadas no processamento de PPS devem permitir a obtenção de itens seguros tanto para profissionais durante a manipulação e o preparo quanto para pacientes, evitando a ocorrência de qualquer evento adverso relacionado ao seu uso (ALFA, 2000; NHS ESTATES, 2013). A redução de carga microbiana, observada principalmente durante a etapa de limpeza, é um pré-requisito essencial para minimizar o risco de transmissão de micro-organismos e seus produtos tóxicos que podem permanecer nestes produtos (NYSTROM, 1981; DEPARTMENT OF HEALTH, 2013).

A presença de micro-organismos em PPS durante o processamento relaciona-se ao risco de infecção e contaminação, sobretudo à manipulação destes instrumentais quando apresentam carga microbiana superior a 10^2 ou 100UFC/instrumental (NYSTROM, 1981). Após o processamento, pode resultar em materiais impróprios para reutilização, principalmente em se tratando de itens críticos, que penetram a pele e mucosas adjacentes, tecidos subepiteliais e sistema vascular, devido ao alto risco de transmissão de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (IRAS) (SHOEMAKE; STOESSEL, 2007; RUTALA; WEBER, 2008; BRASIL, 2012; WEBER; RUTALA, 2013).

O controle e a prevenção dessas infecções, mais especificamente as Infecções de Sítio Cirúrgico (ISC) constituem um pilar importante, que vem recebendo enfoque global no contexto da segurança do paciente, como um dos objetivos da estratégia lançada pela Organização Mundial de Saúde - *Cirurgias seguras salvam vidas* -, e do processamento

adequado de PPS reutilizáveis, apontado como uma das medidas fundamentais neste contexto (OMS, 2009).

Mesmo sendo difícil estabelecer uma relação direta entre a contaminação de instrumentais cirúrgicos e a infecção em pacientes, pode-se afirmar que estas podem ser favorecidas quando da ocorrência de falhas na adesão dos profissionais responsáveis pelo preparo do material às recomendações de limpeza e esterilização e/ou de alterações de funcionalidade destes dispositivos (ALFA, 2000; SHOEMAKE; STOESSEL, 2007; RUTALA; WEBER, 2013). Apesar de escassos os estudos que abordem o risco de transmissão de IRAS a partir de PPS, estas podem ser bem mais frequentes, sendo conhecidas apenas quando relacionadas a episódios de surtos (ALFA, 2013).

Sete casos de ISC após artroscopia por *Pseudomonas aeruginosa* foram observados num período de quinze dias em um hospital do Texas. A investigação epidemiológica sugeriu uma provável relação entre este surto e o processamento inadequado de PPS, o que levou à retenção de sujidade no lúmen dos equipamentos artroscópicos, permitindo a sobrevivência destes micro-organismos ao processo de esterilização (TOSH *et al.*, 2011). Em outro caso relatado foram verificados 35 pacientes que apresentaram ISC por micobactéria após laparoscopia. Foi detectada a presença destes micro-organismos na água utilizada no enxágue no recipiente onde era realizada a desinfecção destes instrumentais em forma de biofilmes e nos instrumentais após processamento (VIJAYARAGHAVAN *et al.*, 2006).

Outros aspectos relacionados ao preparo do material, como a qualidade da esterilização e a do acondicionamento também podem alterar as condições do PPS, adicionando risco de contaminação e impedindo seu uso seguro.

Em um hospital de Glasgow, Reino Unido, durante dez meses foram registrados vinte casos de ISC em pacientes submetidos a cirurgias limpas de ortopedia e oftalmologia. Após investigação, verificou-se que o excesso de umidade durante esterilização a vapor e a condensação no interior dos pacotes contendo instrumentais cirúrgicos, devido ao rápido resfriamento, foram as prováveis causas para o surto, uma vez que se observou concordância entre os micro-organismos isolados nos pacientes, *Staphylococcus coagulase negativo* e *Bacillus spp.*, e nos instrumentais cirúrgicos utilizados durante o procedimento (DANCER *et al.*, 2012).

No Brasil, a contaminação a partir dos instrumentais por falhas durante o processamento também foi relacionada a 2.128 casos de infecções pós-cirúrgicas por

micobactérias de crescimento rápido notificados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) entre 2003 e 2009 (BRASIL, 2008; BRASIL, 2009a). Os principais problemas verificados durante a investigação destes casos foram relacionados ao fato de que estes PPS não eram submetidos a esterilização, e sim a desinfecção, havendo remoção inadequada de resíduos orgânicos antes da exposição dos instrumentais cirúrgicos a agentes biocidas. Foi constatada, ainda, a precariedade de muitas Centrais de Material e Esterilização (CME) que não possuíam registros e validação dos processos de limpeza e esterilização.

Os casos relatados, apesar de não resultarem em óbitos, tiveram grande repercussão, trazendo à tona questões anteriormente restritas às CME relativas ao processamento de PPS e seu impacto na saúde da população. A qualidade do processamento realizado nestes serviços foi questionada, e alterações nas regulações vigentes foram realizadas com o intuito de padronizar as práticas (BRASIL, 2009a; BRASIL, 2009b).

De acordo com definição da Resolução de Diretoria Colegiada RDC 15 (2012), o processamento de PPS deve ser realizado na CME e compreende um conjunto de ações interdependentes, incluindo pré-lavagem, recepção, limpeza, secagem, avaliação da integridade e funcionalidade, preparo, desinfecção ou esterilização, armazenamento e distribuição dos produtos esterilizados para as unidades consumidoras (BRASIL, 2012). Cada etapa deve ser realizada de acordo com normas e padronizações definidas, a fim de se obter um produto final que ofereça qualidade e garanta segurança para utilização nos pacientes.

Apesar das várias etapas envolvidas no processamento de PPS, por muito tempo observou-se grande ênfase na fase de esterilização, pela crença de que esta, por si só, seria capaz de, isoladamente, promover a morte microbiana. Contudo, estudos subsequentes ratificaram a importância da etapa de limpeza, estabelecendo suas bases científicas e evidenciando a relação entre acúmulo de materiais resultante de limpeza inadequada e falhas na esterilização (ALFA, 2000; HEEG *et al.*, 2001; MULLANEY, 2008; BRITISH COLUMBIA, 2011).

A permanência de sujidade e umidade residual em instrumentais cirúrgicos dificulta a penetração do gás de peróxido de hidrogênio no lúmen destes artigos durante a etapa de esterilização, alterando a capacidade de destruição dos micro-organismos neles contidos (PENNA *et al.*, 1999). É preciso reduzir a carga microbiana a aproximadamente 10^2 para se alcançar a esterilização destes produtos por plasma de peróxido de hidrogênio (PENNA; FERRAZ, 2000).

A avaliação da peça manual que compõe um equipamento utilizado em cortes ósseos em procedimentos de artroscopia evidenciou que, apesar do processamento destes materiais, de acordo com a indicação do fabricante, ainda assim era possível verificar a permanência de sujidade e de carga microbiana nos canais de sucção. Provavelmente, a sujidade remanescente nestes equipamentos atuou como uma camada protetora, possibilitando a sobrevivência de micro-organismos ao processo de esterilização, causando IRAS (TOSH *et al.*, 2011). Pinças reutilizáveis submetidas a contaminação experimental apresentaram potencial para a transmissão de doenças, uma vez que o processo de esterilização empregado não foi capaz de garantir a esterilidade em produtos que apresentaram limpeza inefetiva (HEEG *et al.*, 2001).

Nos serviços de processamento, a limpeza de PPS pode ser executada empregando-se o método manual ou o automatizado (VEERABADRAN; PARKINSON, 2010; BRASIL, 2012). A limpeza manual consiste na imersão do material em solução de detergente, por um período de tempo determinado, seguida de escovação, para a remoção de sujidade visível, e de enxágue em água limpa. Sua indicação limita-se a produtos delicados, complexos ou que não podem ser processados por métodos automatizados, pela natureza do instrumental ou pela ausência de equipamentos. Os métodos automatizados, executados com auxílio de equipamentos, são altamente recomendados por permitirem maiores possibilidades de alcance de repetibilidade e por serem mais fáceis de validar. Estes equipamentos de limpeza removem sujidade e micro-organismos por meio de lavação e enxágue automatizados, sendo que alguns incorporam desinfecção térmica ou química. Para diversos autores, a limpeza automatizada apresenta melhores resultados quanto à remoção de resíduos em comparação com os métodos manuais (ALFA; NEMES, 2003; 2004; ALFA *et al.*, 2006).

Seja qual for o método de limpeza empregado, se executado de forma inadequada pode levar à manutenção de elevado *bioburden* em PPS durante o processamento (RUTALA; WEBER, 2008). O termo *bioburden*, ou carga microbiana, é definido como o volume estimado e o tipo de micro-organismos contaminantes presentes no objeto a ser esterilizado (AAMI, 2005). O acúmulo de proteínas, sais e sujidade nestes produtos pode proteger estes micro-organismos do contato com agente esterilizante, favorecendo a formação e a adesão de biofilme (PENNA; FERRAZ, 2000; RUTALA; WEBER, 2008; BRITISH COLUMBIA, 2011).

Durante seu processo de limpeza, os PPS devem sofrer uma redução considerável de agentes infecciosos e de matéria orgânica e inorgânica, onde estes micro-organismos podem

desenvolver-se (PENNA; FERRAZ, 2000; VEERABADRAN; PARKINSON, 2010; BRASIL, 2012), além de potenciais pirógenos (AAMI, 2005).

Algumas técnicas têm sido descritas como formas de avaliação de carga microbiana em PPS, como a adenosina trifosfato (ATP) bioluminescência, uma técnica utilizada para a monitorização de processos de limpeza, por meio da mensuração dos níveis de carga orgânica em PPS (FUSHIMI *et al.*, 2013; SHAMA; MALIK, 2013). Os níveis de ATP atuam como um rápido indicador da qualidade do processo, evidenciando a presença de matéria orgânica em superfícies. Esta técnica oferece vantagens sobre outras por ser prática e fornecer resultado quantitativo e em tempo real (FUSHIMI *et al.*, 2013). Contudo, é um indicador de contaminação orgânica, e não só microbiana, uma vez que mede a quantidade de ATP, molécula presente em todas as células vivas, em uma dada superfície (HANSEN *et al.*, 2008; ALFA *et al.*, 2013). Assim, as medidas de ATP indicam a qualidade da limpeza, mas não podem ser interpretadas como um indicador direto de contaminação microbiana de superfícies (SHAMA; MALIK, 2013).

De acordo com Rutala e Weber (2008), a cultura microbiológica é o método mais adequado para avaliar a carga microbiana durante a etapa de limpeza, apesar de ser inviável sua utilização rotineira nos serviços de saúde, pois envolve custo elevado e exige mão de obra qualificada, tempo e apoio laboratorial (ALFA *et al.*, 2013). Esta técnica é bastante útil e indicada para ser utilizada por um período determinado na avaliação e validação do processamento de PPS, evidenciando a carga microbiana e o perfil de micro-organismos presentes nestes produtos quando existe disponibilidade dos recursos necessários (HAWRONSKYJ; HOLAH, 1997).

A avaliação de carga microbiana em instrumentais cirúrgicos foi proposta anteriormente por alguns autores em diferentes tipos de instrumentais cirúrgicos utilizados em procedimentos variados, empregando-se culturas bacterianas (NYSTROM, 1981; RUTALA *et al.*, 1998; CHU *et al.*, 1999; VILAS-BOAS *et al.*, 2009). Em geral, foi observada baixa carga microbiana nestes produtos. Em alguns casos, esta variável esteve relacionada ao potencial de contaminação do procedimento nos quais estes materiais haviam sido utilizados.

Considerando o risco ocupacional e de ocorrência de agravos à saúde em pacientes submetidos a procedimentos invasivos relacionados à potencial transmissão de micro-organismos patogênicos e seus subprodutos, a partir de instrumentais cirúrgicos reprocessáveis, torna-se importante determinar se os métodos de limpeza rotineiramente

empregados são eficientes para reduzir a carga microbiana presente nestes instrumentais, a fim de garantir a manipulação segura de produtos reprocessados com qualidade suficiente para assegurar uma assistência ao paciente isenta de danos preveníveis.

Diante do exposto, questiona-se: *Qual é a carga e o perfil microbiológico de micro-organismos recuperados após o uso clínico e durante a limpeza manual e automatizada de instrumentais cirúrgicos utilizados em cirurgias do aparelho digestivo?*

Como possíveis contribuições a serem aplicadas na prática clínica citam-se: maior domínio e conhecimento da equipe da CME com relação às práticas e à eficiência dos métodos de limpeza de instrumentais cirúrgicos adotadas, como o uso de lavadora ultrassônica, soluções de limpeza e lavadora termodesinfectora; e o fornecimento de dados importantes sobre o impacto das diferentes etapas de limpeza na modificação dos níveis de micro-organismos nestes produtos. Esta pesquisa fornece, ainda, dados relativos à carga e ao perfil de micro-organismos presentes nos instrumentais, apontando reflexões sobre a prática cotidiana em CME e a adequação de seus protocolos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo geral

- Avaliar a carga microbiana e o perfil microbiológico de micro-organismos presentes em produtos para a saúde utilizados em cirurgias do aparelho digestivo submetidos a limpeza manual e a limpeza automatizada.

1.1.2 Objetivos específicos

- Determinar a carga microbiana presente em instrumentais cirúrgicos utilizados em cirurgias do aparelho digestivo após o uso clínico e a limpeza manual e automatizada.
- Comparar a carga microbiológica presente nos instrumentais submetidos a limpeza manual e a limpeza automatizada.
- Identificar o perfil microbiológico de micro-organismos recuperados de instrumentais cirúrgicos de acordo com a etapa de limpeza avaliada.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 A etapa de limpeza no processamento de PPS

O processamento de PPS tem se colocado como um desafio que exige qualificação técnica e treinamento constante por parte dos profissionais, diante do aumento na complexidade destes produtos, *design* diversificado e as novas tecnologias disponíveis nesta área.

A prática do processamento de PPS reutilizáveis requer que se garanta com segurança a esterilidade destes, a fim de evitar eventos adversos resultantes de sua contaminação (RUTALA; WEBER, 2008). Eventos adversos são definidos como complicações indesejadas decorrentes do cuidado prestado aos pacientes não atribuídas à evolução natural da doença de base, as quais podem decorrer de uso inadequado de equipamentos, sobrecarga de trabalho, inexperiência ou erro de comunicação entre a equipe dos profissionais e introdução de novas tecnologias, dentre outros fatores (GALLOTTI, 2004). PPS passíveis de processamento, após sua utilização, devem ser submetidos às etapas de limpeza, inspeção, desinfecção/esterilização, empacotamento, transporte e armazenamento, para posterior reutilização (BRASIL, 2012; NHS ESTATES, 2013) reduzindo, assim, o risco de transmissão de IRAS durante a assistência ao paciente.

A etapa de limpeza deve sempre preceder a qualquer processo de desinfecção ou esterilização, independente do método a ser posteriormente empregado para o alcance desta finalidade (ALFA, 2000), não podendo ser omitida ou substituída por processos de desinfecção ou esterilização isoladamente, uma vez que a qualidade do produto final é fortemente dependente da eficácia da limpeza realizada anteriormente (AAMI, 2005; RUTALA; WEBER, 2008; VEERABADRAN; PARKINSON, 2010; AORN, 2013; NHS ESTATES, 2013).

A limpeza é definida como a etapa do processamento de PPS na qual deve ocorrer a

[...] remoção de sujidade orgânica e inorgânica além de uma redução da carga microbiana por meio da utilização de água, detergentes, produtos e outros acessórios, por ação mecânica (manual ou automatizada), devendo incluir superfícies internas (lúmens) e externas de forma a tornar o produto seguro para o manuseio e preparado para desinfecção ou esterilização (BRASIL, 2012).

O excesso de contaminantes orgânicos e inorgânicos, ocasionado pela limpeza e enxágue inadequados, podem significativamente reduzir a efetividade do processo

microbicida subsequente, atuando como proteção para micro-organismos contra agentes esterilizantes (AAMI, 2005; RUTALA; WEBER, 2008).

Para a realização de um processo de limpeza efetivo, é necessário que os serviços disponham de local e estrutura física adequados, recursos humanos capacitados com conhecimento técnico atualizado e protocolos elaborados com base em material científico atualizado, divulgado e disponível para consulta (AAMI, 2011; BRASIL, 2012; SOBECC, 2013).

A limpeza é um processo que prevê várias etapas interdependentes. Sofre influência direta de diversos fatores, como: qualidade e temperatura da água, qualidade, concentração e tipo de detergente ou limpador enzimático empregado, método de limpeza recomendado, preparo dos itens a serem esterilizados, adequação aos parâmetros de tempo, temperatura e capacidade de carga dos equipamentos utilizados, enxágue e secagem apropriados (AAMI, 2005), carga microbiana, presença de matéria orgânica ou inorgânica e biofilmes (RUTALA; WEBER, 2008).

Medidas de higienização e de redução de resíduos podem ser aplicadas em PPS reutilizáveis precocemente durante sua utilização em procedimentos cirúrgicos e antes de serem transportados até a CME, com a realização de um conjunto de medidas conhecidas como “pré-limpeza” (RUTALA; WEBER, 2008; AAMI, 2011; BRASIL, 2012; AORN, 2013).

2.1.1 Pré-limpeza

A pré-limpeza tem por objetivo remover a sujidade visível em PPS imediatamente após o seu uso (BRASIL, 2012). Consiste na aplicação de medidas voltada para evitar o ressecamento da sujidade e contaminantes, facilitando sua remoção posterior, aumentando a qualidade do processo de limpeza e prevenindo a formação de biofilme (RUTALA; WEBER, 2008; BRITISH COLUMBIA, 2011; AAMI, 2011; AORN, 2013). Estas medidas de limpeza devem ser iniciadas durante o ato cirúrgico, com a utilização de compressas embebidas em água estéril, para a remoção da sujidade grosseira (AORN, 2013).

A umidificação de PPS após seu uso clínico previne a adesão de matéria orgânica a estes materiais, sobretudo naqueles que devem ser transportados a longas distâncias ou que não podem ser processados logo após o uso (PENNA *et al.*, 1999; PENNA; FERRAZ, 2000; MULLANEY, 2008; RUTALA; WEBER, 2008). Resíduos de sangue e fluidos corporais

secos em PPS tornam-se extremamente difíceis de serem removidos e tendem a se acumular em articulações, dobradiças, sulcos e outros locais de difícil acesso, o que dificulta a limpeza, possibilita a formação de manchas e corrosão ao longo do tempo e favorece a formação de biofilme, podendo comprometer a esterilização (AAMI, 2005; AORN, 2013).

Segundo Lipscomb *et al.*(2007), o mecanismo de adesão de resíduos proteicos à superfície de instrumentais cirúrgicos pode ser esquematicamente dividido em três fases: *fase 1*- período em que pouco contaminante é adsorvido ou fixado ao instrumental; *fase 2* – observa-se uma inflexão na curva de adsorção, seguida por um rápido aumento de proteínas aderidas umas as outras; e *fase 3* – de platô, em que aparentemente, toda a adsorção foi completada e os resíduos se tornam firmemente aderidos à superfície, conseqüentemente, tornando-se mais difíceis de serem removidos. O aumento da temperatura atua acelerando este processo (LIPSCOMB *et al.*, 2007). Para o mesmo autor, há evidências de que trinta minutos após a impregnação da sujidade decorrente do ato cirúrgico, a adesão da matéria orgânica e demais resíduos se torna consolidada o suficiente para não ser removida com simples imersão em água destilada.

O agente de limpeza que será empregado durante esta etapa também pode interferir na capacidade de remoção de resíduos aderidos à superfície de PPS. Em instrumentais mantidos sem umidificação após o procedimento cirúrgico, Secker *et al.* (2011) observaram aumento da adsorção de proteínas, o que interferiu na etapa de limpeza após quinze minutos quando se utilizou água destilada como agente de limpeza e trinta minutos e uma hora para dois diferentes detergentes enzimático avaliados.

A utilização de umidificação após o uso de instrumentais cirúrgicos promove redução significativa da contaminação residual, favorecendo as etapas de limpeza posteriores (LIPSCOMB *et al.*, 2007; SHOEMAKE; STOESSEL, 2007; RUTALA; WEBER, 2008; BRASIL, 2009; Secker *et al.*, 2011; AORN, 2013). A imersão em recipientes contendo solução de água morna potável (entre 30°C e 40°C) e detergente pode ser utilizada (BRASIL, 2009). Contudo, estes recipientes podem atingir um peso excessivo tornando seu transporte difícil e arriscado. Quando empregados líquidos para a umidificação de instrumentais, estes devem ser desprezados antes do transporte, minimizando o risco de extravasamento e diminuindo o peso do container, o que torna o transporte mais fácil e com menor probabilidade de ocorrência de injúrias aos profissionais (AORN, 2013).

Atenção deve ser dispensada ao tipo de solução, não sendo recomendadas a utilização de solução salina e a imersão por tempo prolongado, pelo potencial de causarem danos aos materiais, como manchas e corrosão (BRITISH COLUMBIA, 2011). Outras opções são: utilização de tecido umedecido com água e formulações disponíveis no mercado com espuma ou spray contendo agentes de limpeza que podem ser empregados para cobrir o material e mantê-lo úmido até que seja realizado seu transporte para áreas específicas destinadas a limpeza (BRITISH COLUMBIA, 2011; AORN, 2013).

Esta etapa se faz necessária porque, na maioria dos serviços, estes instrumentais não podem ser processados logo após o uso, devido ao excesso de materiais que se acumulam após os procedimentos cirúrgicos e à necessidade de transportá-los até as CME. No entanto, há que se considerar os aspectos essenciais relacionados à umidificação do instrumental, de forma que seja possível seu transporte até o destino final na CME, sobretudo quando esta se localiza distante do centro cirúrgico.

Em geral, o instrumental cirúrgico utilizado nos procedimentos é recolhido e mantido por determinado tempo, até que um volume maior seja otimizado no transporte. Este aspecto pode variar de acordo com o protocolo de cada instituição, o tipo de fluxo do material, a localização e a distância entre CME e centro cirúrgico. O transporte de grande quantidade de PPS pode ser realizado utilizando-se carrinhos ou contêineres de transporte, de forma que estes produtos não fiquem expostos ao ambiente (AORN, 2013). Devem ainda ser utilizados fluxos que não permitam o cruzamento com materiais processados ou áreas de prestação de assistência ao paciente, evitando a contaminação cruzada (BRITISH COLUMBIA, 2011). Estes instrumentais devem ser acondicionados em recipientes resistentes a perfuração, prevenindo o vazamento de líquidos e reduzindo o risco de injúria e de exposição a agentes infecciosos pelos profissionais, além de danos aos instrumentais (BRITISH COLUMBIA, 2011; AORN, 2013).

Após os cuidados iniciais, os instrumentais seguem para processamento na CME. No Brasil, a estrutura física destas unidades segue as especificações da RDC 50, de 21 de fevereiro de 2002, que regula o planejamento, a programação, a elaboração e a avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde. Barreiras físicas devem estar presentes entre a área de recepção e a de limpeza, consideradas sujas, e as demais áreas limpas, de forma que as atividades realizadas em cada uma delas não mantenham contato entre si, minimizando a possibilidade de contaminação cruzada decorrente da formação de

aerossóis durante os procedimentos de limpeza e entre matérias limpas e sujas (BRASIL, 2012; AORN, 2013). Na CME, a limpeza é realizada empregando-se diversos acessórios, agentes de limpeza e equipamentos que auxiliam na remoção da sujidade.

2.1.2 Agentes e soluções empregados na limpeza de PPS

Na área destinada à recepção e à limpeza destes produtos, os itens precisam ser removidos dos contêineres, ordenados e desmontados quando necessário/recomendado (AAMI, 2005), a fim de facilitar o acesso das soluções de limpeza a todas as partes do instrumental: fendas, serrilhas, articulações e lúmens. A desmontagem destes produtos é importante para garantir o contato direto entre a superfície e os germicidas, permitindo a descontaminação destes produtos (RUTALA; WEBER, 2008).

Em instituições de saúde devem ser empregados apenas agentes de limpeza especialmente formulados e rotulados para esta finalidade (SHOEMAKE; STOESSEL, 2007; BRASIL, 2012). De forma ideal, estes produtos devem apresentar as seguintes características: produção de pouca espuma, rinsabilidade, biodegradáveis, atóxicos, solúveis em água e não abrasivos, provocar a dispersão rápida e demonstrar eficácia em todos os tipos de sujidade e estar isento de substâncias químicas que sejam prejudiciais aos seres humanos ou que os exponham a situação de risco (AAMI, 2005; BRASIL, 2012; SMITH *et al.*, 2012; NHS ESTADOS UNIDOS, 2013).

Para cada etapa de limpeza e tipo de instrumental a ser limpo, devem ser selecionados agentes de limpeza adequados, evitando a ocorrência de danos a estes materiais. Estes agentes são produzidos a partir da combinação de alguns componentes básicos com diferentes funções (SHOEMAKE; STOESSEL, 2007; SMITH *et al.*, 2012):

- Água - solvente mais comumente utilizado, fornece a base para a maioria das soluções de limpeza.
- Surfactantes - substâncias tensoativas que aumentam a eficácia da limpeza, pela redução da tensão superficial, desprendem matéria orgânica e emulsificam gorduras, mantendo-as em suspensão até o enxágue.
- Tampões - proporcionam melhor compatibilidade com os materiais e inibem a corrosão.

- Agentes quelantes - reduzem os efeitos negativos potenciais da água pesada por meio de ligação a íons, prevenindo a deposição destes compostos nos instrumentais durante a limpeza.
- Detergentes - mantêm os debris, ou fragmentos da sujidade, desprendidos, em suspensão, prevenindo sua redeposição no dispositivo e facilitando o enxágue.
- Agentes sequestradores - removem vários metais e desestabilizam biofilmes.
- Enzimas: aumentam a eficácia da limpeza, agilizam o processamento e ajudam a minimizar a necessidade de escovação manual, uma vez que auxiliam no desprendimento de matéria orgânica.

As soluções de limpeza disponíveis para aplicação em PPS são preparadas utilizando-se a água como solvente para a diluição, principalmente, de detergentes e produtos enzimáticos.

A qualidade da água utilizada em todas as etapas do processamento exige preocupação vital, uma vez que suas propriedades têm influência direta nos resultados obtidos, podendo afetar a funcionalidade, a efetividade e a vida útil de equipamentos de processamento automatizados quando contém impurezas (SEAVEY, 2013; NHS ESTATES, 2013). Os fatores - chave a serem considerados na avaliação da qualidade da água são: dureza, temperatura, íons, contaminação microbiana, endotoxinas bacterianas e pH, que deve estar entre 5.5 e 8 (BRASIL, 2011; SOBECC, 2013; NHS ESTATES, 2013).

A água dura é causada pela presença de metais alcalinos terrosos dissolvidos (cálcio, magnésio e estrôncio), que se desprendem na solução e são depositados em camadas quando a água é aquecida ou evaporada podendo levar a corrosão de material, efeitos tóxicos, reações inflamatórias e a inativação de desinfetantes e detergentes (PENNA e FERRAZ, 2000; BRASIL, 2011; NHS ESTATES, 2013).

A água potável pode ser utilizada durante o processamento de PPS (BRASIL, 2012). No Brasil, os padrões de potabilidade da água são regidos pela Portaria 2914, de 12 de dezembro de 2011 (BRASIL, 2011). O tratamento da água utilizada durante o processo de limpeza pode ser realizado de várias formas. Filtros de sedimentos são camadas de fibras contendo poros que retêm partículas grosseiras, como ferro e manganês (SOBECC, 2013). Os purificadores à base de troca, ou abrandadores, promovem a substituição de íons de cálcio e magnésio por íons de sódio resultando, em água mole (SEAVEY, 2013; SOBECC, 2013;

NHS ESTATES, 2013). Os deionisadores removem praticamente todos os íons dissolvidos, por meio de troca de íons, utilizando uma combinação de cátions e ânions (SEAVEY, 2013; SOBECC, 2013; NHS ESTATES, 2013). A destilação é alcançada por meio do aquecimento da água até o ponto de ebulição e do subsequente resfriamento, retornando à fase líquida. A osmose reversa remove quase todos os contaminantes inorgânicos, por meio da passagem da água por uma membrana semipermeável, sob pressão, contra um gradiente osmótico (SEAVEY, 2013; SOBECC, 2013; NHS ESTATES, 2013). Ela remove bactérias, endotoxinas e cerca de 95% de contaminantes químicos (NHS ESTATES, 2013).

A temperatura da água empregada durante o processamento de PPS também deve ser monitorada, uma vez que sua utilização nas primeiras etapas da limpeza em temperatura elevada pode levar à coagulação de sangue e proteínas, possibilitando sua fixação à superfície dos itens processados, dificultando a remoção destes resíduos e a inativação de enzimas. Seu uso abaixo da temperatura recomendada prejudica a habilidade do detergente na remoção de sujidades compostas por gorduras e óleos (SHOEMAKE; STOESSEL, 2007; BRASIL, 2012; NHS ESTATES, 2013). Recomenda-se a utilização de água nesta etapa a uma temperatura que varia entre 30°C e 40°C (BRASIL, 2009).

Detergentes são produtos químicos que contêm em sua formulação a combinação de diversos agentes com funções de limpeza específicas durante a etapa de limpeza, como surfactantes, substâncias abrasivas, agentes sequestradores, umectantes e emulsificantes, que suspendem a sujidade e evitam a formação de compostos insolúveis ou de espuma no instrumental ou na superfície (BRASIL, 2012; SMITH *et al.*, 2012).

As soluções de limpeza ajudam na remoção de sujidade. Contudo, os instrumentais precisam estar completamente livres destes produtos após a etapa de enxágue (RUTALA; WEBER, 2008; NHS ESTATES, 2013). Dessa forma, a utilização de detergentes com baixa formação de espuma é amplamente recomendada, uma vez que são mais fáceis de serem removidos durante esta etapa (AORN, 2013).

Os detergentes alcalinos, com pH variando entre 8.0 e 11.0, são preferidos para a maioria das aplicações, pois a alcalinidade melhora a eficácia do detergente. Na medida em que aumenta sua capacidade inerente de limpeza, neutralização, ajuda na remoção de resíduos ácidos e na emulsificação de óleos e gorduras além de atuar em sinergismo com outros componentes do detergente (RUTALA; WEBER, 2008; SOBECC, 2013; NHS ESTATES,

2013). Estes detergentes, em geral, demandam maior temperatura para ação (60°C e 70°C), limitando sua utilização na limpeza manual (SOBECC, 2013).

Detergentes neutros, que possuem baixa formação de espuma e são fáceis de enxaguar, podem ser utilizados para a limpeza tanto manual quanto a automatizada, desde que não haja contraindicação pelo fabricante do produto a ser esterilizado (AORN, 2013) ou presença de grande quantidade de matéria orgânica (SOBECC, 2013). Detergentes utilizados comumente em lavadoras automatizadas podem ter pH alcalino ou neutro e devem ser capazes de realizar limpeza efetiva a temperaturas elevadas (SHOEMAKE; STOESSEL, 2007).

As formulações de detergentes podem ser acrescidas de enzimas que tem a função de catalizar as reações, degradando substratos específicos e ajudando na remoção de matéria orgânica (RUTALA; WEBER, 2008). No Brasil, os detergentes enzimáticos devem atender às exigências da RDC 55, de 2012. Estes produtos devem conter pelo menos uma enzima hidrolítica da subclasse das proteases EC.3.4, podendo se adicionar ainda amilases e lipases entre outras enzimas (BRASIL, 2012).

Existem várias enzimas disponíveis. Cada uma atua em determinado tipo de sujidade. As enzimas catalisam reações, degradando substratos específicos, desde que o complexo enzimático contido no detergente esteja em condições ativas dentro da formulação (BRASIL, 2012). Estes produtos agem rapidamente em pH neutro e devem ser utilizados a temperatura ambiente ou aquecida, respeitando-se o limite de 45°C (SHOEMAKE; STOESSEL, 2007).

Os detergentes não dispensam a ação mecânica, por meio da fricção com escovas e esponjas, jatos de água ou energia ultrassônica. As recomendações em relação a qualidade da água utilizada para o preparo da solução (pH, condutividade e dureza), diluição, temperatura e tempo de imersão dos produtos devem estar contidas no rótulo do produto e seguidas durante o preparo da solução de limpeza (PENNA; FERRAZ, 2000; SHOEMAKE; STOESSEL, 2007; BRASIL, 2012). Os detergentes enzimáticos não devem permanecer expostos a altas temperaturas durante o armazenamento, o que pode alterar a concentração química nestes produtos (DURO, 2013).

Alguns agentes utilizados durante a limpeza, podem aumentar a adesão de resíduos à superfície de PPS, por meio da desnaturação de proteínas, tornando a limpeza muito mais difícil. A utilização de álcool etílico e isopropílico nesta etapa facilita a fixação de sangue a instrumentais de aço inoxidável, dificultando o processo de limpeza e remoção destes

resíduos, sendo que o álcool etílico a 75% reduz a remoção de sangue humano destes materiais em mais de 60% (PRIOR *et al.*, 2004).

Uma vez selecionadas as soluções para a realização dos procedimentos de limpeza, deve-se definir o método adequado para cada tipo de material a ser processado.

2.1.3 Métodos de limpeza

O método escolhido para a limpeza de qualquer instrumental deve estar em conformidade com o tipo de material e com as recomendações do fabricante, a fim de evitar alterações de funcionalidade destes (AAMI, 2005; AORN, 2013). A limpeza completa de PPS pode se dar de forma manual ou automatizada ou pela combinação destes dois métodos (MULLANEY, 2008; VEERABADRAN; PARKINSON, 2010; BRITISH COLUMBIA, 2011; BRASIL, 2012; ALFA, 2013; AORN, 2013). Independente do método, a realização desta etapa requer a utilização de produtos de limpeza próprios, para garantir que todas as superfícies, interna e externa, tenham uma carga reduzida de micro-organismos (SHOEMAKE; STOESSEL, 2007).

A limpeza manual é utilizada para produtos delicados, complexos ou que não podem ser processados por métodos automatizados ou na ausência destes, apesar da exigência da RDC 15 de lavadora ultrassônica em todas as CME (RUTALA; WEBER, 2008; BRITISH COLUMBIA, 2011; BRASIL, 2012; DEPARTMENT OF HEALTH, 2013; SOBECC, 2013).

O método manual envolve a combinação de fricção, escovação e imersão em soluções de limpeza (LEWIS; MCINDOE, 2004; MULLANEY, 2008; DEPARTMENT OF HEALTH, 2013; SOBECC, 2013). Durante sua execução, é necessário a preparação de um recipiente contendo a solução composta por água e detergente, respeitando-se a concentração e temperatura indicados pelo fabricante, com um volume suficiente para que os instrumentais sejam totalmente submersos (SHOEMAKE; STOESSEL, 2007; BRASIL, 2009; AORN, 2013; DEPARTMENT OF HEALTH, 2013). A utilização de concentração abaixo do recomendado diminui a eficácia da limpeza. Concentrações acima do preconizado tornam os instrumentais mais difíceis de enxaguar (SHOEMAKE; STOESSEL, 2007). Nos serviço de processamento, torna-se útil a marcação no recipiente utilizado para preparo da solução de limpeza, a fim de mensurar o volume de água e de detergente necessário para atingir a concentração indicada, além de termômetro, livre de mercúrio, para monitorar a temperatura

da água durante o processo, como referido anteriormente (DEPARTMENT OF HEALTH, 2013).

Preparada a solução, os itens devem ser submersos totalmente para fricção, irrigação e limpeza (LEWIS; MCINDOE, 2004). O excesso de água nestes instrumentais previamente à imersão pode acarretar a diluição e diminuição da efetividade da solução. Deve ser respeitado o tempo mínimo de contato entre a solução de limpeza e o instrumental de três minutos ou conforme orientação do fabricante (BRASIL, 2009). A manutenção dos instrumentais por tempo muito prolongado pode levar a danos aos materiais e permitir o crescimento microbiano na solução (SHOEMAKE; STOESSEL, 2007).

A superfície externa deve ser friccionada com esponja macia, não abrasiva, pelo menos cinco vezes, do sentido proximal para o distal (BRASIL, 2009). Em materiais contendo lúmen deve ser injetada solução de limpeza com uma seringa de 20ml, com a utilização de escovas especiais de cabos longos e cerdas plásticas macias ajustadas ao tamanho do lúmen que evitam a formação de aerossóis quando utilizadas adequadamente (BRASIL, 2009; AORN, 2013; DEPARTMENT OF HEALTH, 2013). Os lúmens devem sofrer fricção da superfície interna pelo menos cinco vezes ou até que a sujidade seja totalmente removida, também do sentido proximal para o distal (BRASIL, 2009). Ainda assim, tanto a escovação quanto a utilização de água corrente podem resultar em aerossolização e respingos de material infeccioso (AORN, 2013).

As escovas utilizadas nesta etapa, quando não forem de uso único, devem ser lavadas em solução com detergente e água, para a remoção de sujidades visíveis, e armazenadas em local seco (BRITISH COLUMBIA, 2011). Estes materiais devem ser substituídos no intervalo recomendado pelo fabricante ou antes se foi possível observar sua deterioração (DEPARTMENT OF HEALTH, 2013), uma vez que a ação mecânica é fundamental para o resultado do processo de limpeza. Escovas em más condições são ineficientes e podem danificar os materiais (SOBECC, 2013). O custo muito elevado destes dispositivos leva alguns serviços a substituírem seu uso por produtos similares, até mesmo aqueles de uso doméstico, com preços mais acessíveis, disponíveis no mercado. Contudo, a efetividade destes produtos na redução de resíduos merece questionamento, uma vez que escovas para limpeza de PPS são especialmente fabricadas com esta finalidade, exibindo diferentes conformações e tamanhos, que levam em conta o *design* dos produtos a que são destinados, promovendo, provavelmente, uma limpeza mais efetiva.

Durante a limpeza manual, os profissionais devem resguardar-se para evitar acidentes durante o procedimento, garantindo sua segurança pelo uso de equipamento de proteção individual (EPI): gorro, máscara, avental e sapatos impermeáveis de mangas longas, luvas de borracha de cano longo, óculos protetores e protetor auditivo na presença e utilização de gás comprimido (SHOEMAKE; STOESSEL, 2007; MULLANEY, 2008; RUTALA; WEBER, 2008; AAMI, 2011; BRASIL, 2012; SOBECC, 2013). Todo o EPI deve ser retirado antes do profissional deixar a área de limpeza (SHOEMAKE; STOESSEL, 2007).

Apesar de conhecidos todos os passos para o alcance da efetividade da limpeza manual, esta tem sido questionada em razão das variações de técnicas que podem ocorrer entre os profissionais, por ser mais trabalhosa e consumir mais tempo, oferecer maior risco ocupacional e possibilitar o aumento na disseminação ambiental de micro-organismos (AAMI, 2005; AORN, 2013; SOBECC, 2013).

A literatura aponta uma superioridade dos métodos automatizados com relação aos métodos manuais a partir da comparação de diferentes parâmetros de verificação de limpeza (carga microbiana, hemoglobina, proteína, carboidratos e endotoxinas) em diversos PPS: tesouras laparoscópicas e pinças (ALFA e NEMES, 2004), papilótomos triplo lúmen (ALFA e NEMES, 2003) e pinças de biopsia (ALFA *et al.*, 2006).

Sempre que possível, a limpeza deve ser realizada utilizando-se um processo automatizado e validado, ao invés da limpeza manual (BRITISH COLUMBIA, 2011; AORN, 2013; DEPARTMENT OF HEALTH, 2013). O método automatizado remove a sujidade de maneira eficiente, promove a limpeza adequada de áreas difíceis de serem alcançadas de forma consistente, utilizando métodos manuais e provendo parâmetros de limpeza e enxágue durante o processo (AORN, 2013). Com isso, aumenta a produtividade e a efetividade da limpeza, sendo assim mais fáceis de serem validados. A utilização destes equipamentos auxilia na remoção de matéria orgânica, reduz a carga microbiana e pirógenos e aumenta a segurança no processamento de PPS. Contudo, como qualquer equipamento, eles estão sujeitos a falhas no sistema ou de operação.

De acordo com a RDC 15, art.67, a limpeza de PPS com conformação complexa, ou seja, que possuem lúmen inferior a cinco milímetros, fundo cego ou espaço interno inacessível para a fricção direta, reentrâncias e válvulas deve ser precedida de limpeza manual e complementada por limpeza automatizada em lavadora ultrassônica ou outro equipamento de eficiência comprovada. Para PPS com diâmetro inferior a cinco milímetros é obrigatória a

fase automatizada em lavadora ultrassônica com conectores para canulados e utilização de tecnologia de fluxo intermitente (BRASIL, 2012; SOBECC, 2013). Quando não há fluxo direto no lúmen do dispositivo, a matéria orgânica em seu interior não pode ser removida mesmo quando exposto a sonicação ou a um ciclo em lavadora automatizada completo (ALFA; NEMES, 2004; ALFA *et al.*, 2010).

Em geral, os métodos automatizados são utilizados de forma complementar após a remoção da sujidade grosseira por limpeza manual (AAMI, 2011; AORN, 2013). Estes equipamentos removem sujidade e micro-organismos por meio de lavação e enxágue automatizados. Cada estágio de limpeza precisa contribuir para a redução da carga microbiana nos PPS que estão sendo processados (DEPARTMENT OF HEALTH, 2013).

O carregamento de instrumentais antes de cada ciclo em equipamentos automatizados deve ser feito de forma cuidadosa, para que a limpeza seja realizada de modo efetivo, observando-se a necessidade de que o equipamento não esteja sobrecarregado e os instrumentais não sejam sobrepostos e estejam desmontados quando possível e abertos quando possuírem articulações, permitindo o contato adequado com os agentes de limpeza e conectados quando requerem sistema de irrigação (RUTALA; WEBER, 2008; DEPARTMENT OF HEALTH, 2013).

A limpeza automatizada pode ser realizada por lavadoras ultrassônicas e lavadoras descontaminadoras (esterilizadoras e desinfectoras) (RUTALA; WEBER, 2008; AORN, 2013). Cada um destes equipamentos será descrito a seguir.

- *Lavadora ultrassônica*

As lavadoras ultrassônicas são utilizadas como um método de limpeza de instrumentais previamente enxaguados, para a remoção de sangue e outras sujidades visíveis, e antes da limpeza, em lavadoras desinfectoras validadas (NHS ESTATES, 2013). O efeito de limpeza observado na utilização de lavadoras ultrassônicas em meio líquido está relacionado a um processo conhecido como “cavitação”, que consiste em ondas de energia sonora de alta frequência, que, propagadas em meio aquoso, criam minúsculas bolhas na superfície dos instrumentais que se expandem até colapsarem, produzindo áreas localizadas de vácuo que deslocam os contaminantes (JATZWAUK *et al.*, 2001; RUTALA;WEBER, 2008; NHS ESTATES, 2013).

A limpeza realizada por lavadoras ultrassônicas sofrem influência da frequência e intensidade de sonicação, temperatura, presença de detergente na solução, tempo (JATZWAUK *et al.*, 2001) e tipo de sujidade e de instrumental, além da desgaseificação, que consiste em um processo realizado para liberar o ar contido nas bolhas na solução de limpeza. O funcionamento destes equipamentos pode ser testado por meio da formação de erosão em lâminas de alumínio imersas em banho ultrassônico por um curto período de tempo e a validação exige a realização de testes para verificação das funções de cavitação, dosagem, controle de temperatura, drenagem e fluxos capazes de promover a limpeza, calibração e qualidade da água (NHS ESTATES, 2013).

No Brasil, a RDC 15/2012 estabelece a obrigatoriedade da utilização de lavadoras ultrassônicas em CME para processamento de produtos de conformação complexa e para aqueles que possuam lúmen inferior a 5mm. Nestes equipamentos, os instrumentais são depositados em um cesto interno e submersos em solução de limpeza previamente preparada e então são submetidos a um ciclo de dez minutos em geral (DEPARTMENT OF HEALTH, 2013). Devem ser empregados detergentes com baixa formação de espuma (AORN, 2013). A adição de detergentes neutros contribui para que as ondas sonoras sejam transmitidas de forma eficiente. Após o término do ciclo, o cesto vazado contendo os instrumentais deve ser drenado para realização do enxágue ou para um próximo passo de limpeza, conforme o protocolo da instituição.

A frequência de troca da solução de detergente enzimático utilizada é um item de grande importância a ser considerado. O acúmulo de matéria orgânica satura a solução, reduzindo sua eficácia. A presença de proteínas contidas na formulação destes produtos pode atuar como nutriente para micro-organismos (SOBECC, 2013).

As recomendações relativas à frequência correta de troca de soluções de detergentes enzimáticos diferem conforme a fonte consultada e não apontam para uma orientação clara e consistente. A maioria das referências internacionais afirma que a solução deve ser verificada a cada ciclo e trocada de acordo com a turvação do meio ou pelo menos diariamente ou ainda de acordo com as instruções do fabricante (BRITISH COLUMBIA, 2011; AAMI, 2011; AORN, 2013; DEPARTMENT OF HEALTH, 2013; SOBECC, 2013). A RDC 55/2012, que regulamenta no Brasil o uso e a comercialização de detergentes enzimáticos, recomenda a utilização destes produtos logo após o preparo e alerta para a perda de eficiência em caso de reutilização sem, no entanto explicitar a necessidade da troca a cada uso (BRASIL, 2012).

Apesar de sua indicação e se sua potencial efetividade, a contaminação interna dos cestos, da solução e dos próprios instrumentais submetidos a limpeza em lavadora ultrassônica pode interferir na qualidade da limpeza alcançada. A falta de um protocolo de uso que defina a frequência de troca, treinamento e supervisão desta tarefa pode levar ao acúmulo de micro-organismos nestes equipamentos, inclusive bactérias Gram negativo, cujo crescimento e morte podem levar à liberação de endotoxinas, que são resistentes ao calor e não podem ser removidas por esterilização a vapor. Portanto, estes equipamentos devem ser limpos quando visivelmente sujos e, pelo menos diariamente, com a utilização de álcool que previne o crescimento microbiano (AORN, 2013).

- *Lavadoras descontaminadoras*

As lavadoras descontaminadoras preparam o material para a esterilização e o tornam seguro para a manipulação durante a etapa de inspeção (BRITISH COLUMBIA, 2011; AORN, 2013; NHS ESTATES, 2013). Estes equipamentos podem possuir uma única câmara, na qual todos os estágios do ciclo são realizados em um mesmo local, ou múltiplas câmaras, nas quais os diferentes estágios (limpeza, desinfecção e secagem) são realizados em vários compartimentos (AORN, 2013; NHS ESTATES, 2013). As lavadoras descontaminadoras incluem as lavadoras esterilizadoras e desinfectoras (AORN, 2013).

Lavadoras esterilizadoras - realizam a limpeza dos instrumentais por meio de ciclos que incluem pré enxágue com água morna, limpeza a alta temperatura e enxágue. Finalmente, os instrumentais são submetidos a um pequeno ciclo de esterilização a vapor (RUTALA; WEBER, 2008; AORN, 2013).

As lavadoras desinfectoras - podem realizar a etapa microbida do processo de forma química ou térmica (AORN, 2013). Para as lavadoras desinfectoras químicas a limpeza é alcançada pela exposição a algum desinfectante químico por um tempo predeterminado, atingindo uma temperatura máxima de 60°C seguido de uma etapa de enxágue (LEWIS; MCINDOE, 2004). Em lavadoras termodesinfectoras, a desinfecção é alcançada por meio da ação de calor úmido, mantido sobre uma superfície. O uso de lavadoras termodesinfectoras é considerado um método seguro para o processamento de PPS. Compõe-se de vários estágios, que podem variar de acordo com o modelo e o fabricante (AORN, 2013). Tipicamente, estes equipamentos incluem os seguintes estágios (AORN, 2013; DEPARTMENT OF HEALTH, 2013; ALFA; OLSON, 2014):

- Enxágue/descarga - ocorre a remoção da contaminação grosseira, incluindo sangue, tecidos, fragmentos ósseos e outras sujidades. A temperatura deve oscilar entre 30° C e 45°C, evitando a coagulação de proteínas e maior adesão ao material, uma vez que os instrumentais ainda abrigam bastante matéria orgânica.
- Limpeza - é realizada por meio da pulverização com detergente em parte do ciclo programado para a remoção da sujidade restante. O processo químico e mecânico quebra e solta a contaminação aderida à superfície do instrumental. O detergente empregado deve ser adequado para a utilização em lavadoras desinfectoras, evitando a degradação do instrumental.
- Enxágue - deve ser feita a remoção do detergente utilizado no processo de limpeza, bem como de eventuais partículas ainda agregadas à superfície dos materiais, evitando a formação de manchas e/ou alterações de funcionalidade. A qualidade da água deve ser considerada, para garantir um produto seguro após a esterilização.
- Desinfecção térmica - a temperatura da carga é elevada e mantida a certa temperatura e tempo determinados que resultam num valor de A_0 . Para instrumentais críticos um valor de $A_0 = 600$ é recomendado e pode ser alcançado pela combinação de 10 minutos de exposição a 80°C - 85°C ou 1 minuto a 90°C - 95°C (NHS ESTATES, 2013).
- Secagem - ocorrem a limpeza da carga e da câmara com ar aquecido e a remoção da umidade residual (NHS ESTATES, 2013).

A utilização de equipamentos automatizados, apesar de representar grande avanço tecnológico na área de limpeza de PPS, não exclui a necessidade de instalação correta e de manutenção regular para garantir seu bom e adequado funcionamento. As especificações para o funcionamento e a manutenção de lavadoras desinfectoras estão publicadas na ISO 15883. O processo de revalidação destes equipamentos exige a realização de testes que devem ser aplicados anualmente e incluem verificação da funcionalidade e/ou adequação de comandos automatizados, do sistema de água (pureza e presença de endotoxinas), de drenagem, secagem, de descarga de vapor, de admissão de agentes químicos e travamento das portas, do sensor de indicação de falhas, da qualidade do ar, da eficácia de limpeza além da realização de testes termométricos (NHS ESTATES, 2013).

Após a limpeza automatizada em lavadora desinfectora, foi observado aumento dos níveis de carboidratos e endotoxinas em instrumentais cirúrgicos em comparação com de pré

limpeza enquanto os níveis de proteínas e hemoglobinas foram ambos mais baixos (ALFA *et al.*, 2010). Como os altos níveis de endotoxinas e carboidratos não foram observados em todos os ciclos supõe-se que em ciclos, específicos da lavadora desinfectora a água do enxágue final tenha contribuído para este resultado.

2.1.4 Enxágue e secagem

O enxágue e a secagem devem ser garantidos para todos os instrumentais submetidos a limpeza tanto manual quanto automatizada (SHOEMAKE; STOESSEL, 2007; BRASIL, 2009; SOBECC, 2013). Em instrumentais submetidos à limpeza manual, procede-se ao enxágue final com água abundante na superfície dos instrumentais e sob pressão, utilizando-se seringa nos lúmens (BRASIL, 2009).

Água potável, água mole, água deionizada e água de osmose reversa ou destilada podem ser utilizadas durante a limpeza de PPS. Contudo, para o enxágue final deve-se utilizar preferencialmente uma das duas últimas opções, principalmente em instrumentais que entram em contato direto com a corrente sanguínea ou tecidos estéreis, pois remove de forma eficiente a sujidade e resíduos de detergentes, evitando a ocorrência de eventos adversos relacionados a possíveis contaminantes presentes (PENNA *et al.*, 1999; PENNA; FERRAZ, 2000; AAMI, 2005; SHOEMAKE; STOESSEL, 2007; BRASIL, 2009; AORN, 2013; SEAVEY, 2013).

Após o enxágue, os instrumentais devem ser submetidos à etapa de secagem que pode ser realizada com a utilização de material macio, tecido ou não tecido que não libere fibras e com o auxílio de jato de ar comprimido isento de umidade em PPS que apresente lúmen (BRASIL, 2009; AORN, 2013; DEPARTMENT OF HEALTH, 2013; SOBECC, 2013). A utilização de tecidos que soltam fibras pode acarretar a formação de nós em instrumentais delicados, danificando-os, ou pode resultar em contaminação do campo cirúrgico, causando efeitos adversos (SOBECC, 2013). A secagem ao ar livre não é recomendada.

A permanência de umidade em instrumentais cirúrgicos após a etapa de limpeza pode resultar em crescimento microbiano, corrosão do instrumental e prejuízo à etapa de esterilização subsequente (SHOEMAKE; STOESSEL, 2007; AORN, 2013; DEPARTMENT OF HEALTH, 2013; SOBECC, 2013). A recuperação de fungos em níveis de até 10^6 UFC em cateteres de angiografia analisados sugeriu a presença de umidade nestes materiais, permitindo a proliferação destes micro-organismos antes da esterilização (PENNA *et al.*,

1999). Após orientação da equipe sobre a importância de secagem destes materiais após a limpeza, foi detectado desenvolvimento destes contaminantes oportunistas em apenas um cateter avaliado.

Em materiais submetidos a esterilização por vapor saturado sob pressão, a umidade presente na superfície destes pode alterar a qualidade do vapor, potencializando a probabilidade de ocorrência de falhas no processo (AORN, 2013; SOBECC, 2013). Na esterilização por óxido de etileno, sua combinação com água resulta em etileno glicol, que é um produto tóxico que não é removido durante a aeração (AORN, 2013; SOBECC, 2013). O excesso de umidade também impede a ação do peróxido de hidrogênio por meio de interação entre estes dois compostos e pode resultar em abortamento do ciclo de esterilização (AORN, 2013; SOBECC, 2013). Água, celulose e resíduos incrustados no material absorvem o peróxido de hidrogênio no estágio de injeção de vapor, diminuindo o acesso do plasma de peróxido de hidrogênio a carga microbiana e sua destruição (PENNA *et al.*, 1999)

Como a limpeza de instrumentais, principalmente em lavadora ultrassônica, pode ocorrer a remoção dos lubrificantes presentes nestes instrumentais. Após esta etapa, deve ser avaliada a necessidade de aplicação destes produtos. Os lubrificantes previnem a corrosão e diminuem o atrito entre as superfícies do instrumental. Não podem ser aplicados em superfícies sujas, pois ocasionam o enrijecimento das juntas. Os produtos utilizados com esta finalidade devem ser compatíveis com o método de esterilização a ser empregado, uma vez que lubrificantes hidrossolúveis permitem a penetração de vapor durante a esterilização (AORN, 2013).

Uma vez realizada a limpeza o instrumental deve ser avaliado com relação à funcionalidade e permanência de resíduo (BRASIL, 2009; 2012; AORN, 2013; DEPARTMENT OF HEALTH, 2013). A ANVISA recomenda que cada CME realize e disponha de registros do monitoramento e controle de cada uma das etapas de processamento (BRASIL, 2012).

2.1.5 Avaliação da etapa de limpeza

A etapa de limpeza está sujeita a grande variação quanto a sua execução, especialmente quando realizada de forma manual, por permitir grande variabilidade técnica em sua execução, o que dificulta sua padronização (ALFA, 2000). A avaliação das etapas do processamento de PPS é de extrema importância para que se possa garantir que o produto

final esteja estéril e não ofereça riscos adicionais à saúde dos pacientes. A utilização de testes de sujidade diminui riscos que possam estar associados com contaminantes que permanecem nos instrumentais após o processo de limpeza (NHS ESTATES, 2013).

Testes de eficácia são utilizados para demonstrar a habilidade do processo de limpeza em remover ou reduzir sujidade e contaminantes que aderem aos instrumentais durante o uso até níveis aceitáveis (NHS ESTATES, 2013). Os métodos tradicionais de monitorização de limpeza incluem a inspeção visual, ATP bioluminescência e a determinação dos níveis de alguns contaminantes, como carga microbiana, proteínas, carboidratos, hemoglobina e endotoxinas (HAWRONSKYJ; HOLAH, 1997).

A inspeção visual é indicada para avaliar a funcionalidade e a permanência de sujidade em instrumentais após a etapa de limpeza. Trata-se e é uma exigência da RDC 15 (2012) (BRASIL, 2012; SOBECC, 2013). A estratégia consiste na observação minuciosa destes instrumentais, com auxílio de lentes intensificadoras de imagem de, no mínimo oito vezes de aumento (LIPSCOMB *et al.*, 2008; BRASIL, 2009; 2012; AORN, 2013; DEPARTMENT OF HEALTH, 2013). Durante a avaliação do instrumental, é importante manter a limpeza deste e não acrescentar sujidade. Para isso, é recomendada a utilização de superfícies passíveis de desinfecção com álcool 70% para apoiar estes materiais e a utilização de luvas e toucas para evitar a queda de cabelos e a recontaminação destes instrumentais (SOBECC, 2013).

Contudo, a inspeção visual não é um método de avaliação completo. Sua utilização é limitada devido a sua baixa sensibilidade e à subjetividade dos critérios de avaliação, por poder ser influenciada por uma gama de fatores, incluindo intensidade e natureza da iluminação na área de inspeção, e por não permitir conhecer a carga microbiana, a presença de proteínas e outros contaminantes invisíveis a olho nu, produzindo falsa segurança com relação à eficácia da desinfecção (LEWIS *et al.*, 2008; SHAMA; MALIK, 2013; NHS ESTATES, 2013). Para produtos com design complexo, a inspeção visual não é suficiente para estabelecer a eficiência da limpeza, sendo recomendada a complementação com testes químicos (HEATHCOTE; STADELMANN, 2009; BRASIL, 2012; SOBECC, 2013).

A avaliação de 260 instrumentais cirúrgicos comparados pelas técnicas de inspeção visual e de microscopia eletrônica mostrou que não houve concordância entre elas em instrumentais de conformação complexa, sendo os resíduos subestimados por inspeção visual (LIPSCOMB *et al.*, 2006). Instrumentais que apresentaram níveis mais elevados de endotoxinas após sofrerem limpeza em lavadora desinfectora foram julgados limpos por

inspeção visual (ALFA *et al.*, 2010). Assim, a inspeção visual de forma isolada não tem se mostrado suficiente para estabelecer a eficácia de processos de limpeza (GRIFFITH *et al.*, 2007; LEWIS *et al.*, 2008; HEATHCOTE; STADELMANN, 2009; SHERLOCK *et al.*, 2009).

Muita ênfase tem sido dada à utilização de técnicas que oferecem resultados em tempo real, pois possibilitam a tomada de medidas corretivas, mantendo o controle do processo (OBEE *et al.*, 2005; ALFA, 2013).

Inicialmente utilizada pela indústria alimentícia, a recuperação de ATP (adenosina trifosfato) por meio de bioluminescência vem sendo empregada na monitorização de processos de limpeza no setor da saúde (SHAMA; MALIK, 2013), uma vez que o ATP está presente nas células de todos os organismos vivos. Assim, os níveis de ATP funcionam como um rápido indicador da presença de material biológico em superfícies.

A técnica utiliza a produção de luz resultante da reação entre ATP, luciferina e luciferase, para estimar os níveis de ATP presentes numa amostra. Luminômetros são aparelhos que convertem o número de fótons em unidades relativas de luz (RLU), do inglês, *relative light units* (OBEE *et al.*, 2005), produzindo resultado em tempo real (GRIFFITH *et al.*, 2007). Na presença de oxigênio e de íons de magnésio, a luciferina é convertida em oxiluciferina e o ATP em adenosina monofosfato (AMP), com a liberação de pirofosfato e a emissão de luz (SHAMA; MALIK, 2013).

ATP-bioluminescência fornece um método confiável, pois sua utilização é fácil e permite a obtenção de informação para a tomada de medidas corretivas imediatas (GRIFFITH *et al.*, 2007; HANSEN *et al.*, 2008).

A literatura apresenta diferentes valores de referência utilizados na validação de processos de limpeza por ATP- bioluminescência. Estudos realizados na avaliação da limpeza de superfícies hospitalares têm utilizado comumente valores abaixo de 500RLU para considerar que o ambiente esteja limpo (GRIFFITH *et al.*, 2007; SHERLOCK *et al.*, 2009). Contudo, um nível de 250RLU foi sugerida por LEWIS *et al.*, (2008) na avaliação de superfícies de enfermarias. Segundo ALFA *et al.* (2012), um valor de ATP inferior a 200RLU demonstrou apresentar boa correlação com os atuais limiares adotados para limpeza de endoscópios (carga proteica $<2,2\mu\text{g}/\text{cm}^2$, hemoglobina de $2,2\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e carga microbiana $< 4 \log_{10} \text{UFC}/\text{cm}^2$). Na avaliação das etapas de limpeza/desinfecção de instrumentais cirúrgicos,

a utilização de níveis de ATP abaixo de 100 RLU foram considerados adequados para o controle de qualidade deste processo (HANSEN *et al.*, 2008).

O método bioluminescência detecta ATP proveniente de matéria orgânica que pode incluir micro-organismos em geral e proteínas (GRIFFITH, 2000), enquanto métodos microbiológicos detectam micro-organismos viáveis residuais. As medidas de ATP indicam a qualidade da limpeza, mas não podem ser interpretadas como um indicador direto de contaminação microbiana da superfície (SHAMA; MALIK, 2013).

A avaliação de carga microbiana é outra técnica indicada para o monitoramento de processos de limpeza e pode ser executada por meio de análises de culturas microbiológicas. Este método é um importante indicador do processo de validação de limpeza de produtos para a saúde, porém não é comumente utilizado em serviços de processamento de materiais, uma vez que envolve disponibilidade de recursos, acesso a laboratórios de microbiologia (ALFA *et al.*, 2013), tempo (24 a 48 horas para obtenção do resultado) e profissional capacitado (SHAMA; MALIK, 2013). Ainda assim, a determinação da carga microbiana presente nestes instrumentais permanece como um parâmetro bastante adequado de avaliação, por sua interferência nos processos de desinfecção/esterilização. Em geral, emprega-se a coleta com o uso de suabe ou extração de carga microbiana em solução e posterior filtração e cultivo em placas de petri.

A recuperação de proteínas residuais na superfície de PPS também pode ser utilizada como um indicador de qualidade da limpeza (Baxter *et al.*, 2006; LIPSCOMB *et al.*, 2006; NHS ESTATES, 2013). O teste de biureto e o teste de reação de ninidrina podem ser empregados para demonstrar a presença de proteínas em superfícies por meio da mudança de coloração e, também, para determinar a concentração de proteínas por ensaio colorimétrico como espectrometria (NHS ESTATES, 2013).

O teste de biureto emprega a reação de íons de cobre que formam ligações peptídicas sob condições alcalinas. A adição de ácido bicínico ao complexo causa a reação destes íons de cobre, com a formação de uma coloração roxa que pode ser facilmente observada. O teste de ninidrina é baseado na reação de aminoácidos, peptídeos e proteínas com 1,2,3- idantriona mono-hidratada (LIPSCOMB *et al.*, 2006; NHS ESTATES, 2013).

O Tosi® Test consiste em uma superfície de aço inoxidável coberta por uma substância produzida em laboratório que mimetiza o sangue aderido a superfícies de

instrumentais cirúrgicos, funcionando como um simulador de sujidade. A interpretação é feita também a partir de um escore visual.

Estudo realizado em cinco hospitais no Reino Unido com o objetivo de avaliar a carga de proteínas e matéria orgânica total em instrumentais cirúrgicos após a esterilização sugeriu que a limpeza de instrumentais não era padronizada entre os serviços avaliados (Murdoch *et al.*, 2006). Os pesquisadores utilizaram duas metodologias distintas para a recuperação dos resíduos desejados, que foram analisados em dois laboratórios diferentes, denominados A e B. Dos instrumentais testados no laboratório A, 17%, apresentaram níveis de sujidade acima do valor de 200 μ g, definido como valor máximo permitido para considerar que a limpeza estivesse adequada. Para os materiais analisados neste laboratório, a comparação da média de carga proteica residual entre os cinco diferentes hospitais foi significativa ($p < 0.0001$). No laboratório B, a média (intervalo interquartil) do nível de proteínas recuperadas dos instrumentais variou de 8 μ g (hospital C) a 91 μ g (hospital D). Com relação à matéria orgânica residual, variou entre 0,62 μ g (hospital E) e 3.5 μ g (hospital A), também apresentando resultado significativo ($p < 0.0001$) quando comparada entre os hospitais.

Na comparação entre os métodos de detecção de proteína residual, ATP bioluminescência e análise microbiológica antes e depois da etapa de limpeza de endoscópios, a determinação dos níveis de ATP e a cultura microbiológica foram apontados como indicadores úteis na avaliação do nível de sujidade e do grau de limpeza nestes produtos (FUSHIMI *et al.*, 2013).

2.2 Aspectos microbiológicos relacionados ao processamento de PPS

A sobrevivência de micro-organismos nas superfícies de PPS reutilizáveis tem sido evidenciada como um risco potencial relacionado à transmissão de IRAS (BRASIL, 2009; DAMASCENO, 2010). A eliminação completa destes micro-organismos de instrumentais cirúrgicos durante o processamento é um ponto crítico para se alcançar a esterilidade e a segurança dos pacientes nestes procedimentos. Dessa forma, torna-se importante reconhecer o comportamento de micro-organismos durante as diversas etapas do processamento de PPS, para garantir sua completa eliminação.

Bactérias são micro-organismos unicelulares pertencentes ao reino protista. Estruturalmente, estas células apresentam membrana plasmática, DNA, RNA, ribossomos e parede celular, além de outras estruturas variantes a cada espécie, como flagelo, cápsula e

fímbrias. Contudo não possuem núcleo com membrana celular, sendo classificadas como procariotas (VERMELHO, 2007).

A população de micro-organismos comensais participa do metabolismo de produtos alimentares, fornece fatores essenciais de crescimento, protege contra infecções, estimula a resposta imune e não produz doença em seu local original, mas podem, por oportunismo, causar doenças quando introduzidos em sítios desprotegidos (TORTORA *et al.*, 2013b).

A maioria das bactérias cresce e divide-se por fissão binária durante um ciclo celular, no qual ocorrem a duplicação do material genético, a separação dos cromossomos e a divisão celular, originando duas células idênticas e resultando em uma multiplicação de maneira geométrica (VERMELHO, 2007; MADIGAN *et al.*, 2012; TORTORA *et al.*, 2013b). Ao longo destes ciclos de divisão, observa-se aumento no número de células ou massa celular, que pode ser definido como a taxa de crescimento desta população (VERMELHO, 2007).

As bactérias apresentam crescimento exponencial (progressão geométrica do número dois), segundo o qual o número de células duplica em determinado intervalo de tempo. Quando o crescimento bacteriano é representado de forma gráfica, sendo o tempo considerado em escala aritmética e o número de células bacterianas em escala logarítmica (gráfico semilogarítmico), resulta em uma linha reta, sendo esta uma ferramenta importante quando se deseja calcular o tempo de geração. O tempo de geração, ou tempo de duplicação, é o tempo requerido para dobrar uma população de células bacterianas, o qual varia de acordo com cada espécie (VERMELHO, 2007; MADIGAN *et al.*, 2012; TORTORA *et al.*, 2013c).

O crescimento bacteriano pode ser descrito em uma sequência de quatro fases, que determinam uma curva padrão (VERMELHO, 2007; TORTORA *et al.*, 2013c).

- Fase de latência ou lag - fase de adaptação, em que os micro-organismos aumentam de tamanho, preparando-se para a divisão celular.
- Fase log ou exponencial - fase de crescimento exponencial intenso, com divisão celular ativa fortemente influenciada pelas condições ambientais, como temperatura e meio de cultura, e características genéticas dos micro-organismos. A velocidade de multiplicação das células depende do tempo de geração da espécie, da disponibilidade de nutrientes e das condições de temperatura.
- Fase estacionária - nesta fase, não se observa aumento nem diminuição no número de células. O crescimento torna-se reduzido, devido ao esgotamento dos nutrientes do

meio, além de acúmulo de substâncias tóxicas secretadas pela própria bactéria ou por lise desta.

- Fase de declínio ou morte - ocorre esgotamento total do meio, em função dos produtos do crescimento bacteriano, da mudança de pH, da acumulação de produtos tóxicos e da redução da concentração de oxigênio, sendo o número de bactérias que morrem maior que o daquelas que se multiplicam. A morte microbiana é definida como uma falha de um micro-organismo em reproduzir-se, sendo dada a partir da contagem de sobreviventes após o contato com o agente esterilizante.

Quando os micro-organismos são expostos a qualquer tratamento microbicida, usualmente, morrem em uma taxa constante (TORTORA *et al.*, 2013d). A velocidade na qual uma fração específica de micro-organismos é destruída em determinado período de tempo é conhecida como “taxa de morte bacteriana”. Quando exposto a agentes microbicidas, o número de micro-organismos decresce de maneira exponencial, sendo contabilizado em valores logarítmicos, enquanto taxa de morte, constante, é um valor não logarítmico sendo este conhecido como “modelo semi-logarítmico de morte” (VERMELHO, 2007; TORTORA *et al.*, 2013d).

Vários fatores interferem na efetividade do método de esterilização empregado. Assim, em um dado item que se deseja esterilizar, este processo sofre influência de características inerentes a cada micro-organismo, como perfil de resistência e carga microbiana, sendo que quanto maior a concentração destes maior o tempo requerido para exterminá-los, a presença de biofilme, a sujidade na superfície e o tempo de exposição (TORTORA *et al.*, 2013d).

Considerando que os micro-organismos apresentam resistências variadas e não morrem todos ao mesmo tempo quando expostos a processos de esterilização térmica, usa-se o valor D (Tempo de redução decimal), expresso em minutos, para determinar o tempo de exposição necessário a uma determinada temperatura para decair em um décimo o número de micro-organismos vivos presentes num certo ambiente (SÁ, 2007; TORTORA *et al.*, 2013d). Assim, a morte se dá numa curva exponencial, em que num primeiro momento (valor D), 90% dos micro-organismos morrem. Ou seja, a cada unidade de valor de D, cada célula tem 10% de chance de sobreviver, sendo necessário que o intervalo de tempo seja repetido pelo menos doze vezes para garantir um nível de segurança de esterilidade (ou *Sterility Assurance Level* - SAL, do inglês) de 10^{-6} (SÁ, 2007; RUTALA; WEBER, 2008).

Para considerar um material estéril, é preciso reduzir a probabilidade de sobrevivência de um micro-organismo a menos de uma célula em um milhão de artigos. Ou seja, a probabilidade de sobrevivência deve ser de pelo menos 10^{-6} (AAMI, 2005; SÁ, 2007; MULLANEY, 2008, RUTALA;WEBER, 2008). O termo SAL é utilizado para descrever a probabilidade de permanecer um item não estéril após o emprego de um método de esterilização. Ou seja, determina a probabilidade de falha do processo ao definir o número final de sobreviventes por item (AAMI, 2005; MULLANEY, 2008). Diante disso, a esterilidade, em geral, é expressa como uma probabilidade matemática de sobrevivência de qualquer micro-organismo após a aplicação de um processo de controle de crescimento microbiano por determinado período de tempo.

Os parâmetros estabelecidos para a realização dos processos de esterilização em PPS são para uma carga máxima de 10^6 , nível este presente nos indicadores biológicos impregnados com esporos bacterianos utilizados na validação destes processos (GRAZIANO, 2005). A utilização desta referência agrega uma margem de segurança nos processos de esterilização e fixa um limite de carga microbiana recomendada em PPS reutilizáveis antes de serem submetidos a processos de esterilização.

A redução da carga microbiana por meio da limpeza aumenta a margem de segurança na busca da esterilidade de PPS reprocessáveis (PENNA; FERRAZ, 2000; RUTALA; WEBER, 2008). A necessidade desta redução antes de submeter qualquer PPS aos processos de desinfecção e/ou esterilização é justificada, uma vez que quanto maior a carga microbiana presente em produtos para saúde mais tempo é requerido para a destruição destes micro-organismos pelos métodos de desinfecção/esterilização quando as demais condições que interferem no processamento de materiais mantiverem-se constantes (RUTALA; WEBER, 2008).

Biofilmes e endotoxinas são desdobramentos da permanência de contaminação microbiana em PPS, os quais podem causar danos a saúde dos pacientes submetidos a procedimentos invasivos quando permanecem nestes produtos após processo de esterilização.

2.2.1 Biofilmes

No ambiente, os micro-organismos podem ser encontrados em estado livre ou associados em biofilmes descritos em diversas superfícies (DONLAN, 2001; VERMELHO, 2007; TORTORA *et al.*, 2013b). Os biofilmes são definidos como comunidades microbianas

sésseis caracterizadas por células que estão irreversivelmente aderidas a uma superfície e também entre elas, embebidas em matriz de substância polimérica extracelular de origem bacteriana, exibindo um fenótipo diferente das formas planctônicas com relação à taxa de crescimento e transcrição de genes (DONLAN; COSTERTON, 2002).

Micro-organismos e biofilmes interagem e exibem uma organização multicelular. Crescem em forma de colunas e apresentam canais que funcionam como um sistema circulatório rudimentar por onde podem ser transportados água e nutrientes e excretados resíduos tóxicos (TORTORA *et al.*, 2013c).

Os polissacarídeos são os principais componentes da matriz polimérica extracelular de biofilmes, mas proteínas, lipídeos, ácidos nucleicos e outros polímeros também podem ser encontrados (VERMELHO, 2007; TORTORA *et al.*, 2013b). Esta composição depende do ambiente onde estas estruturas são formadas (Ribeiro, 2010). Biofilmes são encontrados na maior parte das superfícies úmidas e na área de saúde, em dispositivos médicos implantáveis e PPS reutilizáveis (DONLAN; COSTERTON, 2002; ROBERTS, 2013).

A formação do biofilme pode ser didaticamente dividida em quatro etapas (VERMELHO, 2007):

- Adesão a uma superfície - observa-se a adesão inicial da célula, geralmente, mediada em superfícies abióticas, por interações inespecíficas, como forças hidrofóbicas. É um processo reversível, que envolve a aproximação destas à superfície de forma aleatória ou por meio de mecanismos de quimiotaxia e de mobilidade, sendo que a ocorrência da adesão depende do balanço final entre as forças atrativas e repulsivas geradas entre as duas superfícies. Até esta etapa a estrutura ainda pode ser facilmente removida pelos processos de limpeza.
- Maturação do biofilme - ocorre a consolidação do processo de adesão com a produção de polissacarídeos extracelulares, que se complexam a materiais da superfície e a receptores específicos. A adesão torna-se irreversível, e inicia-se o processo de maturação do biofilme. Os componentes extracelulares gerados pelas bactérias interagem com moléculas orgânicas e inorgânicas do ambiente circundante para formar a matriz. Estas estruturas tornam-se altamente hidratadas e observa-se a formação de canais de circulação de água e nutrientes.
- Ruptura e dispersão - as camadas mais externas do biofilme começam a ser liberadas em estado livre, quando os biofilmes atingem determinada massa e equilíbrio

dinâmico. Estas células podem dispersar-se rapidamente e multiplicar, colonizando novas superfícies e formando novos biofilmes. Com a ausência de nutrientes e/ou oxigênio ou com a dificuldade de difusão, a diminuição do pH e o acúmulo de metabólitos secundários tóxicos, inicia-se o processo de morte celular e da subsequente desintegração do biofilme.

O acúmulo progressivo de resíduos orgânicos ao longo de repetidos ciclos de processamento inadequados pode levar à formação e à adesão destas estruturas em PPS passíveis de processamento, o que torna sua remoção muito difícil (SHOEMAKE; STOESSEL, 2007; ROBERTS, 2013).

A formação de biofilmes observada em PPS passíveis de processamento se dá por um processo sequencial bastante semelhante ao observado nas demais superfícies, conhecido como *biuldup biofilm formation* (ALFA; HOWIE, 2009). Enquanto em superfícies expostas a fluxos constantes células planctônicas têm a capacidade de aderir a estas superfícies e iniciar a formação de biofilmes (DONLAN; COSTERTON, 2002; PAJKOS *et al.*, 2004; ALFA ; HOWIE, 2009), em PPS reutilizáveis a formação de biofilmes parece relacionar-se à presença inicial de matéria orgânica depositada na superfície destes dispositivos durante sua utilização (PAJKOS *et al.*, 2004; ROBERTS, 2013). O resultado deste processo são camadas de material orgânico seco contendo micro-organismos incorporados após a exposição cíclica a fases de umidificação e secagem durante o uso e o processamento (PAJKOS *et al.*, 2004; ALFA; HOWIE, 2009).

Biofilmes que se formam de dispositivos médicos podem ser compostos por uma ou múltiplas espécies de micro-organismos Gram-positivo (*Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* e *Streptococcus viridans*), Gram negativo (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa*) ou leveduras podendo originar-se do paciente, dos profissionais ou do próprio ambiente (DONLAN, 2001; TORTORA *et al.*, 2013c).

Em relação a instrumentais cirúrgicos, a sobrevivência de micro-organismos nas superfícies apresenta grande relevância pelo seu potencial em estar associado à transmissão cruzada de IRAS durante contato íntimo com tecidos e órgãos estéreis ou não durante a realização de procedimentos invasivos. Fragmentos podem ser adquiridos e transferidos para um paciente por meio de instrumentos acessórios durante cirurgias (VICKERY *et al.*, 2004).

A susceptibilidade de uma superfície à adesão e à formação de biofilmes depende das características da superfície, da presença de micro-organismos, da disponibilidade de nutrientes e água suficientes, da temperatura adequada para o crescimento e do tempo para que ocorram todas as fases do seu desenvolvimento (DONLAN; COSTERTON, 2002; ROBERTS, 2013). O que se observa é que a maior parte das variáveis envolvidas na formação de biofilmes não pode ser facilmente controlada, com exceção do tempo. Assim, o processamento de PPS deve ser iniciado o mais breve possível após sua utilização, evitando a formação e a maturação de biofilmes (ROBERTS, 2013).

Micro-organismos associados a biofilmes apresentam alterações com relação a: comportamento, fisiologia e expressão gênica. Estão mais protegidos com relação a: ação de antibióticos, resposta imune, alterações do pH e temperatura (VERMELHO, 2007; TORTORA *et al.*, 2013c). A natureza estrutural do biofilme e os atributos fisiológicos dos micro-organismos contidos neles conferem uma resistência inerente a antibióticos, desinfetantes e germicidas (DONLAN; COSTERTON, 2002). Micro-organismos em biofilmes são, provavelmente mil vezes mais resistentes a antibióticos (TORTORA *et al.*, 2013c). Esta resistência pode se dar por vários mecanismos (DONLAN; COSTERTON, 2002):

- Dificuldade de penetração de agente de antimicrobiano por meio da matriz do biofilme - a substância polimérica extracelular representa uma barreira à difusão destas substâncias, por alterar a taxa de transporte de suas moléculas para o interior do biofilme ou pela reação do antimicrobiano com o material da matriz.
- Alteração da taxa de crescimento dos organismos contidos no biofilme - o crescimento de células associadas a biofilmes é significativamente mais lento quando comparado às formas planctônicas e, conseqüentemente, capta os agentes antimicrobianos mais lentamente.
- Outras mudanças fisiológicas devido à forma de crescimento do biofilme - condições limitantes do desenvolvimento destas estruturas, como redução da disponibilidade de nutrientes ou acúmulo de metabólitos, que favorecem a formação de biofilmes.

A remoção de biofilmes de PPS se torna um desafio dentro dos serviços de processamento de PPS. A utilização de detergente enzimático durante a etapa de limpeza em tubos de endoscópios auxilia a remoção de biofilmes já aderidos, enquanto detergente sem

adição de enzimas remove quase a totalidade destas estruturas e retarda o desenvolvimento de novos (VICKERY *et al.*, 2009). Em outro estudo, VICKERY *et al.* (2004), avaliando determinado detergente enzimático, concluíram que, apesar de este atuar na remoção de biofilmes, falhou na redução de contagem microbiana, o que não foi observado em detergentes sem adição de enzimas.

Ren *et al.* (2013), analisando a capacidade de diferentes soluções na remoção de biofilmes em endoscópios flexíveis, evidenciaram que a quantidade residual de biofilme observada nestes produtos foi menor no grupo exposto a detergente em relação ao exposto a água estéril. Contudo, o nível de biofilme residual observado nos produtos expostos a detergente enzimático foi maior que o encontrado naqueles expostos a detergente sem adição de enzimas. O tempo de imersão quando aumentado não demonstrou relação com a remoção destes resíduos sendo necessário apenas um tempo mínimo de contato (REN *et al.*, 2013).

O estudo e a mensuração de biofilmes podem ser realizados por métodos microbiológicos após a remoção das células ligadas à superfície por força mecânica, como sonicação e agitação em vortex, e posterior semeadura, incubação e quantificação, por meio de contagem ou por microscopia eletrônica de varredura (DONLAN; COSTERTON, 2002; VICKERY *et al.*, 2009). A microscopia eletrônica de varredura utiliza solventes que gradualmente desidratam o biofilme antes da observação. Contudo, devido a sua excelente resolução, continua a ser uma importante ferramenta no estudo destas estruturas (DONLAN; COSTERTON, 2002).

A presença de bactérias Gram negativo em biofilmes relaciona-se ainda à formação e liberação de endotoxinas que se constituem em contaminantes indesejáveis de PPS e podem causar danos ao paciente (DONLAN; COSTERTON, 2002).

2.2.2 Endotoxinas

As endotoxinas são subprodutos pirogênicos provenientes da parede celular de bactérias Gram negativo (GORBET; SEFTON, 2005; SILVA *et al.*, 2007). Diferentemente das bactérias Gram positivo, bactérias Gram negativo possuem uma membrana interna e outra externa circundando a camada de peptídeoglicana da parede celular, que é composta por lipoproteínas, fosfolípidos e lipopolissacarídeos (LPS). Denomina-se “endotoxina” a porção lipídica dos LPS conhecida como “lipídeo A” (TORTORA *et al.*, 2013a). O lipídeo A é a

porção mais conservada e é responsável pela maior parte da atividade biológica da endotoxina (GORBET; SEFTON, 2005).

Estes fragmentos são liberados em grande quantidade quando estas células bacterianas morrem e sua parede celular sofre lise e em menor quantidade durante a reprodução bacteriana como resultado do crescimento e divisão celular (GORBET; SEFTON, 2005; TORTORA *et al.*, 2013a).

Considerando que endotoxinas podem provocar febre e choque séptico, sua presença em PPS após a esterilização pode representar um problema sério quando entram em contato com a corrente sanguínea (TORTORA *et al.*, 2013a; NHS ESTATES, 2013). Endotoxinas se caracterizam por serem extremamente estáveis ao calor, mantendo-se viáveis mesmo depois da autoclavagem convencional, requerendo uma temperatura de 180°C durante pelo menos três horas ou 250°C durante trinta minutos para serem destruídas (GORBET; SEFTON, 2005; LIPSCOMB *et al.*, 2006). Mesmo se o PPS estiver estéril, pode causar reações pirogênicas resultantes de contaminação residual (HEEG *et al.*, 2001).

A endotoxina circulante pode induzir uma resposta inflamatória sistêmica no hospedeiro, mediada, inicialmente, pela ligação de LPS a uma proteína ligadora de lipopolissacarídeo (do inglês, *Lipopolysaccharide Binding Protein – LBP*). Este complexo LBP-LPS estimula a reação do sistema imune e células dos tecidos e ativa várias cascatas não celulares inter-relacionadas. O sistema imune pode ser fortemente estimulado por meio da síntese de mediadores inflamatórios (citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF- α) e uma vasta gama de células (leucócitos, plaquetas, células endoteliais e células epiteliais) (GORBET; SEFTON, 2005). Quando em contato com a corrente sanguínea, estas partículas podem ocasionar desde alteração da temperatura corporal, calafrios, dores generalizadas e fraqueza até coagulação intravascular disseminada, hipotensão, choque e, mesmo, a morte (GORBET; SEFTON, 2005; TORTORA *et al.*, 2013a). A síndrome resultante é conhecida como “sepsis” quando a infecção pode ser detectada e “resposta inflamatória” sistêmica quando não há evidência de infecção. A sepsis pode evoluir para o choque séptico, caracterizado por hipertensão e falha de múltiplos órgãos.

Outra consequência é a ativação de proteínas de coagulação, resultando na formação de pequenos coágulos, que podem obstruir capilares, diminuir o fornecimento de nutrientes e induzir à morte dos tecidos, condição referida como “coagulação intravascular disseminada” (TORTORA *et al.*, 2013a).

A carga máxima de endotoxinas preconizada para instrumentais cirúrgicos que entram em contato com a corrente sanguínea é de 20EU/dispositivo (unidades de endotoxinas, do inglês, *endotoxins unit*), sendo este parâmetro reduzido para 2,15EU/dispositivo para aqueles que apresentarem contato com a região intratecal (SAGERT, 2008; AAMI, 2012).

Testes que apresentem boa sensibilidade devem estar disponíveis, para determinar a presença de endotoxinas em fármacos e PPS. Os primeiros testes empregados para avaliar a presença de endotoxinas fundamentava-se no aumento da temperatura corporal de coelho, após a injeção intravenosa da solução em análise (GORBET; SEFTON, 2005; SAGERT, 2008). O *Limulus Amebocyte Lysate* (LAL test), atualmente, é o teste recomendado para mensurar o nível de endotoxinas numa amostra. É preparado a partir do sangue do caranguejo ferradura (SAGERT, 2008). Para a realização da técnica, volumes iguais de reagente LAL e da amostra a ser analisada devem ser transferidos para tubos de ensaio. Imediatamente, a amostra deve ser incubada e ficar em banho Maria a 37°C por uma hora. O ponto final da reação é verificado pela remoção dos tubos e pela inversão a 180°C. A presença de gel que se mantém sólido durante a inversão é considerada positiva para endotoxinas. O resultado é expresso em unidades de endotoxinas.

A presença de endotoxinas em instrumentais cirúrgicos após o processamento, apesar de representar um risco à saúde, é um parâmetro ainda pouco avaliado pelos serviços de processamento. Pela sua característica de termorresistência, estes resíduos não são eliminados durante a etapa de esterilização, sendo imprescindível sua remoção durante a limpeza. Assim, a utilização de água livre de micro-organismos durante a limpeza e o enxágue de PPS é fundamental para manter níveis adequados de endotoxinas, principalmente quando se considera que micro-organismos Gram negativo são contaminantes mais frequentes da água.

A qualidade do processamento de materias tem íntima relação com a redução de carga microbiana que deve ocorrer durante a etapa de limpeza, relacionando-se ainda, a formação de biofilmes e à liberação de endotoxinas que podem resultar em eventos adversos a estes pacientes.

Apesar do impacto advindo da presença de biofilmes e endotoxinas em PPS, este conhecimento está fundamentado em estudos experimentais. Mesmo neste ambiente, oferece grandes desafios. Esta realidade acaba trazendo limitações à prática clínica, pois, apesar de se conhecer o prejuízo da presença destes nos PPS, não se tem controle sobre seu processo de formação nem sobre a capacidade de remoção dos métodos de processamento empregados na

prática. Nos serviços de saúde, a avaliação destes resíduos não é factível, dadas a estrutura e a organização dos serviços e a metodologia disponível que exige qualificação técnica e disponibilidade de equipamentos. Daí a importância da academia na busca de respostas aos problemas que podem interferir na qualidade da assistência prestada.

3. MATERIAL E MÉTODO

3.1 Delineamento do estudo

Trata-se de uma pesquisa experimental, na qual o pesquisador é um agente ativo, que determina um objeto de estudo, seleciona as variáveis capazes de influenciá-lo e define formas de controle e de observação dos efeitos que a variável produz no objeto (GIL, 2010).

3.2 Local de estudo

O estudo foi realizado no Laboratório de Microbiologia Oral e de Anaeróbios do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (MOA-ICB/UFMG), onde se deu a parte experimental. A fase de coleta das amostras foi realizada na CME de um complexo hospitalar universitário, público e geral de Belo Horizonte – Minas Gerais, com atuação nas áreas de ensino, pesquisa e assistência. É referência para os sistemas municipal e estadual de saúde, atendendo pacientes portadores de patologias de média e alta complexidade provenientes exclusivamente do Sistema Único de Saúde (SUS). Em média, 40% dos pacientes atendidos são provenientes do interior do estado.

O complexo hospitalar possui capacidade total instalada de 501 leitos, em diversas especialidades, e 16 salas destinadas à realização de procedimentos cirúrgicos, sendo que na ocasião do estudo 14 destas estavam em funcionamento. Em média, são realizadas 600 cirurgias por mês, nas diversas especialidades: do aparelho digestivo, pediátricas, cardiovascular, ginecologia, ortopedia/traumatologia, nefrologia, neurocirurgia, plástica, hematologia, otorrinolaringologia, clínica de dor, transplante de medula óssea, hepático, renal, cardíaco e pulmonar, odontologia, dermatologia, pneumologia e oftalmologia. Diariamente, são realizados procedimentos conforme programação cirúrgica prévia, além de possíveis cirurgias de urgência. Ao término destes, os materiais são coletados na sala em contêineres, umidificados em água potável e depositados em corredor externo, onde aguardam transporte, que é realizado por profissionais da CME. A água utilizada na instituição é analisada quanto ao padrão de potabilidade a cada três meses.

Os funcionários da CME se dirigem em elevadores até o bloco cirúrgico, acondicionam os instrumentais em carrinhos de transporte e os encaminham para o setor de processamento próprio da instituição.

O setor ocupa uma área física de 720m² e é responsável pelo processamento de PPS de todo o complexo hospitalar, que inclui, além do hospital, os ambulatórios Bias fortes, Borges Sântia de Souza Evangelista

da Costa, Orestes Diniz, Jenny Faria e hospital São Geraldo. Processa produtos não críticos, semicríticos e críticos de conformação complexa e não complexa, sendo classificada como CME classe II (BRASIL, 2012). De acordo com o último levantamento realizado no serviço, em 2013, 46 mil pacotes foram processados mensalmente, incluindo diversos tipos de dispositivos complexos canulados, implantáveis, caixas de materiais consignados e pinças de videolaparoscopia. A equipe de enfermagem é composta por cinco enfermeiros, sendo que um ocupa a função de coordenação da CME, 11 são técnicos de enfermagem e 70 são auxiliares de enfermagem.

Com relação aos equipamentos empregados na limpeza de PPS, atualmente o setor possui cinco lavadoras. Uma é destinada à limpeza de instrumentais termossensíveis e emprega circulação e jatos de água e detergente enzimático atingindo uma temperatura máxima de 50° C durante o ciclo de limpeza de 60 minutos. Outras duas lavadoras são ultrassônicas do tipo medisafe® sonic irrigator digital (FIG. 1), utilizadas na limpeza de itens compatíveis com esta tecnologia, em geral, instrumentais cirúrgicos. O equipamento tem uma capacidade de 25 litros, oferece a possibilidade de 12 conexões para instrumentos canulados e um ciclo de limpeza que pode ser programado entre um e 30 minutos. As duas últimas são do tipo termodesinfectoras, da marca Baumer®, modelo B.098.V41 e 8098.741 (FIG. 1), empregadas para a desinfecção térmica de produtos termorresistentes, chegando à temperatura de 134°C durante a limpeza. Este equipamento realiza a pulverização com vapor aquecido num ciclo que pode ser programado para três ou 10 minutos.

Na instituição em análise, na chegada à CME os instrumentais removidos dos contêineres podem ser submetidos a dois diferentes métodos de limpeza:

- Método A (automatizado) - todas as etapas são realizadas com o auxílio de equipamentos. Por isso, foi denominado neste trabalho como “automatizado”. Inicialmente, os instrumentais são enxaguados, para a retirada do excesso de sujidade, devidamente desmontados ou abertos, quando possível, e submetidos a limpeza, por 10 minutos, em lavadora ultrassônica, contendo uma solução de água e detergente enzimático. Após esta fase, os instrumentais seguem para a última etapa, que consiste em limpeza em lavadora termodesinfectora. Este equipamento é validado anualmente conforme rotina da instituição. Os instrumentais são lavados preferencialmente por este método.



FIGURA 1. Lavadora ultrassônica e lavadora termodesinfectora utilizados na CME.

- Método B (manual) - consiste na realização de uma primeira etapa manual, utilizando-se a escovação e imersão dos instrumentais em solução de água e detergente enzimático por cinco minutos, seguida de enxágue em água corrente. Posteriormente, é realizada a limpeza em lavadora termodesinfectora da mesma forma que a descrita para o método automatizado, porém sem passar pela ultrassônica, considerando-se que a função exercida por esta foi executada de forma manual. O método é empregado pelo serviço quando há aumento da demanda de instrumentais a serem limpos.

Após a etapa de limpeza, os instrumentais são preparados e submetidos a esterilização. Oitenta por cento dos produtos são esterilizados por meio de vapor saturado sob pressão, que pode ser realizado em uma das três autoclaves disponíveis. Para produtos termo-sensíveis, 18% são esterilizados por plasma de peróxido de hidrogênio em três equipamentos existentes modelo Sterrad® 100s. O restante do material (2%) é encaminhado a um serviço terceirizado, para esterilização por óxido de etileno.

3.3 População/ Amostragem

Com o intuito de reconhecer a carga microbiana em PPS submetidos à limpeza manual e automatizada, foram considerados 25 procedimentos, classificados como potencialmente

contaminados e contaminados. Para cada procedimento, foram selecionados instrumentais utilizados em cirurgias do aparelho digestivo, em cinco momentos diferentes da limpeza destes instrumentais - após o uso clínico e duas etapas de limpeza ,manual e automatizada, resultando em um n amostral de 125 instrumentais.

Critérios de seleção do instrumental

Como critério de seleção, optou-se por instrumentais cirúrgicos iguais ou com características semelhantes entre si, como a presença de cremalheiras, ranhuras e articulações (FIG 2), comprimento máximo de 20 centímetros, compatível com o tamanho do saco utilizado para a coleta, e presença de sujidade visível importante, caracterizada pela impregnação aparente de sangue ou matéria orgânica e inorgânica.



FIGURA 2 - Exemplo de instrumentais cirúrgicos amostrados.

A programação cirúrgica, de acordo com o mapa do setor, foi observada diariamente durante o período de coleta para a seleção de cirurgias do aparelho digestivo, classificadas como “potencialmente contaminadas”, “contaminadas” ou “infectadas”, por apresentarem a probabilidade de exibirem maior carga microbiana após os procedimentos. Os mapas foram disponibilizados pelo bloco cirúrgico sempre no dia anterior ao da realização dos procedimentos, conforme rotina da instituição.

No dia da cirurgia, pela manhã, foram checadas com o enfermeiro responsável pela coordenação de enfermagem do centro cirúrgico a manutenção da programação cirúrgica e a partir dos procedimentos realizados. A sua conclusão, as caixas de instrumentais foram identificadas externamente para que fossem reconhecidas na chegada à CME onde os instrumentais foram selecionados.

3.4 Variáveis do estudo

a) Variável desfecho

- Carga microbiana total

Foi realizada a contagem quantitativa, assim como a identificação dos micro-organismos que apresentaram crescimento nos meios de cultura utilizados. A contagem de carga microbiana total foi estimada por análise do crescimento bacteriano, observado em placas de ágar sangue. A unidade utilizada para a quantificação destes micro-organismos foi UFC/100ml. Foi determinada a contagem de micro-organismos em cinco momentos distintos de dois processos de limpeza, um manual outro automatizado.

1ª coleta: após o uso clínico, para a definição da carga microbiana inicial ou anterior ao processo de limpeza.

2ª amostra: após escovação e imersão em detergente enzimático (método manual – etapa 1);

3ª amostra: após primeira etapa de limpeza manual e limpeza em lavadora termodesinfectora (método manual – etapa 2);

4ª amostra: após limpeza em lavadora ultrassônica (método automatizado – etapa 1);

5ª amostra: após primeira etapa de limpeza automatizada e limpeza em lavadora termodesinfectora (método automatizado – etapa 2).

b) Variáveis independentes

- Potencial de contaminação da cirurgia

Foram consideradas para a coleta de amostras aquelas cirurgias classificadas como “potencialmente contaminadas” e “contaminadas”, uma vez que não houve cirurgias infectadas no período avaliado. Tais procedimentos foram escolhidos pela possibilidade

potencial de maior carga microbiana presente durante o procedimento realizado. Assim, foram categorizadas em:

- Potencialmente contaminada - realizadas em tecidos colonizados por microbiota pouco numerosa (tratos digestivo, respiratório ou urinário) ou em tecidos de difícil descontaminação (BRASIL, 1992).
- Contaminadas - realizadas em tecidos traumatizados recentemente e abertos, contaminados por microbiota abundante, cuja descontaminação seja difícil ou impossível ou cirurgias que tenham ocorrido falhas técnicas grosseiras, na ausência de supuração do local (BRASIL, 1992).
- Umidação prévia dos instrumentais cirúrgicos antes do transporte a CME

Foi verificado se o instrumental recebeu umidação com compressa embebida em água potável na fase pré-limpeza, após o procedimento cirúrgico anterior ao transporte a CME conforme protocolo institucional. Esta é uma variável dicotômica definida por:

- 1) sim
- 2) não.

3.5 Coleta de dados

Atendendo ao critério de especialidade e potencial de contaminação para cada cirurgia selecionada, informações necessárias sobre o procedimento realizado foram coletadas na folha de sala do paciente no bloco cirúrgico e na CME. Após a seleção dos instrumentais que atenderam aos critérios de inclusão, dados referentes a sua utilização e à obtenção das amostras também foram registrados. Com o auxílio de um instrumento de coleta de dados (APÊNDICE A), foram registradas as seguintes informações: número de identificação e data da coleta, sala onde o procedimento foi realizado, tipo de cirurgia, duração do procedimento, potencial de contaminação, se o material foi umidificado após a utilização antes de ser encaminhado à CME com compressas úmidas, se apresentava sujidade visível, tipo de instrumental selecionado e horário de término da obtenção do material biológico.

Após a identificação do instrumental no bloco cirúrgico, este foi encaminhado à CME. A obtenção de amostras microbiológicas foi iniciada tão logo o material foi transportado a CME. Foram selecionados cinco instrumentais das caixas cirúrgicas escolhidas que atendessem ao fluxo predeterminado para o estudo. A coleta foi realizada após cada uma das

etapas de limpeza a que foram submetidos (FIG. 3), assim definidas na forma das análises a serem realizadas:

- Primeira coleta

Momento: Após uso clínico

Assim que chegaram à CME, após utilização em cirurgias do aparelho digestivo, os instrumentais selecionados foram submetidos ao método de extração da carga microbiana. Este momento da coleta permitiu a identificação da carga microbiana basal destes instrumentais imediatamente antes de serem submetidos às diferentes etapas de limpeza.

- Segunda coleta - método manual (etapa 1)

Momento: após escovação e imersão em detergente enzimático

Os instrumentais foram selecionados após primeira etapa de limpeza manual que consiste na imersão em solução contendo detergente enzimático e escovação.

- Terceira coleta - método manual (etapa 2)

Momento: após limpeza em lavadora termodesinfectora

Após passarem pela primeira etapa de limpeza manual e posterior limpeza em lavadora termodesinfectoria foi realizada a coleta.

- Quarta coleta – método automatizado (etapa 1)

Momento: após limpeza automatizada em lavadora ultrassônica

Para esta coleta, os instrumentais foram selecionados após a primeira etapa de limpeza automatizada em lavadora ultrassônica contendo solução com detergente enzimático.

- Quinta coleta – método automatizado (etapa 2)

Momento: após limpeza em lavadora ultrassônica e posterior em lavadora termodesinfectora

A coleta foi realizada após os instrumentais terem sido submetidos à primeira etapa de limpeza automatizada em lavadora ultrassônica e limpeza em lavadora termodesinfectora.

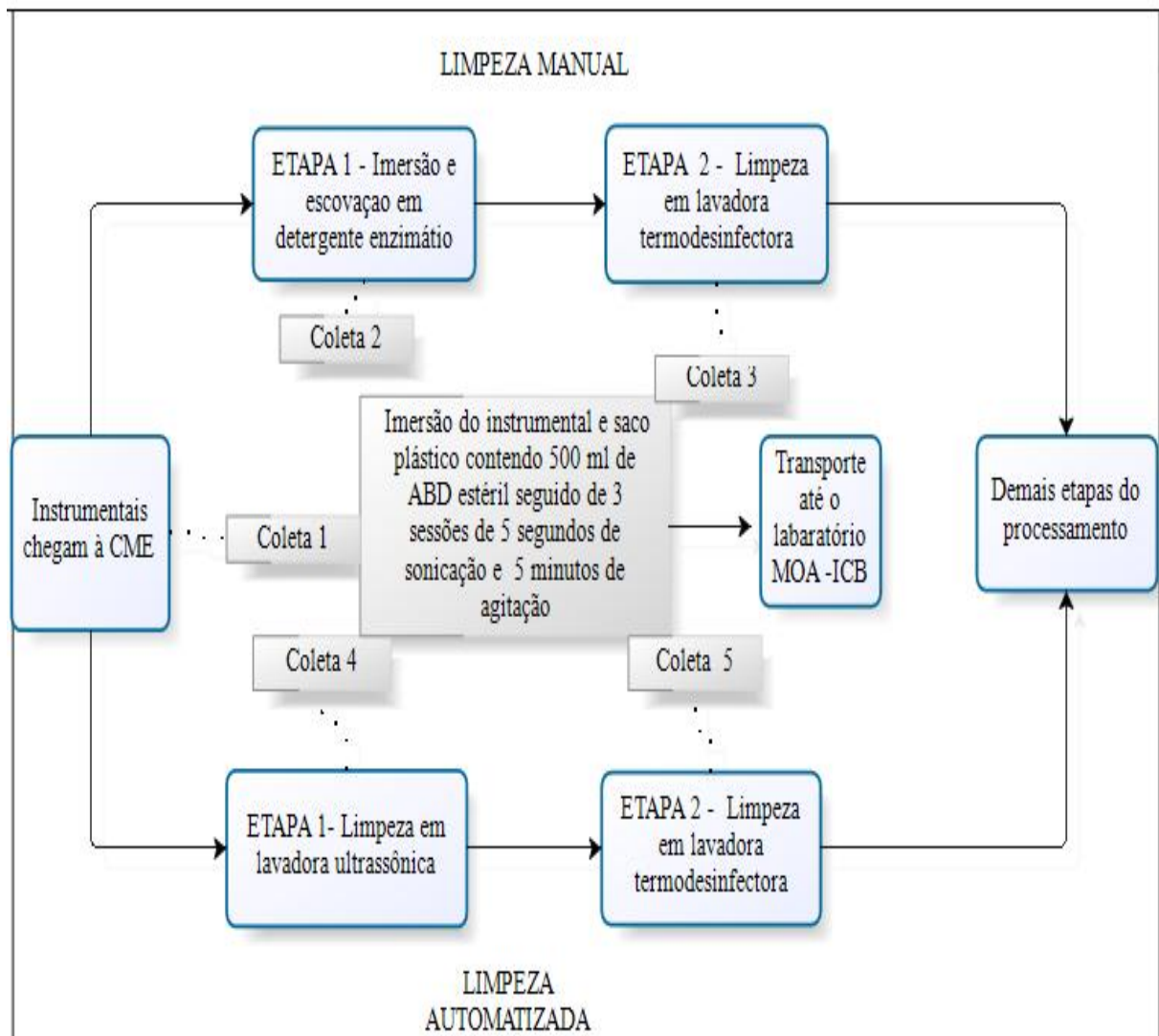


FIGURA 3- Fluxograma das etapas de coleta

3.5.1 Avaliação dos espécimes clínicos

Os instrumentais selecionados foram transferidos para um saco plástico estéril, contendo 500ml de água destilada também estéril. Sequencialmente, a embalagem foi fechada e exposta a banho ultrassônico por três ciclos de cinco segundos em lavadora ultrassônica modelo USC-2800, Engesolutions®, capacidade 9 litros, a uma frequência de 40kHz e potência de 30 watts (FIG. 4). Logo após, o saco contendo o instrumental foi submetido à homogeneização por cinco minutos a 160rpm em equipamento de agitação com movimento orbital (Kline), modelo 255 – B, Fanem®. O instrumental selecionado foi retirado do saco plástico com técnica asséptica para a sequência de lavagem, de acordo com o protocolo do serviço. A metodologia aplicada neste estudo foi previamente utilizada por Pinto *et al.*, 2009.



FIGURA 4: Instrumental submetido a banho ultrassônico.

Os sacos plásticos contendo as amostras foram transportados pelo pesquisador para análise microbiológica até o Laboratório MOA-ICB/UFMG em caixa térmica em até 60 minutos após a coleta.

3.5.2 Processamentos microbiológico e enzimático dos espécimes clínicos

No Laboratório MOA-ICB/UFMG, os espécimes clínicos obtidos dos instrumentais cirúrgicos foram homogeneizados novamente em agitador com movimentos orbitais por cinco minutos a 160rpm. Em seguida, o conteúdo de cada saco plástico foi dividido em cinco alíquotas de 100ml, que foram filtradas separadamente por meio do método de filtração por membrana, de acordo com as definições da *United States Pharmacopeia* (SAGERT, 2008). Foi utilizado um sistema de filtração autoclavável sterifill® (47mm sterifil Holder, Millipore) em vidro, composto de um copo com tampa com capacidade de 300ml, funil com junta esmerilada para vácuo e frasco de filtragem com capacidade para 1000ml.

A técnica da membrana filtrante foi a escolhida para a quantificação de micro-organismos presentes nas amostras coletadas. A filtração ocorreu em membrana de nitrato de celulose com porosidade de $0,45\mu\text{m}$ (HAWP04700), colocada sobre a base do vidro e pressão negativa (vácuo). A membrana funciona como uma barreira semipermeável separando componentes da solução e deixando os micro-organismos retidos na membrana. Desta forma,

micro-organismos que apresentam dimensões maiores que a presente nestes poros ficam retidos na superfície da membrana.

Para verificar a possibilidade de alguns micro-organismos apresentarem um diâmetro menor que $0,45\mu\text{m}$ foi utilizada ainda, no caso da 1ª amostra, possivelmente aquela com maior carga microbiana, uma membrana de $0,22\mu\text{m}$ para re-filtrar os 100 ml desta amostra.

Posteriormente a membrana foi sobreposta em placa de petri contendo meios de cultura preparados previamente segundo as orientações do fabricante e esterilizados a vapor sob pressão a 121° por 15 minutos (FIG.5). Por capilaridade o meio se difunde para a membrana, entrando em contato com as bactérias e permitindo seu crescimento.

Para o cultivo, foram selecionados três meios de cultura seletivos indicados para o crescimento dos micro-organismos específicos, a saber: ágar MacConkey (BBL®), para isolamento de bastonetes Gram negativo; ágar Manitol (BBL®), para isolamento de *Staphylococcus* spp; e ágar *Saboraud* (Merk®), para isolamento de fungos e, como meio rico *Brain Heart Infusion* (BBL®) suplementado com 5% de sangue de cavalo (BHI-S), que permite o crescimento da maioria dos micro-organismos para estimativa da carga microbiana total presente nestas amostras (FIG. 6).

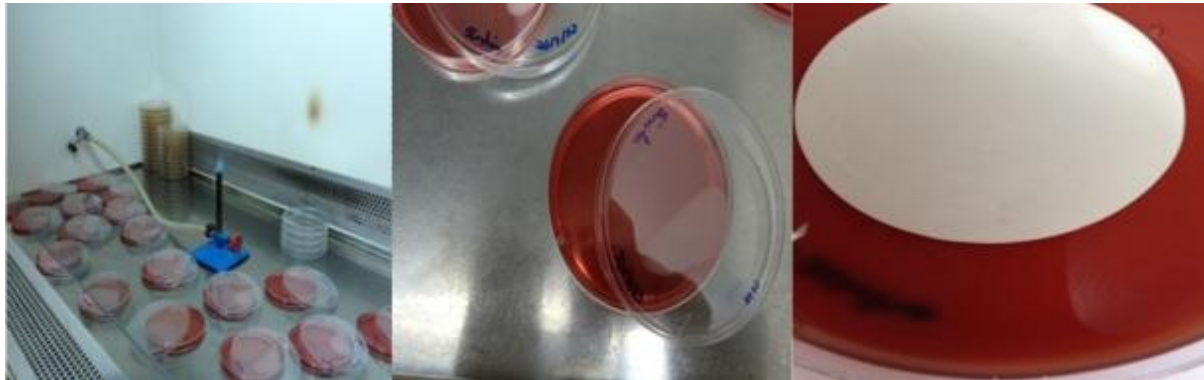


FIGURA 5- Preparação de meio de cultura.

Todo o procedimento de filtração foi realizado em capela de fluxo laminar (Veco microbiológica Biosafe I). As placas para isolamento bacteriano foram incubadas em estufa bacteriológica Fanem® modelo 347 CD a 37°C , em atmosfera ambiente, por 24-48, horas para favorecer o crescimento destes micro-organismos.



FIGURA 6 Capela de fluxo laminar - Veco®.

Nas placas que apresentaram crescimento microbiano, procedeu-se à leitura e à contagem das unidades formadoras de colônia (UFC/100ml). As colônias representativas dos diferentes morfotipos foram repicadas em duplicata em ágar BHI, para a obtenção de culturas puras, ou seja, representativas de um único micro-organismo isolado. Posteriormente, as amostras foram conservadas em freezer -86°C , em caldo Brucella, acrescido de glicerol (concentração final 10%) (FIG.7).



FIGURA 7. Amostras armazenadas em tubos criogênicos

A alíquota de 100ml restante foi submetida à centrifugação por 15 minutos a 5.000 rotações por minuto. O sobrenadante foi descartado e o *pellet*, material depositado no fundo do tubo após centrifugação, foi congelado para futuras avaliações moleculares.

3.5.3 Identificação Bioquímico/Fisiológica dos micro-organismos recuperados

A identificação dos micro-organismos foi realizada considerando-se aspectos morfo-tintoriais e reações bioquímico/fisiológicas, por meio de provas manuais e de automação para o gênero e a espécie.

Para as bactérias isoladas, inicialmente, foi realizada a coloração de Gram. As provas bioquímicas de catalase, coagulase e dnase foram as empregadas na identificação presuntiva dos cocos Gram positivo, enquanto os bastonetes Gram negativo foram submetidos às provas da oxidase, do citrato, do malonato, aos testes de Sulfato, Indol e Motilidade (SIM) e Rugai modificado, que permitiram a identificação presuntiva destas amostras. A partir dos resultados obtidos, os principais micro-organismos de importância epidemiológica relacionados como agentes causais das IRAS isolados foram submetidos a identificação, ao nível de gênero e de espécie, no sistema de automação Vitek® II, *Biomérieux* por meio de cartões GN ID.

A identificação dos fungos filamentosos foi realizada inicialmente por meio da observação direta das características morfológicas das colônias. Posteriormente, foi realizada a observação de estruturas microscópicas, utilizando-se a coloração por azul de lactofenol. Em seguida, procedeu-se ao microcultivo em lâminas por 15 dias. As lâminas com crescimento microbiano foram coradas também com azul de lactofenol e analisadas por microscopia (BRASIL, 2013).

3.6 Análise de dados

Após sua coleta, os dados foram categorizados, codificados e tabulados em planilha eletrônica no programa Excel. A análise estatística foi realizada com o auxílio do programa estatístico Statistical Package for the Social Science (SPSS) para Windows, versão 19.0. O nível de significância considerado para inferência estatística foi de 5% ($p = 0,05$) e o intervalo de confiança de 95%.

As variáveis foram descritas utilizando frequências e porcentagens para as diversas variáveis categóricas, obtenção de medidas de tendência central (média e mediana) e medidas de dispersão (desvio-padrão) para as quantitativas.

A carga microbiana foi relacionada às variáveis potencial de contaminação e umidificação após o uso, por meio do teste de *Mann Whitney*, e comparadas entre os cinco momentos de coleta, utilizando o teste de Wilcoxon para amostras pareadas, uma vez que as suposições usuais do modelo (normalidade e homocedasticidade) não foram atendidas.

3.7 Aspectos éticos

Por se tratar de um dos objetivos de um projeto de pesquisa na área de prevenção da infecção do sítio cirúrgico, aprovado (Processo CAAE 11416512 -1-0000-5149, 27/02/2013) pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Minas Gerais (COEP/UFMG) (ANEXO 1), considerando a Resolução CNS 196/96 do Conselho Nacional de Saúde vigente a época do projeto, e pela Diretoria de Ensino e Pesquisa (DEPE) do HC/UFMG, pelo Processo 011/14, em 20/03/2014 (ANEXO 2), a presente proposta foi ainda submetida para registro e anuência da Vice Diretoria Técnica de Enfermagem (VDTE) e CME, tendo recebido a aprovação de ambos.

4. RESULTADOS

Foram selecionados 125 instrumentais cirúrgicos que atenderam aos critérios de seleção previamente mencionados utilizados em cirurgias do aparelho digestivo. As coletas foram realizadas após o uso clínico e a limpeza manual e automatizada, a fim de determinar a carga e o perfil dos micro-organismos presentes nestes produtos.

Foram selecionadas 25 cirurgias classificadas como “potencialmente contaminadas” e “contaminadas” uma vez que não houve cirurgias classificadas como “infectadas” durante o período de coleta. A tabela 1 apresenta os tipos e a frequência dos procedimentos selecionados de acordo com o potencial de contaminação.

TABELA 1 - Distribuição dos procedimentos cirúrgicos selecionados para análise microbiológica de instrumentais cirúrgicos após o uso clínico de acordo com o potencial de contaminação - Belo Horizonte, 2014

Potencial de Contaminação					
Potencialmente contaminada			Contaminada		
Procedimento	n	%	Procedimento	n	%
Derivação bílio-digestiva	3	12	Amputação de reto	1	4
Esôfagogastrrectomia	2	8	Colostomia	1	4
Fechamento de gastroquise	1	4	Fistulectomia anal	1	4
Gastrrectomia	1	4	Laparotomia	2	8
Gastroplastia	1	4	Retrossigmoidectomia	8	32
Gastrostomia	1	4	-	-	-
Glossectomia total	1	4	-	-	-
Hepatectomia	2	8	-	-	-
Total	12	48		13	52

Dos procedimentos avaliados, 52% (13/25), eram provenientes de cirurgias contaminadas que abordaram intestino grosso e 48% (12/25) resultaram de procedimentos classificados como “potencialmente contaminados” e envolveram: cavidade oral, esôfago, estômago, fígado e vias biliares. Derivação bílio-digestiva (12%) e retrossigmoidectomia (32%) foram os procedimentos mais frequentes dentre as cirurgias potencialmente contaminadas e contaminadas, respectivamente. Os dados relativos a cada procedimento selecionado, como data, tipo de cirurgia, potencial de contaminação e umidificação do instrumental após o uso, podem ser consultados no APÊNDICE B.

Os instrumentais utilizados para a análise de carga microbiana estão apresentados na tabela 2, de acordo com a etapa da coleta em que foram selecionados. Foram utilizados 16 tipos de instrumentais diferentes e pinças tipo crile foram selecionadas com maior frequência. O tipo de instrumental para cada um dos 125 procedimentos cirúrgicos avaliados, a carga microbiana e os micro-organismos identificados em cada etapa estão discriminados no APÊNDICE C.

TABELA 2 -Tipo e frequência de instrumentais cirúrgicos selecionados a partir de cirurgias do aparelho digestivo para avaliação do perfil microbiológico nas diferentes etapas do processo de limpeza: pré limpeza, método manual e automatizado - Belo Horizonte, 2014

Etapa da limpeza									
Pré Limpeza ¹		Limpeza manual				Limpeza automatizada			
		Etapa 1 ²		Etapa 2 ³		Etapa 1 ⁴		Etapa 2 ⁵	
Instrumental	N	Instrumental	n	Instrumental	n	Instrumental	n	Instrumental	N
Crile	9	Crile	6	Crile	8	Crile	8	Crile	10
Kocher	3	Kocher	6	Anatômica	4	Rochester	5	Passa fio	4
Passa fio	3	Anatômica	3	Hemostática	3	Anatômica	3	Hemostática	3
Allis	2	Rochester	3	Foerster	2	Kocher	3	Clamp	2
Porta agulha	2	Allis	2	Kocher	2	Kelly	2	Kocher	2
Rochester	2	Dissecção	2	Porta agulha	2	Passa fio	2	Schmidt	2
Backhaus	1	Passa fio	2	Backhaus	1	Allis	1	Pean	1
Dissecção	1	Porta agulha	1	Metzembbaum	1	Porta agulha	1	Porta agulha	1
Kelly	1	-	-	Passa fio	1	-	-	-	-
Metzembbaum	1	-	-	Rochester	1	-	-	-	-
Total	25		25		25		25		25

1- após o uso clínico; 2- após a escovação e imersão em detergente enzimático (método manual – etapa 1); 3- após limpeza em lavadora termodesinfectora (método manual – etapa 2); 4- após a limpeza automatizada em lavadora ultrassônica (método automatizado – etapa 1); 5- após limpeza automatizada em lavadora termodesinfectora (método automatizado – etapa 2).

Considerando que as amostras foram coletadas em 500ml de ABD estéril, filtradas em alíquotas de 100ml e cultivadas em quatro meios de cultura diferentes, sendo os 100ml restante armazenados, a avaliação da carga microbiana e do perfil microbiológico foi realizada por meio da contagem de micro-organismos totais que apresentaram crescimento em ágar sangue, manitol, *MacConkey* e *Saboraud*. A carga microbiana foi determinada em UFC/100ml.

4.1. Carga microbiana recuperada de instrumentais cirúrgicos utilizados em cirurgias do aparelho digestivo durante a etapa de limpeza

Para a análise, inicialmente, foi determinada a relação entre a carga microbiana recuperada após o uso clínico e potencial de contaminação e umidificação do instrumental na fase pré-limpeza como possíveis variáveis que poderiam interferir nos resultados obtidos (TABELA 3).

TABELA 3 Carga microbiana recuperada em instrumentais cirúrgicos de cirurgias do aparelho digestivo estratificada por umidificação do instrumental pré limpeza e potencial de contaminação – Belo Horizonte, 2014

		Carga microbiana					Valor -p
		n	%	Média	DP	Mediana	
Umidificação	Sim	18	72	78	78	116	0,2241*
	Não	7	28	128	142	30	
Potencial de contaminação	PC	12	48	41	84	5	0,0072*
	C	13	52	201	126	266	

*Teste de Mann Whitney; DP: Desvio padrão; PC: Potencialmente contaminada; C: Contaminada.

As caixas cirúrgicas selecionadas, assim que chegaram à CME, foram verificadas quanto à umidificação dos instrumentais. Em 72% do material avaliado foi verificada a presença de compressa úmida aplicada no bloco cirúrgico sobre o material após sua utilização. Em instrumentais que não foram umidificados, a média de carga microbiana recuperada foi de 128UFC/100ml, enquanto para aqueles que receberam umidificação pré limpeza este valor foi de 78UFC/100ml. Apesar disso, não houve diferença estatisticamente significativa entre estas variáveis ($p = 0,224$).

Com relação ao potencial de contaminação, a média de carga microbiana recuperada em cirurgias contaminadas foi quase cinco vezes maior que aquela recuperada em cirurgias potencialmente contaminadas (TABELA 3). Essa diferença foi confirmada estatisticamente quando comparados o potencial de contaminação e a carga microbiana recuperada após o uso clínico ($p = 0,0072$).

A análise descritiva da carga microbiana total recuperada em PPS durante as diferentes etapas do processo de limpeza está apresentada na tabela 4 e na tabela 5. Para fins de cálculos estatísticos, foi considerado como 300UFC/100ml o valor máximo encontrado, em virtude da área da membrana semipermeável utilizada para filtração ser pequena (diâmetro = 47mm, área

aproximada de $14,758\text{cm}^2$), não sendo possível realizar a contagem de micro-organismos acima deste valor.

A média e a mediana desta variável foram decrescente à medida que os instrumentais passaram pelas etapas de limpeza. Após o uso clínico, este valor foi de 93,1UFC/100ml. Em instrumentais submetidos à primeira etapa de limpeza, as médias foram de 41UFC/100ml para aqueles que passaram pelo processo manual, havendo uma redução de mais de 55% da carga microbiana inicial em média e de 75UFC/100ml para aqueles submetidos à limpeza em lavadora ultrassônica, quando a redução de carga microbiana observada foi de 21%.

TABELA 4 - Comparação entre a carga microbiana recuperada de instrumentais cirúrgicos após o uso clínico em cirurgias do aparelho digestivo em relação à verificada após primeira etapa do processo manual (fricção + detergente enzimático) e automatizado (após ultrassônica) - Belo Horizonte, 2014

Etapa 1	Carga microbiana inicial (após uso)						Carga microbiana final (após 1ª etapa limpeza)					Wilcoxon	Valor p
	n	Média	Mediana	DP	Min.	Max.	Média	Mediana	DP	Min.	Max.		
Limpeza manual	25	93,1	20	122,5	0	300	41	6	84,2	0	300	209,5	0,015
Limpeza automatizada	25	93,1	20	122,5	0	300	75	15	95	0	264	212	0,094

DP: Desvio- padrão,

A redução de carga microbiana observada em instrumentais que passaram pela primeira etapa de limpeza manual foi significativa ($p = 0,015$), enquanto aquela observada em instrumentais que passaram pela primeira etapa da limpeza automatizada não apresentou significância estatística ($p = 0,094$) conforme observado na TABELA 4.

Durante a segunda etapa de limpeza em lavadora termodesinfectora, a carga microbiana média foi reduzida para 8,24UFC/100ml naqueles materiais submetidos à limpeza manual (etapa 2), enquanto o valor foi de quase o dobro, 16,1UFC/100ml para aqueles submetidos à limpeza automatizada (etapa 2).

Para todas as etapas analisadas foram identificados instrumentais para os quais não houve crescimento bacteriano. Contudo, carga microbiana acima de 100UFC/100 ml ou 10^2 UFC/100ml também foi observada em todas as etapas.

TABELA 5 - Comparação entre a carga microbiana recuperada de instrumentais cirúrgicos após primeira etapa de limpeza manual e automatizado em relação à verificada após segunda etapa de limpeza em lavadora termodesinfectora - Belo Horizonte, 2014

Etapa 2	Carga microbiana inicial (após 1a etapa de limpeza)						Carga microbiana final (após 2a etapa limpeza)					Wilcoxon	Valor p
	n	Média	Mediana	DP	Min.	Max.	Média	Mediana	DP	Min.	Max.		
Limpeza manual	25	41	6	84,2	0	300	7,92	0	29,1	0	141	213	0,001
Limpeza automatizada	25	75	15	95	0	264	16,1	0	59,3	0	281	218	0,001

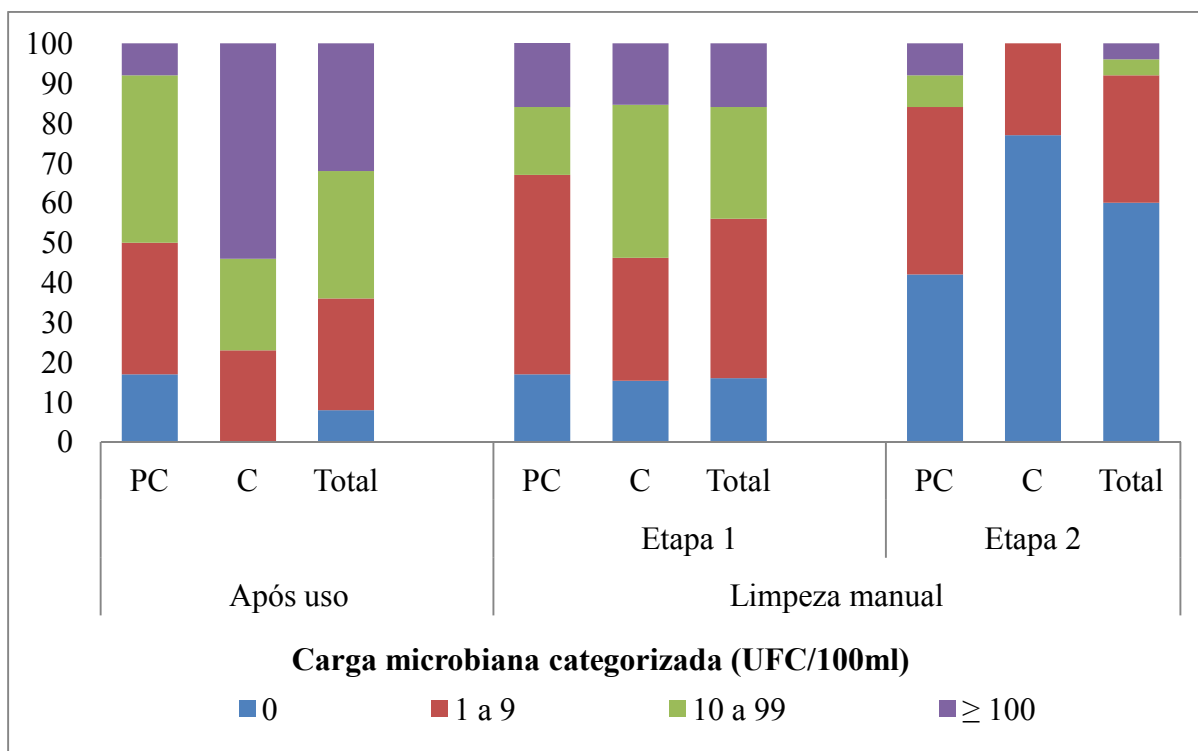
DP: Desvio-padrão.

Quando submetidos à segunda etapa de limpeza em termodesinfectora, os instrumentais apresentaram redução significativa da carga microbiana tanto para aqueles submetidos à limpeza manual ($p = 0,001$) quanto para aqueles submetidos a limpeza automatizada ($p = 0,001$).

Os resultados de carga microbiana recuperada de instrumentais cirúrgicos após o uso clínico em cirurgias do aparelho digestivo e durante as etapas do processo de limpeza manual e automatizado foram categorizados em quatro faixas, em ordem crescente, e apresentados de acordo com o potencial de contaminação dos procedimentos analisados.

Após o uso clínico, apenas duas amostras provenientes de cirurgias potencialmente contaminadas não apresentaram crescimento positivo. Ou seja, foi observado crescimento em 92% das placas avaliadas. Trinta e dois por cento apresentaram carga microbiana na ordem de 10^1 , entre 10UFC/100ml e 99UFC/100ml, e outros 32% acima de 10^2 , ou ≥ 100 UFC/100ml (Gráf. 1). Em instrumentais provenientes de cirurgias potencialmente contaminadas aproximadamente, 65% apresentaram carga microbiana entre 1UFC/100ml e 9UFC/100ml. Com relação às cirurgias contaminadas após o uso clínico, 53% dos instrumentais apresentaram carga microbiana acima de 100UFC/100ml ou 10^2 UFC/100ml, sendo que destes 71% foram acima de 300UFC/100ml, enquanto para cirurgias potencialmente contaminadas apenas um instrumental esteve nesta faixa.

Após a primeira etapa de limpeza manual, observou-se redução do número de instrumentais com carga microbiana nas duas faixas superiores, de 10UFC/100ml a 99UFC/100ml e ≥ 100 UFC/100ml, que foi mais evidente para cirurgias contaminadas.



PC: Potencialmente contaminada; C: Contaminada; Etapa 1: limpeza manual com detergente enzimático e escovação; Etapa 2: limpeza em termodesinfectora.

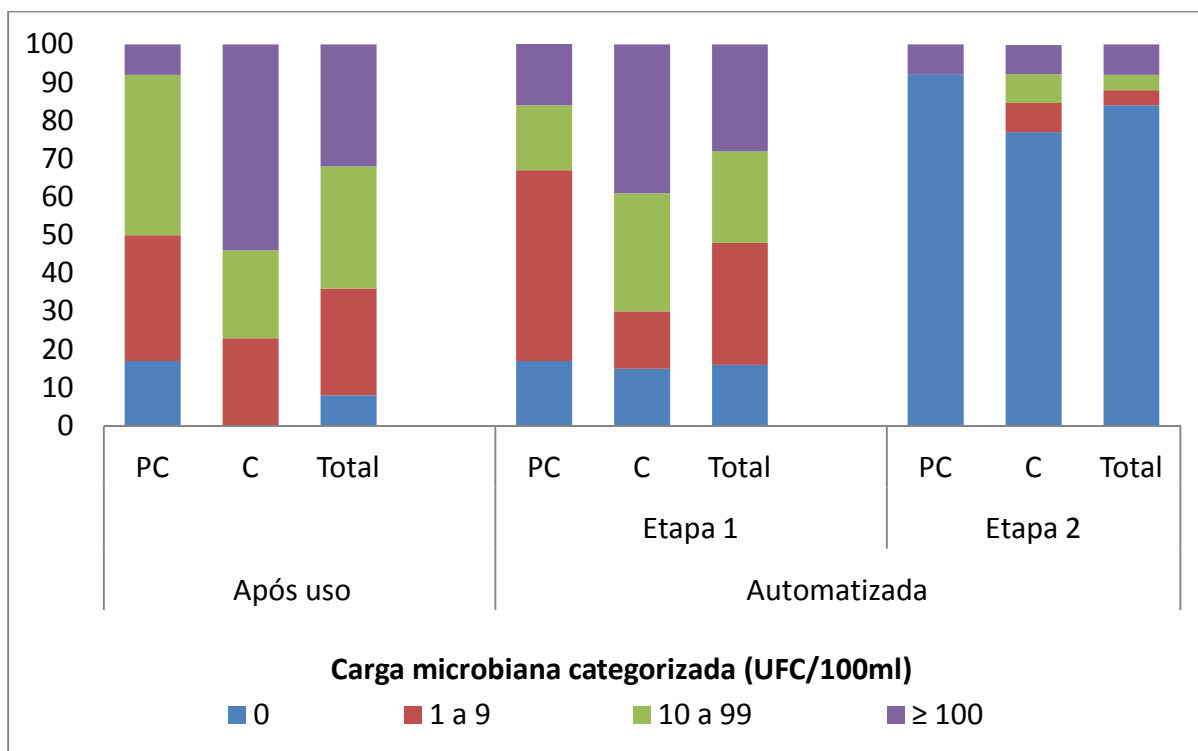
GRÁFICO 1 - Carga microbiana categorizada por potencial de contaminação presente em instrumentais cirúrgicos após o uso, limpeza manual com detergente enzimático (etapa 1) e limpeza em termodesinfectora (etapa 2) - Belo Horizonte, 2014.

Da mesma forma como avaliado acima, as faixas de carga microbiana foram distribuídas de acordo com o potencial de contaminação para instrumentais submetidos à limpeza automatizada (Gráf. 2).

Na primeira etapa de limpeza automatizada, cirurgias contaminadas apresentaram o maior número de instrumentais com carga microbiana acima de 100UFC/100 ml enquanto para cirurgias potencialmente contaminadas a maioria apresentou carga microbiana mais concentrada entre 0UFC/100ml e 9UFC/100ml. A porcentagem de instrumentais utilizados em cirurgias potencialmente contaminadas que apresentaram carga microbiana acima de 100UFC/100ml após limpeza em lavadora ultrassônica aumentou em relação à observado na etapa de coleta anterior, após o uso.

Cerca de 85% de instrumentais submetidos à limpeza automatizada, após a última etapa em lavadora termodesinfectora, não apresentaram carga microbiana detectável. Valores maiores que 100UFC/100ml foram observados em todas as etapas analisadas, inclusive na

última, que antecede a etapa de empacotamento quando estes produtos são manipulados, muitas vezes, sem luvas pelos profissionais.



PC: Potencialmente contaminada; C: Contaminada; Etapa 1: limpeza em lavadora ultrassônica; Etapa 2: limpeza em termodesinfectora.

GRÁFICO 2 - Carga microbiana categorizada por potencial de contaminação presente em instrumentais cirúrgicos após o uso, limpeza automatizada em ultrassônica (etapa 1) e limpeza em termodesinfectora (etapa 2) - Belo Horizonte, 2014

A carga microbiana total encontrada ao longo das etapas sequenciais de limpeza apresentou aumento do número de colônias de micro-organismos isolados nas coletas de número 2, 4, 7, 11, 17, 19 e 23 quando comparada à carga inicial em relação àquela encontrada nos instrumentais após a limpeza em lavadora ultrassônica e nas coletas de número 5, 11, 16 e 21, quando comparada à carga microbiana inicial em relação àquela vista após a limpeza manual com solução de detergente enzimático (APÊNDICE C). Exemplo deste fato pode ser demonstrado na coleta de número 11, quando a carga microbiana após o uso foi de 8UFC/100ml subindo para 136UFC/100ml após a limpeza em lavadora ultrassônica.

4.2 Perfil de micro-organismos recuperados de instrumentais cirúrgicos utilizados em cirurgias do aparelho digestivo durante etapa de limpeza

Um total de 75 bastonetes Gram negativo, 31 cocos Gram positivo, 12 bastonetes Gram positivo e 70 fungos (filamentosos e leveduriformes) foi isolado, sendo todos avaliados presuntivamente e os de maior relevância clínica submetidos à identificação manual e automatizada. Durante a recuperação da carga microbiana em instrumentais após o uso clínico, apenas duas amostras não apresentaram crescimento microbiano (8%). Os micro-organismos isolados no restante das amostras para esta etapa são apresentados na TAB. 6.

TABELA 6 - Micro-organismos isolados em instrumentais cirúrgicos após uso clínico em cirurgias do aparelho digestivo - Belo Horizonte, 2014

Micro-organismos isolados	Frequência **	Incidência % **
Cocos Gram Positivos	12	48
<i>Staphylococcus</i> spp. coagulase negativo	11	44
Não identificado	1	4
Bastonetes Gram Negativos	11	44
<i>Enterobactérias</i>	9	36
<i>Aeromonas salmonicida</i>	2	8
<i>Citrobacter koseni</i>	1	4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	8
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	4
<i>Escherichia coli</i>	6	24
<i>Micrococcus luteus</i>	1	4
Não fermentadores da glicose	5	20
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	4
<i>Pseudomonas putida</i>	2	8
<i>Pseudomonas</i> spp.	1	4
<i>Stenotrophomonas malthophilia</i>	2	8
Não identificado	1	4
Bastonetes Gram Positivos	2	8
Não identificados	2	8
Fungos	20	80
<i>Acremonium</i> spp.	3	12
<i>Aspergillus</i> spp.	6	24
<i>Cladosporium</i> spp.	7	28
<i>Minemonielas</i> spp.	1	4
<i>Nigrospora</i> spp.	1	4
<i>Paecilomyces</i> spp.	1	4
<i>Penicillium</i> spp.	2	8
<i>Candida albicans</i>	3	12

* Frequência de ocorrência por cirurgias* incidência: número de vezes que foi isolado/número de amostras.

Cocos Gram positivo foram isolados em 48% das amostras, sendo que em 44% das vezes o gênero mais isolado foi o que compreende o grupo dos *Staphylococcus* coagulase negativo, enquanto que entre os bastonetes Gram negativo também em 44% dos materiais analisados *Escherichia coli* foi o micro-organismos mais incidente. Fungos foram isolados em 80% das amostras analisadas.

Das 25 amostras provenientes de instrumentais cirúrgicos após limpeza manual com detergente enzimático 6 (24%) não apresentaram crescimento microbiano. Os micro-organismos recuperados dos 19 procedimentos restantes (76%) estão apresentados na TAB. 7. Bastonetes Gram negativo foram recuperados em 13 instrumentais cirúrgicos (52%), enquanto cocos Gram positivo foram recuperados em cinco. Os principais gêneros de micro-organismos isolados nesta fase foram: *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., e *Stenotrophomonas* spp.

TABELA 7 - Micro-organismos isolados em instrumentais cirúrgicos após limpeza manual com imersão em detergente enzimático e escovação - Belo Horizonte, 2014

Micro-organismos isolados	Frequência **	Incidência % **
Cocos Gram positivo	5	20
<i>Staphylococcus</i> coagulase negativo	5	20
Bastonetes Gram Negativo	13	52
Enterobactérias	1	4
<i>Kluivera intermédia</i>	1	4
Bastonetes Gram negativo não fermentadores	12	48
<i>Acinetobacter ursingii</i>	1	4
<i>Elizabethkingea meningoséptica</i>	1	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	12
<i>Pseudomonas mendoncina</i>	1	4
<i>Pseudomonas putida</i>	4	16
<i>Pseudomonas</i> spp.	3	8
<i>Stenotrophomonas malthophilia</i>	4	16
Não identificados	3	12
Bastonetes Gram positivo	3	12
Não identificados	3	12
Fungos	13	52
<i>Penicillium</i> spp.	3	12
<i>Mycelia sterilia</i>	1	4
<i>Acremonium</i>	1	4
<i>Aspergillus</i> spp.	4	4
<i>Cunninghamella</i>	1	4
<i>Cladosporium</i> spp.	2	8
<i>Candida</i> spp.	4	16

* Frequência de ocorrência por cirurgias* incidência: número de vezes que foi isolado /número de amostras.

Após a segunda etapa do processo de limpeza manual, ou seja, limpeza em termodesinfectora, 14 instrumentais (56%) não apresentaram crescimento microbiano. Nos 44% de amostras restantes foram identificados cocos Gram positivo (16%), bastonetes Gram positivo (12%) e fungos (24%), como pode ser observado na TAB. 8.

TABELA 8 - Micro-organismos isolados em instrumentais cirúrgicos em cirurgias do aparelho digestivo após etapa 2 do processo de limpeza manual (Termodesinfectora) - Belo Horizonte, 2014

Micro-organismos isolados	Frequência *	Incidência %**
Cocos Gram positivo	4	16
<i>Staphylococcus</i> coagulase negativo	3	12
<i>Aerococcus viridans</i>	1	4
Bastonetes Gram Positivo	3	12
Não identificados	3	12
Fungos	6	24
<i>Aspergillus</i> spp.	3	12
<i>Cladosporium</i> spp.	1	4
<i>Mycelia sterilia</i>	1	4
<i>Penicillium</i> spp.	1	4

* Frequência de ocorrência por cirurgias*incidência: número de vezes que foi isolado /número de amostras.

Com relação às análises após a limpeza em lavadora ultrassônica, não foi observado crescimento microbiano em 3 (12%) dos instrumentos avaliados. Os micro-organismos recuperados dos 22 procedimentos restantes (88%) estão apresentados na TAB. 9. Cocos Gram positivo, na sua totalidade representados por *Staphylococcus* coagulase negativa, foram isolados em 12% dos instrumentais. Bastonetes Gram negativo foram os micro-organismos recuperados com maior frequência, em 68% dos instrumentais, sobretudo os não fermentadores da glicose, *Acinetobacter baumannii complexx* (20%), *Pseudomonas putida* (16%) e *Pseudomonas aeruginosa* (16%) e *Stenotrophomonas maltophilia* (16%). Foram recuperados também fungos em 12% das análises, sobretudo os do gênero *Aspergillus*.

Tabela 9 - Micro-organismos isolados em instrumentais cirúrgicos utilizados em cirurgias do aparelho digestivo e submetidos a limpeza automatizada em lavadora ultrassônica - Belo Horizonte, 2014

Micro-organismos isolados	Frequência*	Incidência %**
Cocos Gram Positivo	3	12
<i>Staphylococcus</i> spp. coagulase negativo	3	12
Bastonetes Gram negativo	17	68
Enterobactérias	5	20
<i>Escherichia coli</i>	1	4
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	8
<i>Pantoea</i> spp.	1	4
<i>Kluivera intermèdia</i>	2	8
Não fermentadores da glicose	17	68
<i>Achromobacter denitrificans</i>	1	4
<i>Acinetobacter baumannii complexx</i>	5	20
<i>Acinetobacter ursingii</i>	1	4
<i>Cryseobacterium indologenes</i>	1	4
<i>Elizabethkingea meningoseptica</i>	2	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	12
<i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	1	4
<i>Pseudomonas putida</i>	4	16
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1	4
<i>Stenotrophomonas malthophilia</i>	4	16
Não identificados	5	20
Bastonetes Gram Positivo	1	4
Não identificados	1	4
Fungos	12	48
<i>Actinomicetos</i> spp.	1	4
<i>Aspergillus</i> spp.	4	16
<i>Candida parapsilosis</i>	1	4
<i>Candida</i> spp.	4	16
<i>Cladosporium</i> spp.	3	12
<i>Penicillium</i> spp.	1	4
<i>Rhodotorula</i> spp.	2	8
<i>Trichosporon asahii</i>	1	4

* Frequência de ocorrência por cirurgias*incidência: número de vezes que foi isolado /número de amostras.

Após limpeza automatizada em lavadora ultrassônica e posterior limpeza em lavadora termodesinfectora, 9 instrumentais (36%) ainda apresentavam crescimento microbiano. A TAB. 10 demonstra os micro-organismos recuperados nesta etapa. Cocos Gram positivo, representados exclusivamente por aqueles do grupo dos *Staphylococcus* coagulase negativa e

pelos fungos (leveduriformes e filamentosos), foram os principais micro-organismos recuperados e estiveram presentes em 16% das amostras.

Tabela 10 - Micro-organismos isolados em instrumentais cirúrgicos em cirurgias do aparelho digestivo após segunda etapa de limpeza automatizada - Belo Horizonte, 2014

Micro-organismos isolados	Frequência *	Incidência (%) **
Cocos Gram positivo	4	16
<i>Staphylococcus</i> spp. coagulase negativo	4	16
BGP	3	12
Não identificados	3	12
Fungos	4	16
<i>Aspergillus</i> spp.	3	12
<i>Curvularia</i> spp.	1	4
<i>Cladosporium</i> spp.	2	8

* Frequência de ocorrência por cirurgias*incidência: número de vezes que foi isolado /número de amostras.

As amostras biológicas coletadas nos instrumentais após o uso clínico, filtradas em membrana de 0,45µm e novamente filtradas em membrana de 0,22 µm, apresentaram crescimento microbiano em quase metade das placas analisadas (12/25). Naquelas em que foi verificado crescimento microbiano, 3 apresentaram carga microbiana na faixa entre 1 e 10UFC/100ml, 2 entre 11UFC/100ml - 100UFC/100ml e em duas ocasiões foram verificadas carga microbiana >300UFC/100ml, o que também foi observado nas membranas de 0,45µm correspondentes.

5. DISCUSSÃO

Foram avaliados 125 instrumentais cirúrgicos em cinco diferentes momentos da etapa de limpeza utilizados em cirurgias do aparelho digestivo, com o intuito de verificar a carga e o perfil dos micro-organismos presentes nestes instrumentais. Tais instrumentais eram provenientes de 25 cirurgias, sendo que 52% foram classificadas como “potencialmente contaminadas” dentre as quais derivação bílio-digestiva (12%) foi a mais comum; e 48% como “contaminadas” sendo que para este grupo retrossigmoidectomia foi a mais comum (32%).

Dentre os instrumentais que compuseram a amostra deste estudo, pinças tipo crile, utilizadas para hemostasia, foram as mais selecionadas, devido à sua conformação e a seu *design*, que favorecem o maior acúmulo de sujidade visível, atendendo, assim, ao critério de inclusão.

A umidificação prévia dos instrumentais não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação à carga microbiana recuperada, possivelmente, pelo reduzido tamanho amostral originado de apenas 25 procedimentos cirúrgicos. Acrescente-se a isso o fato de as coletas terem sido realizadas em geral em até 30 minutos após o término do procedimento cirúrgico. De outro lado, este achado reafirma o aspecto de que a manutenção de um ambiente úmido melhora os resultados obtidos durante o processo de limpeza reduzindo o tempo despendido durante o processamento dos instrumentais e os custos (Secker, Hervé e Keevil, 2011). Na CME, a impossibilidade de processar todo o material imediatamente após sua utilização no bloco cirúrgico torna necessário o emprego desta técnica como forma de reduzir a adesão de matéria orgânica a estes materiais facilitando sua remoção nas etapas posteriores.

A média de carga microbiana observada ao longo das etapas de limpeza analisadas foi decrescentes e de forma mais pronunciada no método manual que no automatizado. A comparação entre estes dois métodos revelou que a redução de carga microbiana foi significativa para instrumentais submetidos à limpeza manual com o emprego de escovação e imersão em detergente enzimático ($p = 0,015$). Contudo, o mesmo não foi observado para instrumentais submetidos à limpeza automatizada em lavadora ultrassônica ($p = 0,094$).

Estudos que se propuseram a comparar e avaliar diferentes protocolos de limpeza empregados em PPS são unânimes em ratificar a superioridade dos métodos automatizados

em relação ao manual. A limpeza manual, ou com uso de ultrassônica, não foi suficiente para garantir a limpeza de pinças de biopsia de uso único (ALFA *et al.*, 2006), tesouras e pinças utilizadas em cirurgias de laparoscopia minimamente invasivas (ALFA e NEMES, 2004) e papilótomos triplo lúmen de uso único, sendo a utilização de lavadora automatizada com fluxo retrógrado o único método efetivo nesta função.

Um dos desafios que podem sustentar os achados deste estudo se deve ao fato de ainda existirem dificuldades relacionadas à execução da etapa de limpeza.

Na instituição avaliada, como rotina, os funcionários recebem treinamentos a cada seis meses, ministrados pelos próprios enfermeiros do setor. O protocolo de limpeza manual existe e o referente à limpeza em lavadora ultrassônica está em fase de elaboração. Para este equipamento, a equipe de enfermagem recebeu treinamento ministrado pelo fabricante no período de aquisição do produto, sendo orientada a troca de solução de limpeza de acordo com a turvação do meio ou a cada troca de plantão.

O pior desempenho apresentado por lavadoras ultrassônicas em relação à limpeza manual observado neste estudo, pode estar relacionado ao fato de que a limpeza automatizada é o método mais utilizado na instituição avaliada e o critério de turvação do meio se refere a uma forma de avaliação subjetiva pelo operador e, portanto, mais propensa a falhas.

A RDC 55/2012, que regulamenta no Brasil o uso e comercialização de detergentes enzimáticos, recomenda a utilização destes produtos logo após o preparo e alerta para a perda de eficiência em caso de reutilização. No entanto, não explicita a necessidade da troca a cada uso, o que deixa lacunas para a subjetividade das interpretações e a proposição de protocolos que acabam trazendo prejuízos ao processo de limpeza (BRASIL, 2012).

Maior atenção deve ser dada às soluções de detergente enzimático preparadas para utilização em lavadoras ultrassônicas, pela probabilidade de saturação, perda de efetividade e atuação como meio de cultura para micro-organismos, favorecendo o aumento de carga microbiana nos instrumentais por se tornarem contaminadas. Pode, ainda, a solução atuar como fonte de transmissão de micro-organismos, impactando o resultado do processo quanto à elevação da carga microbiana dos instrumentais submetidos a este processo, em comparação com aqueles submetidos a limpeza manual (BRITISH COLUMBIA, 2011).

Lavadoras ultrassônicas são equipamentos com alta capacidade de limpeza pela ação de ondas sonoras de alta frequência, sendo seu uso obrigatório, segundo regulamentação nacional, visando à efetividade da limpeza de PPS de conformação complexa e para aqueles

com lúmen inferior a cinco milímetros. Contudo, os resultados deste estudo trazem a reflexão de que apenas a disponibilidade do equipamento não é suficiente para garantir a melhoria do processo de limpeza se o protocolo de utilização desta não estiver adequado à indicação de uso das soluções ou se não forem operadas adequadamente. De fato, o grande desafio evidenciado está relacionado ao profissional que opera estes equipamentos; ou seja, formação, treinamento e supervisão dos recursos humanos.

A menor efetividade da limpeza automatizada encontrada não pode ser generalizada. No entanto, traz em si um importante alerta quanto ao uso correto do equipamento, das soluções de limpeza e da manipulação pelos profissionais, podendo, quando inadequados, impactar não só a qualidade da limpeza, mas também a possibilidade de surtos e eventos adversos relacionados ao uso de produtos processados.

Apesar dos resultados divergentes encontrados entre as primeiras etapas dos métodos manuais e automatizado com relação à redução de carga microbiana quando submetidos a limpeza em lavadora termodesinfectora, a redução foi significativa tanto para instrumentais submetidos à limpeza manual ($p = 0,001$) quanto à automatizada ($p = 0,001$) evidenciando a importância da utilização de lavadoras termodesinfectoras para a redução final de carga microbiana em PPS.

As lavadoras desinfectoras têm sido apontadas como um método seguro para o processamento de PPS, mas devem atender às normas estabelecidas pelos fabricantes e pela legislação vigente com relação a instalação, manutenção, validação, reparo e monitorização, pois a garantia de que a carga não vai ser recontaminada depende da eficácia das etapas de limpeza e desinfecção no interior destes equipamentos (NHS ESTATES, 2013). Assim, a capacidade de limpeza destes equipamentos pode variar entre instituições, como observado por Murdoch *et al.* (2006), que encontraram níveis de carga proteica e de matéria orgânica bastante divergentes entre instrumentais cirúrgicos submetidos a limpeza em lavadora desinfectora provenientes de cinco diferentes hospitais.

Neste estudo, em algumas coletas o valor absoluto de carga microbiana recuperada aumentou entre as etapas sequenciais em instrumentais submetidos a limpeza manual com escovação e imersão em solução de detergente enzimático e automatizada com uso de ultrassônica possivelmente, devido à presença de contaminantes em solução de detergente enzimático. Em geral, o processo de limpeza reduz a carga microbiana. Contudo, podem ser observadas ocasiões em que esta é aumentada. Este fato aponta para a recontaminação do

instrumental ao longo das etapas de limpeza. Esta condição foi observada em 6/18 instrumentais avaliados por Chan- Myers *et al.* (1997) quando foram isolados cocos e bacilos Gram positivo provenientes, provavelmente, da manipulação destes instrumentais pelos profissionais durante seu preparo.

Foi observada ainda neste estudo a recuperação de carga microbiana em amostras refiltradas em membrana de 0,22 μ m, o que pode estar relacionado à presença de micro-organismos com diâmetro menor que 0,45 μ m ou, ainda, à grande concentração destes nas amostras, levando ao extravasamento deles. A filtração em membrana de 0,22 μ m foi utilizada anteriormente por Villas-Boas *et al.* (2009) para avaliação de carga microbiana em trocater provenientes de cirurgias limpas. Contudo, a maioria dos estudos nesta área emprega membranas de 0,45 μ m (NYSTROM, 1981; RUTALA *et al.*, 1998; CHU *et al.*, 1999; PINTO *et al.*, 2010).

O potencial de contaminação dos procedimentos cirúrgicos alterou significativamente a carga microbiana recuperada nos instrumentais analisados ($p = 0,007$). Ou seja, cirurgias contaminadas apresentaram, como esperado, maior taxa de recuperação microbiana após o uso clínico comparado às cirurgias potencialmente contaminadas. Ainda assim, esperando-se uma maior contaminação nestas cirurgias, Nystrom (1981) não observou relação entre a carga microbiana de instrumentais provenientes de diferentes potenciais de contaminação avaliados (limpa/potencialmente contaminada versus contaminada/infectada). Porém há que se considerar que o referido autor avaliou um reduzido número de cirurgias contaminadas/infectadas ($n = 4$) comparado a um maior quantitativo de limpa/potencialmente contaminada ($n = 27$).

Pinto (2009), ao analisar a carga de micro-organismos recuperados de instrumentais cirúrgicos utilizados em procedimentos ortopédicos limpos, contaminados e infectados, observou uma diferença estatisticamente significativa de crescimento microbiano nestes instrumentais entre cirurgias limpas e contaminadas ($p = 0,08$) e entre cirurgias limpas e infectadas ($p < 0,001$), de forma coerente com os achados deste estudo.

Instrumentais cirúrgicos podem se contaminar durante o ato cirúrgico por contato com a microbiota residente da pele do paciente ou da equipe cirúrgica, em decorrência da inadequada preparação da pele da equipe ou do paciente ou por contato com micro-organismos do trato digestivo, duodeno ou cólon (SAITO *et al.*, 2014). Cirurgias limpas são realizadas em tecidos estéreis ou passíveis de descontaminação enquanto cirurgias

potencialmente contaminadas, contaminadas e infectadas ocorrem em áreas colonizadas por micro-organismos da microbiota do paciente ou envolvidos em processo infeccioso (BRASIL, 1992) e podem servir como fonte de contaminação para instrumentais cirúrgicos utilizados nestes procedimentos.

Outros fatores que podem estar envolvidos tanto no risco de contaminação do campo cirúrgico quanto destes instrumentais são fontes externas e incluem ar, equipe cirúrgica, preparo pré-operatório da pele, técnica cirúrgica, manutenção da limpeza da sala de cirurgia e superfícies, uso adequado de paramentação cirúrgica e troca de luvas durante os procedimentos com mais de três horas (OMS, 2009).

Após o uso clínico, foi verificado crescimento em 92% das amostras analisadas, sendo que 32% apresentaram carga microbiana entre 10UFC/100 ml e 99UFC/100 ml e outros 32%, acima de 100UFC/100 ml. Os 8% que não apresentaram crescimento foram referentes às cirurgias potencialmente contaminadas. A carga microbiana nesta etapa variou de 0 UFC/100 ml a 300UFC/100 ml. Cinco instrumentais, entre os 25 analisados, apresentaram carga microbiana maior que 300UFC/100 ml.

A avaliação da carga microbiana de instrumentais cirúrgicos imediatamente após a utilização em procedimentos ortopédicos, conforme o potencial de contaminação, evidenciou que em cirurgias limpas 47% dos instrumentais apresentaram crescimento positivo, enquanto este percentual foi de 70% para cirurgias contaminadas e 80% para infectadas (PINTO *et al.*, 2010). A maior parte dos instrumentais apresentou nível de contaminação entre 1UFC/150ml e 100UFC/150ml sendo que 13 amostras apresentaram crescimento microbiano com mais de 300UFC/150ml.

Em PPS com lúmen, a carga microbiana após o uso variou entre 12 UFC/instrumental e 11.940UFC/instrumental (Chan-Myers *et al.*, 1997). Vale considerar aqui a natureza diferente dos instrumentais avaliados e o fato de que a carga microbiana foi estimada para o instrumental como um todo, ao passo que neste estudo refere-se à carga microbiana recuperada em 100ml de uma amostra inicial de 500ml. Outro estudo objetivou coletar dados com relação ao nível e ao tipo de contaminação microbiana em instrumentais cirúrgicos utilizados em cavidades estéreis. A carga microbiana após o uso clínico nestes materiais variou de 0UFC a 4.415UFC, 27% dos instrumentais apresentaram carga acima de 10^2 UFC e 12% maior que 10^3 UFC (CHU *et al.*, 1999). Instrumentos cirúrgicos utilizados em cavidades estéreis do corpo tiveram relativamente baixos níveis de carga microbiana, em média

10^2 UFC, quando comparados a instrumentos utilizados em cavidades não estéreis (endoscópios), que têm entre 10^5 UFC e 10^9 UFC (CHU *et al.*, 1999). Durante a avaliação de trocateres reprocessáveis utilizados em cirurgias limpas não foi evidenciado crescimento bacteriano em 53% destes produtos após o uso. Trinta e oito por cento destes PPS apresentaram carga microbiana entre 1UFC e 10UFC, 7% entre 10UFC e 100UFC e 1,7% maior que 100UFC. A carga microbiana variou entre 0 e 39 para trocater de 5mm e entre 0 e 478UFC para os de 10mm (VILAS-BOAS *et al.*, 2009).

Ao final da etapa de limpeza não foi recuperada carga microbiana na maioria dos instrumentais: 60% naqueles provenientes do processo manual e 85% naqueles submetidos ao automatizado. Contudo, carga acima de 100UFC/100ml foi observada em todas as etapas analisadas, inclusive na última, que antecede a etapa de empacotamento.

A avaliação de carga microbiana em instrumentais cirúrgicos provenientes de diferentes especialidades após a limpeza evidenciou que em 72% das amostras foram identificadas 10UFC por instrumental ou menos, em 14% foram recuperadas entre 11UFC e 100UFC e outras 14% apresentaram mais de 100UFC (RUTALA *et al.*, 1998). Em instrumentais cirúrgicos avaliados após a etapa de limpeza, 60% apresentaram carga microbiana menor que 10UFC por instrumental, 20% entre 10UFC -100UFC e outros 10% entre 100UFC e 1000UFC (NYSTROM, 1981). No estudo de Chan-Myers *et al.* (1997), 9/18 instrumentais apresentaram carga microbiana menor que 10^2 UFC e nenhum maior que 10^4 UFC após etapa de limpeza.

Em instrumentais cirúrgicos utilizados em cirurgias limpas, para 23% não foi observada diferença com relação à carga microbiana antes e após a limpeza, 32% tiveram uma redução logarítmica e 45% apresentaram aumento de carga microbiana, tendo sido observada, ainda, mudança no perfil de micro-organismos isolados para alguns instrumentais, provavelmente, por recontaminação (CHU *et al.*, 1999). Após a desinfecção, os instrumentais são manipulados sem a utilização de luvas e pode ser acrescentada carga microbiana a estes produtos (CHAN-MYERS *et al.*, 1997; CHU *et al.*, 1999).

Com relação à identificação do perfil de micro-organismos presentes em instrumentais cirúrgicos provenientes de cirurgias do aparelho digestivo, *Staphylococcus* coagulase negativo estiveram entre os micro-organismos mais isolados em todas as etapas avaliadas. Além destes, as principais bactérias isoladas por etapa foram *Escherichia coli* após o uso e *Pseudomonas*

spp. e *Stenotrophomonas maltophilia* após primeira etapa de limpeza manual e automatizada, sendo que nesta última *Acinetobacter baumannii complex* também prevalente.

Estudos que se propuseram a avaliar a carga microbiana em instrumentais cirúrgicos após utilização em procedimentos clínicos mostraram maior frequência de *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp. e Difteróides, enquanto que após a limpeza, além destes, foram recuperados bastonetes Gram negativo não fermentadores, *Stenotrophomonas* e *Pseudomonas* (Chan-Myers, Mcalister e Antonoplos, 1997; CHU *et al.*, 1999; VILAS-BOAS *et al.*, 2009; PINTO *et al.*, 2010; SAITO *et al.*, 2014).

Os principais micro-organismos recuperados em instrumentais contendo lumens após o uso foram cocos Gram Positivo (*Staphylococcus* e *Micrococcus*) e Difteróides. Já após a limpeza, houve predomínio de *Stenotrophomonas*, *Bacillus*, Difteróides, *Pseudomonas* e *Staphylococcus* (Chan-Myers, Mcalister e Antonoplos, 1997). Resultado bastante semelhante foi descrito por Chu *et al.* (1999) durante a avaliação de instrumentais cirúrgicos após o uso clínico relatando a recuperação de cocos Gram positivo (*Staphylococcus* e *Micrococcus*) e bastonetes Gram positivo (Difteróides e *Bacillus*) e após a limpeza um predomínio de cocos Gram positivos e bastonetes Gram negativos não fermentadores com *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Stenotrophomonas* e *Pseudomonas*. Rutala *et al.* (1998) também avaliando instrumentais cirúrgicos, verificou que os micro-organismos de contaminação de PPS mais comumente isolados após a limpeza foram *Staphylococcus* coagulase negativo, *Bacillus* spp., Difteróides, *Alcaligenes xylosoxidans*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Micrococcus* spp e *Propionibacterium* spp.

De acordo com estudo realizado em trocateres reprocessáveis espécies do grupo de *Staphylococcus* coagulase negativo (28%) foram predominantes, seguida de *Bacillus* spp. (21%), Enterobacteriaceae (5%), (*Escherichia coli*, *Pantoea agglomerans* e *Enterobacter cloacae*), *Staphylococcus aureus* (4%), *Aeromonas hydrophila*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida parapsilosis* (7%) (VILAS-BOAS *et al.*, 2009). Em cirurgias ortopédicas, os principais micro-organismos isolados em cirurgias limpas, contaminadas e infectadas foram, respectivamente, *Staphylococcus* (28%) e *Bacillus subtilis* (11%), *Staphylococcus* coagulase negativo (32%) e *Staphylococcus aureus* (28%) e *Staphylococcus aureus* (43%) e *Staphylococcus* coagulase negativo (29%) (PINTO *et al.*, 2010).

Os micro-organismos recuperados após a limpeza podem ser provenientes de pacientes, do ambiente hospitalar ou da manipulação dos profissionais sem luvas após o

processamento. Apesar do objetivo de redução de carga microbiana associada ao procedimento cirúrgicos, durante de limpeza podem ser introduzidos novos patógenos nesta etapa (CHU *et al.*, 1999).

A contaminação do instrumental pode ocorrer com frequência durante o ato cirúrgico, apesar das várias medidas preventivas recomendadas, incluindo-se o uso de antimicrobianos profiláticos, o preparo da pele e a utilização de técnica asséptica, não somente por contato direto com o paciente e superfícies contaminadas, mas também por contato indireto por meio de luvas contaminadas (SAITO *et al.*, 2014). A microbiota do paciente pode ser transmitida via instrumental cirúrgico por todo o campo operatório, tornando-se patógenos potenciais para infecções de feridas operatórias (SAITO *et al.*, 2014).

É importante considerar não somente a carga microbiana adquirida do contato com o paciente, mas também o crescimento de micro-organismos contaminantes do ambiente durante o processamento (PENNA *et al.*, 1999). A recuperação de fungos no ambiente, como observado neste estudo, pode ser utilizada como um marcador de contaminação ambiental, assim como o aumento de carga microbiana observado em instrumentais durante a primeira etapa de limpeza chama a atenção para a contaminação das soluções utilizadas nesta etapa.

A presença de fungos foi observada em 88% dos instrumentais analisados neste estudo, valor este bastante divergente daqueles observados em estudos prévios. Chan-Myers *et al* (1997) recuperou estes micro-organismos em 8% e 6% dos instrumentais avaliados antes e após a limpeza respectivamente. Em instrumentais provenientes de laparoscopia esta porcentagem foi de 6.8% (SAITO *et al*, 2009). Vilas - Boas *et al* (2009) identificou *Penicillium* sp., *Candida parapsilosis* e *Aspergillus* sp. em 4,2% de amostras provenientes de trocarteres.

Pinto *et al* (2009), empregando meio específico para o isolamento de fungos recuperou em 1% dos instrumentais provenientes de cirurgias ortopédicas limpas *Trichophyton* sp. e *Penicillium* sp. enquanto em instrumentais utilizados em cirurgias ortopédicas contaminadas foram isolados *Candida albicans*, *Trichophyton* sp. e *Penicillium* sp. numa faixa entre 1 e 3%.

A recuperação de fungos em porcentagens elevadas neste estudo pode relacionar-se ao ambiente propício ocasionado pela presença de calor e umidade, condições estas que favorecem o crescimento e o desenvolvimento destes micro-organismos. Na instituição avaliada, a temperatura recomendada, entre 18°C e 22°C, não pode ser assegurada, uma vez que não há sistema de climatização na área de limpeza e a circulação de ar é feita por meio de

janelas que permitem a comunicação com o ambiente externo. Além disso, na ocasião das coletas foi observada a ocorrência de obras em áreas adjacentes ao setor, o que tem sido visto como uma realidade bastante frequente nas instituições de saúde, muitas vezes, relacionadas à ocorrência e registro de surtos de *Aspergillus* spp. (BRASIL, 2013).

Dentre os principais micro-organismos isolados neste estudo, os do grupo de *Staphylococcus* coagulase negativo foram predominantes, sendo recuperados em todas as etapas de coleta. Este achado corrobora com os demais estudos analisados que buscaram avaliar a carga microbiana em instrumentais cirúrgicos, apontando sempre *Staphylococcus* spp. como o micro-organismo mais recuperado (Chan-Myers et al., 1997; CHU et al., 1999; VILAS-BOAS et al., 2009; PINTO et al., 2010; SAITO et al., 2014), reafirmando que estes, quando recuperados em instrumentais cirúrgicos, podem ser provenientes do contato com a pele do paciente e com luvas perfuradas ou contaminadas dos profissionais durante o ato cirúrgico e, mesmo, a manipulação sem luvas durante o processamento (SAITO et al., 2014). Assim, a presença de *Staphylococcus* em equipamentos e superfícies sugere contaminação cruzada.

Estes micro-organismos são também isolados, sobretudo, na pele e, ainda, em superfícies inanimadas e equipamentos no ambiente hospitalar, como bancadas, estetoscópios e o leito do paciente, potencialmente tocadas por profissionais e pacientes (DAMASCENO, 2010; MORAES et al., 2014). Equipamentos constantemente manipulados podem ser contaminados pela transferência de micro-organismos a partir das mãos dos profissionais e pacientes (MORAES et al., 2014).

Outro aspecto que merece atenção relaciona-se à contaminação do instrumental e à possibilidade de inserção destes micro-organismos na cavidade cirúrgica durante o ato operatório, o que tem sido apontado como um dos fatores fundamentais para a ocorrência de infecções de sítio cirúrgico, reforçando a importância da adesão de boas práticas durante o procedimento cirúrgico, sobretudo, referente ao uso do instrumental, limpeza dele durante o ato cirúrgico, visando à redução constante da carga microbiana presente como forma de reduzir ou impedir a contaminação do sítio operado (OMS, 2009).

As limitações deste estudo estão relacionadas ao número reduzido e, sobretudo, à impossibilidade de contagem de carga microbiana acima de 300UFC, devido à metodologia utilizada. Além disso, as baixas cargas encontradas podem relacionar-se ao fato de que todas as cirurgias coletadas foram da mesma especialidade, envolvendo, portanto, equipes

semelhantes, com hábitos voltados para o cuidado com relação a: prevenção de contaminação dos instrumentais após o ato cirúrgico, técnica cirúrgica adequada, limpeza adequada da sala de cirurgia e umidificação do instrumental após o procedimento cirúrgico. Pode ser citada ainda a obtenção de um resultado determinado pela interferência do fator humano na troca da solução de detergente enzimático.

6 CONCLUSÃO

A média de carga microbiana recuperada em instrumentais cirúrgicos durante a limpeza foi decrescente ao longo das etapas avaliadas tanto para o método manual quanto para o método automatizado. A comparação entre estes métodos revelou que instrumentais submetidos à limpeza manual apresentaram redução significativa de carga microbiana, o que não foi observado para o método automatizado, possivelmente, devido à saturação da solução de limpeza e à limitação do fator humano na operacionalização do processo. No entanto, a utilização de termodesinfecção como última etapa do processo de limpeza foi capaz de promover uma redução significativa destes micro-organismos em instrumentais submetidos a ambos os métodos.

Foi verificada carga microbiana acima de 10^2 UFC/100ml após a limpeza em termodesinfectora. Contudo, os micro-organismos recuperados foram, em geral, contaminantes ambientais provavelmente, relacionados à recontaminação destes instrumentais a partir do ambiente e da mão dos profissionais, e não à ineficiência do método de limpeza utilizado. A presença de carga microbiana na etapa de limpeza, apesar de ser um resultado esperado, deve ser avaliado com cautela quanto à finalidade da limpeza em redução de carga microbiana e contaminação ambiental e quanto à manipulação destes instrumentais durante o processamento.

Instrumentais provenientes de cirurgias contaminadas apresentaram significativamente carga microbiana maior que aqueles provenientes de cirurgias potencialmente contaminadas.

Os principais micro-organismos isolados nos instrumentais foram: *Staphylococcus* coagulase negativo, dentre os cocos Gram positivo; *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter baumannii complexx*, dentre os bastonetes Gram negativo; além de *Cladosporium* spp., *Aspergillus* spp. e *Candida* spp., dentre os fungos. Estes micro-organismos, provavelmente, relacionaram-se a sítio cirúrgico, microbiota do paciente e profissionais de saúde, além de contaminantes do ar e soluções de limpeza.

A qualidade da limpeza tem influência direta na efetividade da esterilização de PPS e a redução de carga microbiana assume importância primordial neste contexto, uma vez que a permanência de micro-organismos nestes produtos pode resultar no risco potencial de transmissão de IRAS. Assim, a avaliação dos métodos de limpeza empregados assume grande

relevância em relação a qualidade e à segurança ofertadas pelo processamento de PPS e deve ser incorporada como rotina nestes serviços.

REFERÊNCIAS

AAMI (Association for the Advancement of Medical Instrumentation). *Chemical sterilization and high-level disinfection in health care facilities*. United States of America. ANSI/AMMI ST 58, 2005. 143 p.

AAMI (Association for the advancement of medical instrumentation). *Reprocessing Summit 2011, Priority Issues from AAMI/FDA Medical device Reprocessing summit*. Association for the advancement of medical instrumentation, 2011. Disponível em: <http://www.aami.org/publications/summits/2011_Reprocessing_Summit_publication.pdf>. Acesso em: 02 de fevereiro de 2013.

ALFA, M. J. Monitoring and improving the effectiveness of cleaning medical and surgical devices. *American Journal of Infection Control*, v. 41, supplement 5, p. S56-S59, mai. 2013. ISSN 0196-6553. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655313000126>>. Acesso em 02 de fevereiro de 2013.

ALFA, M. J.; FATIMA, I.; OLSON, N. Validation of adenosine triphosphate to audit manual cleaning of flexible endoscope channels. *American Journal of Infection Control*, v. 41, n. 3, p. 245-248, mar. 2013. ISSN 0196-6553. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655312007742>>. Acesso em 10 de maio de 2013.

ALFA, M. J.; HOWIE, R. Modeling microbial survival in buildup biofilm for complex medical devices. *Biomed Central Infectious Diseases*, v. 9, p. 56, mai. 2009. ISSN 1471-2334. Disponível em: <<http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2334-9-56.pdf>>. Acesso em 02 de fevereiro de 2013.

ALFA, M. J.; NEMES, R. Inadequacy of manual cleaning for reprocessing single-use, triple-lumen sphinctertomes: Simulated-use testing comparing manual with automated cleaning methods. *American Journal of Infection Control*, v. 31, n. 4, p. 193-207, jun. 2003. ISSN 0196-6553. Disponível em: <<Go to ISI>://WOS:000183363200001 >. Acesso em 10 de dezembro de 2012.

ALFA, M. J.; NEMES, R. Manual versus automated methods for cleaning reusable accessory devices used for minimally invasive surgical procedures. *Journal of Hospital Infection*, v. 58, n. 1, p. 50-58, set. 2004. ISSN 0195-6701. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670104002105>>. Acesso em 12 de janeiro de 2013.

ALFA, M. J. et al. Manual methods are suboptimal compared with automated methods for cleaning of single-use biopsy forceps. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 27, n.

8, p. 841-846, aug. 2006. ISSN 0899-823X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000249084200009 >.

ALFA, M. J.; OLSON, N. Comparison of washer-disinfector cleaning indicators: Impact of temperature and cleaning cycle parameters. *American Journal of Infection Control*, v. 42, n. 2, p. e23-e26, fev. 2014. Disponível em: < <http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-84893189664&partnerID=40&md5=d7c6e8dbd9767789cb0d35d62b47991b> >. Acesso em março de 2014.

ALFA, M. J.; OLSON, N.; AL-FADHALY, A. Cleaning efficacy of medical device washers in North American healthcare facilities. *Journal of Hospital Infection*, v. 74, n. 2, p. 168-177, fev. 2010. ISSN 0195-6701. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670109002941> >. Acesso em 12 de janeiro de 2013.

ALFA, M. J. P. Medical-Device Reprocessing •. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 21, n. 8, p. 496-498, ago. 2000. ISSN 0899823X. Disponível em: < <http://www.jstor.org/stable/10.1086/501792> >. Acesso em 02 de fevereiro de 2013.

AORN (Association of operative registered nurses). *Perioperative standards and recommended practices for inpatient and ambulatory settings*. Denver, CO. 2013. p. 626

APELGREN, K. N. *et al.* Reusable instruments are more cost-effective than disposable instruments for laparoscopic cholecystectomy. *Surgical Endoscopy*, v. 8, n. 1, p. 32-4, jan. 1994. ISSN 0930-2794. Disponível em: < <http://link-springercom.ez27.periodicos.capes.gov.br/article/10.1007%2FBF02909490>. Acesso em 12 de dezembro de 2012;

BAXTER, R. L. *et al.* Quantitative analysis of residual protein contamination on reprocessed surgical instruments. *The Journal of Hospital Infection*. England, v.63, n.4, jun. 2006. p.439-44. ISBN 0195-6701. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3023740/pdf/1757-1146-4-2.pdf>. Acesso em 02 de fevereiro de 2013.

SILVA, R. A. B. *et al.* Effect of different methods of sterilization on the inactivation of bacterial endotoxin (LPS) in endodontic files. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 38, n. 2, p. 270-272, apr./jun. 2007. ISSN 1517-8382. Disponível em: <Go to ISI>://WOS:000252898400015 >. Acesso em 15 de março de 2013.

BRASIL. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Portaria nº 930, de 27 de agosto de 1992. Estabelece normas para o controle da infecção hospitalar e revoga a portaria nº 196. *Diário Oficial da União*, Brasília, Seção 1, p. 1279 - 12281, 4 de set.1992.

BRASIL. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Nota técnica. Micobactérias. *Diário Oficial da União*, Brasília 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Nota técnica conjunta n° 01/2009 SVS/MS e ANVISA*. Infecções por micobactérias de crescimento rápido: fluxo de notificações, diagnósticos clínicos, microbiológico e tratamento. Brasília: Ministério da Saúde, 2009a. Disponível em: < http://www.anvisa.gov.br/hotsite/hotsite_micobacteria/nota_tecnica_conjunta.pdf>.

BRASIL. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Informe técnico n° 01/2009*. Princípios básicos para limpeza de instrumental cirúrgico em serviços de saúde. Brasília: Ministério da saúde, 2009b. Disponível em < http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/controle/Alertas/2009/informe_tecnico_1.pdf>

BRASIL. Ministério da saúde. Portaria n° 2.914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. *Diário Oficial da União*, BRASÍLIA: Ministério da Saúde, 2011. Disponível em < http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt2914_12_12_2011.html>

BRASIL. Ministério da saúde. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) 55 de 14 de novembro de 2012. Dispõe sobre os detergentes enzimáticos de uso restrito em estabelecimentos de assistência à saúde com indicação para limpeza de dispositivos médicos e dá outras providências. *Diário Oficial da União*. BRASÍLIA, 2012a. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/5b22ac004d9a646fb63ff7c116238c3b/27+de+novembro+RDC+55_2012+-+Detergentes+Enzimaticos.pdf?MOD=AJPERES

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 15, de 15 de março de 2012. Dispõe sobre os requisitos de boas práticas para o processamento de produtos para a saúde e dá outras providências. *Diário Oficial da União*. BRASÍLIA. 2012b. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0015_15_03_2012.html.

BRASIL. Ministério da saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). *Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 8: Detecção e identificação de fungos de importância médica*. Brasília: 46 p. 2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br>.

BRITISH COLUMBIA. Ministry of Health. *Best Practice Guidelines For Cleaning, Disinfection and Sterilization of Critical and Semi-critical Medical*: BC Health authorities.

Victoria (BC): 136 p. 2011. Disponível em: <http://www.health.gov.bc.ca/library/publications/year/2011/Best-practice-guidelines-cleaning.pdf>. Acesso em 20 de fevereiro de 2013.

CHAN-MYERS, H.; MCALISTER, D.; ANTONOPLOS, P. Natural bioburden levels detected on rigid lumened medical devices before and after cleaning. *American Journal of Infection Control*, v. 25, n. 6, p. 471-476, dez. 1997. ISSN 0196-6553. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655397900705> >. Acesso em 02 de fevereiro de 2013.

CHU, N. S. *et al.* Levels of naturally occurring microorganisms on surgical instruments after clinical use and after washing. *American Journal of Infection Control*, v. 27, n. 4, p. 315-319, ago. 1999. ISSN 0196-6553. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655399700507> >. Acesso em 02 de fevereiro de 2013.

DAMASCENO, Q. S. *Características epidemiológicas dos microrganismos resistentes presentes em reservatórios de uma unidade de terapia intensiva*. 2010. 104 p. Dissertação de mestrado (Mestrado). Escola de Enfermagem, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

DANCER, S. J. *et al.* Surgical site infections linked to contaminated surgical instruments. *Journal of Hospital Infection*, v. 81, n. 4, p. 231-238, ago. 2012. ISSN 0195-6701. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670112001442> >. Acesso em 12 de maio de 2013.

DEPARTMENT OF HEALTH. *Health Technical Memorandum 01-05: Decontamination in primary care dental practices*. London: 86 p. 2013. Disponível em: < https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/170689/HTM_01-05_2013.pdf>. Acesso em 21 de fevereiro de 2013.

DEPREZ, P. H. *et al.* Disposable versus reusable biopsy forceps: a prospective cost evaluation. *Gastrointestinal Endoscopy*, v. 51, n. 3, p. 262-265, mar. 2000. ISSN 0016-5107. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001651070070352X> >. Acesso em 10 de dezembro de 2012.

DONLAN, R. M. Biofilms and device-associated infections. *Emerging Infectious Diseases*, v. 7, n. 2, p. 277-81, mar./apr. 2001. ISSN 1080-6040. Disponível em < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov.ez27.periodicos.capes.gov.br/pmc/articles/PMC2631701/pdf/11294723.pdf>>. Acesso em 03 de fevereiro de 2013.

DONLAN, R. M.; COSTERTON, J. W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, v. 15, n. 2, p. 167-93, abr. 2002. ISSN 0893-8512. Disponível em < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov.ez27.periodicos.capes.gov.br/pmc/articles/PMC118068/pdf/0012.pdf>>. Acesso em 10 de março de 2013.

DURO, M. In Focus: Post-procedure reprocessing steps to eliminate bioburden from surgical instruments. *Association of the Perioperative Registered Nurses Journal*, v. 98, n. 3, p. C7-C8, set. 2013. ISSN 0001-2092. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0001209213008594> >. Acesso em 12 de março de 2013.

FDA (Food and Drug Administration). *Guidance for Industry. Pyrogen and Endotoxins Testing: Questions and Answers*. 2012.

FUSHIMI, R. *et al.* Comparison of adenosine triphosphate, microbiological load, and residual protein as indicators for assessing the cleanliness of flexible gastrointestinal endoscopes. *American Journal of Infection Control*, v. 41, n. 2, p. 161-164, fev. 2013. ISSN 0196-6553. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655312007109> >. Acesso em 03 e março de 2013.

GALLOTTI, R. M. D. Eventos adversos: o que são? *Revista da Associação Médica Brasileira*, São Paulo, v. 50, n. 2, p. 114-114, abr./jan. 2004. ISSN 0104-4230. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010442302004000200008&nrm=iso >. Acesso em 02 de fevereiro de 2013.

GIL, A. C. *Como elaborar projetos de pesquisa*. 5. ed. São Paulo: Atlas, 2010. 184p. ISBN 978-85-224-5823-3.

GORBET, M. B.; SEFTON, M. V. Endotoxin: The uninvited guest. *Biomaterials*, v. 26, n. 34, p. 6811-6817, dez. 2005. ISSN 0142-9612. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961205003856> >. Acesso em 10 de março de 2013.

GRAZIANO, K. U. Processos de limpeza, desinfecção e esterilização de artigos médico hospitalares. In: OLIVEIRA, A. C. D. *Infecções Hospitalares: Epidemiologia, prevenção e controle*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. Parte X, cap1. p.491-516..

GRIFFITH, C. J. *et al.* The effectiveness of existing and modified cleaning regimens in a Welsh hospital. *Journal of Hospital Infection*, v. 66, n. 4, p. 352-359, ago. 2007. ISSN 0195-6701. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670107001818> >. Acesso em 10 de janeiro de 2013.

HANSEN, D.; HILGENHÖNER, M.; POPP, W. ATP bioluminescence - for kitchen hygiene and cleaning control of surgical instruments. *International Journal of Infection Control*, Germany, v.4, n.1, abr. 2008. ISSN 1996-9783. Disponível em: < file:///C:/Users/Sintia/Downloads/3036-10753-1-PB.pdf >. Acesso em 04 de fevereiro de 2013.

HAWRONSKYJ, J. M.; HOLAH, J. ATP: A universal hygiene monitor. *Trends in Food Science & Technology*, v. 8, n. 3, p. 79-84, mar. 1997. ISSN 0924-2244. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924224497010091 >. Acesso em 10 de janeiro de 2013.

HEATHCOTE, R.; STADELMANN, B. Measuring of ATP bioluminescence as a means of assessing washer disinfector performance and potentially as a means of validating the decontamination process. *Healthcare Infection*, v. 14, n. 4, p. 147-151, dez, 2009. Disponível em: < http://www.scopus.com/inward/record.url?eid=2-s2.0-77953437236&partnerID=40&md5=9d03759774b0f5d78e74d990ca435288 >. Acesso em 05 de fevereiro de 2013.

HEEG, P. *et al.* Decontaminated single-use devices: an oxymoron that may be placing patients at risk for cross-contamination. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, United States, v.22, set. 2001. p.542-9. ISBN 0899-823X. Disponível em: < http://www.jstor.org/stable/10.1086/501949 >. Acesso em 20 de março de 2013.

JATZWALK, L.; SCHÖNE, H.; PIETSCH, H. How to improve instrument disinfection by ultrasound. *Journal of Hospital Infection*, v. 48, Supplement A, n. 0, p. S80-S83, set. 2001. ISSN 0195-6701. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670101900192 >. Acesso em 05 de fevereiro de 2013.

LEWIS, S.; MCINDOE, A. K. Cleaning, disinfection and sterilization of equipment. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, v. 5, n. 11, p. 360-363, jan. 2004. ISSN 1472-0299. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1472029906700029 >. Acesso em 06 de abril de 2013.

LEWIS, T. *et al.* A modified ATP benchmark for evaluating the cleaning of some hospital environmental surfaces. *Journal of Hospital Infection*, v. 69, n. 2, p. 156-163, jun. 2008. ISSN 0195-6701. Disponível em: < http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670108001278 >. Acesso em 04 de dezembro de 2012.

LIPSCOMB, I. P. *et al.* Effect of drying time, ambient temperature and pre-soaks on prion-infected tissue contamination levels on surgical stainless steel: concerns over prolonged transportation of instruments from theatre to central sterile service departments. *Journal of*

Hospital Infection, v. 65, n. 1, p. 72-77, jan. 2007. ISSN 0195-6701. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670106004622> >. Acesso em 10 de março de 2013.

LIPSCOMB, I. P. *et al.* The sensitivity of approved Ninhydrin and Biuret tests in the assessment of protein contamination on surgical steel as an aid to prevent iatrogenic prion transmission. *Journal of Hospital Infection*, v. 64, n. 3, p. 288-292, nov, 2006. ISSN 0195-6701. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670106003501> >. Acesso em 30 de março de 2013.

LIPSCOMB, I. P. *et al.* Rapid method for the sensitive detection of protein contamination on surgical instruments. *Journal of Hospital Infection*, v. 62, n. 2, p. 141-148, fev. 2006. ISSN 0195-6701. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670105003075> >. Acesso em 30 de março de 2013.

LIPSCOMB, I. P.; SIHOTA, A. K.; KEEVIL, C. W. Comparative study of surgical instruments from sterile-service departments for presence of residual gram-negative endotoxin and proteinaceous deposits. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 44, n. 10, p. 3728-3733, out. 2006. ISSN 0095-1137. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000241138800039 >. Acesso em 31 de março de 2013.

LIPSCOMB, I. P.; SIHOTA, A. K.; KEEVIL, C. W. Comparison between visual analysis and microscope assessment of surgical instrument cleanliness from sterile service departments. *The Journal of Hospital Infection*, v. 68, n. 1, p. 52-58, jan. 2008. ISSN 0195-6701. Disponível em: < <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S019567010700271X?showall=true> >. Acesso em 26 de dezembro de 2013.

MADIGAN, M. T. *et al.* Microbial grow. In: _____. *Brock biology of microorganisms*. 13. ed. San Francisco: Person, 2012. cap 5, p.118-146.

MALCHESKY, P. S. *et al.* Reprocessing of Reusable Medical Devices. *American Society for Artificial Internal Organs Journal*, v. 41, n. 2, p. 146-151, apr./jun. 1995. ISSN 1058-2916. Disponível em: < http://journals.lww.com/asaiojournal/Fulltext/1995/06000/Reprocessing_of_Reusable_Medical_Devices.4.aspx >. Acesso em 11 de abril de 2013.

MORAES, C. L. *et al.* Contaminação de equipamentos e superfícies de unidade de terapia intensiva de uma maternidade pública por *Staphylococcus* coagulase negativa. *Revista de Patologia Tropical*, v. 42, n. 4, p. 387-394, out./dez. 2013. Disponível em <

<https://revistas.ufg.br/index.php/iptsp/article/viewFile/27927/15775>>. Acesso em 10 de março de 2013.

MULLANEY, K. Sterilization and Disinfection in the Operating Room. *Perioperative Nursing Clinics*, v. 3, n. 2, p. 127-135, jun. 2008. ISSN 1556-7931. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1556793108000223> >. Acesso em 20 de janeiro de 2013.

MURDOCH, H. *et al.* Surface decontamination of surgical instruments: an ongoing dilemma. *Journal of Hospital Infection*, v. 63, n. 4, p. 432-438, ago. 2006. ISSN 0195-6701. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670106001526> >. Acesso em 12 de abril de 2013.

NHS ESTATES. Department of Health. *Welsh health technical memorandum 01-01 - Descontamination of medical device, part D: washer-desinfector*. Department of Health. England: NHS Wales Services partnership: 70 p. 2013. Disponível em: < <http://www.wales.nhs.uk/sites3/documents/254/WHTM%2001-01%20Part%20D.pdf> >. Acesso em 02 de janeiro de 2013.

NYSTRÖM, B. Disinfection of surgical instruments. *Journal of Hospital Infection*, v. 2, n. 4, p. 363-368, dez. 1981. ISSN 0195-6701. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0195670181900694> >. Acesso em 02 de dezembro de 2012.

OBEE, P. C. *et al.* Real-time monitoring in managing the decontamination of flexible gastrointestinal endoscopes. *American Journal of Infection Control*, v. 33, n. 4, p. 202-206, mai. 2005. ISSN 0196-6553. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655304005668> >. Acesso em 2 de maio de 2013.

OMS (Organização Mundial de Saúde). *Segundo desafio global para a segurança do paciente: Manual - cirurgias seguras salvam vidas*. Organização Mundial da Saúde; tradução de Marcela Sánchez Nilo e Irma Angélica Duran - Rio de Janeiro: Organização Pan-Americana da Saúde; Ministério da Saúde; Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2009. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/seguranca_paciente_cirurgias_seguras_salvam_vidas.pdf

PAJKOS, A.; VICKERY, K.; COSSART, Y. Is biofilm accumulation on endoscope tubing a contributor to the failure of cleaning and decontamination? *Journal of Hospital Infection*, v. 58, n. 3, p. 224-229, nov. 2004. ISSN 0195-6701. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670104002695> >. Acesso em 16 de março de 2013.

PENNA, T. C.; FERRAZ, C. A.; CASSOLA, M. A. The presterilization microbial load on used medical devices and the effectiveness of hydrogen peroxide gas plasma against *Bacillus subtilis* spores. In: (Ed.). **Infection Control and Hospital Epidemiology**. United States, v.20, n.7, 1999. p.465-72. ISBN 0899-823X. Disponível em < <http://www.jstor.org/stable/pdfplus/10.1086/501654.pdf?acceptTC=true&jpdConfirm=true>>. Acesso em 16 de junho de 2013.

PENNA, T. C. V. P.; FERRAZ, C. A. M. P. Cleaning of Blood-Contaminated Reprocessed Angiographic Catheters and Spinal Needles • *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 21, n. 8, p. 499-504, 2000. ISSN 0899823X. Disponível em: < <http://www.jstor.org/stable/10.1086/501793> >. Acesso em 04 de dezembro de 2012.

PINTO, F. M. G. *et al.* Analysis of the microbial load in instruments used in orthopedic surgeries. *American Journal of Infection Control*, v. 38, n. 3, p. 229-233, abr. 2010. ISSN 0196-6553. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655309008207>>. Acesso em 10 de novembro de 2012.

PRIOR, F. *et al.* Alcoholic fixation of blood to surgical instruments—a possible factor in the surgical transmission of CJD? *Journal of Hospital Infection*, v. 58, n. 1, p. 78-80, set. 2004. ISSN 0195-6701. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670104002075> >. Acesso em 29 de janeiro de 2013.

REN, W. *et al.* Evaluation of detergents and contact time on biofilm removal from flexible endoscopes. *American Journal of Infection Control*, v. 41, n. 9, p. e89-92, set. 2013. ISSN 0196-6553. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655313001909> >. Acesso em 21 de julho de 2013

RIBEIRO, S. M. C. P. Limpeza. In: PADOVEZE, M. C.; GRAZIANO, K. U. *Esterilização de artigos em unidades de saúde*. São Paulo, v.1, 2010. p.57-81.

ROBERTS, C. G. The role of biofilms in reprocessing medical devices. *American Journal of Infection Control*, v. 41, n. 5, Supplement, p. S77-S80, mai. 2013. ISSN 0196-6553. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655313000187>>. Acesso em 05 de dezembro de 2012.

RUTALA, W. A. *et al.* Levels of microbial contamination on surgical instruments. *American Journal of Infection Control*, v. 26, n. 2, p. 143-145, abr. 1998. ISSN 0196-6553. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655398800345>>. Acesso em 23 de janeiro de 2013.

RUTALA, W. A.; WEBER, D. J. Disinfection and sterilization: An overview. *American Journal of Infection Control*, v. 41, n. 5, Supplement, p. S2-S5, mai. 2013. ISSN 0196-6553. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655313000023>>. Acesso em 02 de fevereiro de 2013.

RUTALA, W. A.; WEBER, D. J. *Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities: recommendations of the CDC*. Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. 2008. 158 p. Disponível em: http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/guidelines/disinfection_nov_2008.pdf. Acesso em 02 de dezembro de 2013.

SAGERT, K. United States Pharmacopeia and National Formulary (USP-NF). In: ZHANG Y. *Encyclopedia of Global Health*. Thousand Oaks, CA: SAGE Publications, 2008. p.1711-1712. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4135/9781412963855>>. Acesso em 12 de novembro de 2013.

SAITO, Y. *et al.* Microbial contamination of surgical instruments used for laparotomy. *American Journal of Infection Control*, v. 42, n. 1, p. 43-7, jan. 2014. ISSN 1527-3296. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24189327>>. Acesso em 03 de janeiro de 2013.

SEAVEY, R. High-level disinfection, sterilization, and antisepsis: Current issues in reprocessing medical and surgical instruments. *American Journal of Infection Control*, v. 41, n. 5, Supplement, p. S111-S117, mai. 2013. ISSN 0196-6553. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655313000199>>. Acesso em 20 de janeiro de 2013.

SECKER, T. J.; HERVÉ, R.; KEEVIL, C. W. Adsorption of prion and tissue proteins to surgical stainless steel surfaces and the efficacy of decontamination following dry and wet storage conditions. *Journal of Hospital Infection*, v. 78, n. 4, p. 251-255, ago. 2011. ISSN 0195-6701. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S019567011100168X>>. Acesso em 05 de julho de 2013.

SHAMA, G.; MALIK, D. J. The uses and abuses of rapid bioluminescence-based ATP assays. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, v. 216, n. 2, p. 115-125, mar. 2013. ISSN 1438-4639. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S143846391200048X>>. Acesso em 20 de janeiro de 2013.

SHERLOCK, O. *et al.* Is it really clean? An evaluation of the efficacy of four methods for determining hospital cleanliness. *Journal of Hospital Infection*, v. 72, n. 2, p. 140-146, jun. 2009. ISSN 0195-6701. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670109000838>>. Acesso em 13 de julho de 2013.

SHOEMAKE, S.; STOESSEL, K. *Cleaning Reusable Medical Devices: A Critical First Step*. Kimberly-clark: 11 p. 2007.

SMITH, G. W. *et al.* In vitro evaluation of cleaning efficacy of detergents recommended for use on dental instruments. *American Journal of Infection Control*. United States, v. 40, n. 9, p.e255 - 259, nov. 2012. ISBN 1527-3296. Disponível em < <http://dx.doi.org.ez27.periodicos.capes.gov.br/10.1016/j.ajic.2012.05.009>. Acesso em 20 de fevereiro de 2013.

SOBECC (Sociedade Brasileira de Enfermeiros de Centro Cirúrgico, Recuperação Anestésica e Centro de Material e Esterilização). Limpeza. In: _____. *Manual de práticas recomendadas da SOBECC*. 6. ed. São Paulo, 2013. cap.3, p.18-36.

SÁ, M. H. B. Controle do crescimento microbiano por processos físicos e químicos. In: VERMELHO, A. B.; BASTOS, M. C. F.; SÁ, M.H.B. *Bacteriologia geral*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. cap 4, p. 184-263. ISBN 978-85-277-1366-5.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbial mechanisms of pathogenicity. In: _____ (org.). *Microbiology: an introduction*. 11. ed. United States of America: Pearson, 2013a. cap 15, p.429-450.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. The microbial world and you. In: _____. *Microbiology: an introduction*. 11. ed. United States of America: Pearson, 2013b. cap 1, p. 1-24.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Microbial Growth. In: _____. *Microbiology: an introduction*. 11. ed. United States of America: Pearson, 2013c. cap. 6, p.153-180.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. The control of microbial growth. In _____. *Microbiology: an introduction*. 11. ed. United States of America: Pearson, 2013d. cap. 7, p.181-206.

TOSH, P. K. *et al* Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* surgical site infections after arthroscopic procedures: Texas, 2009. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, v. 32, n. 12, p. 1179-86, Dec 2011. ISSN 1559-6834. Disponível em < <http://www.jstor.org/stable/10.1086/662712?origin=JSTOR-pdf>. Acesso em 04 de dezembro de 2013.

VEERABADRAN, S.; PARKINSON, I. M. Cleaning, disinfection and sterilization of equipment. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, v. 11, n. 11, p. 451-454, nov. 2010. ISSN 1472-0299. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S147202991000202X>>. Acesso em 23 de janeiro de 2013.

VERMELHO, A. B. Nutrição e crescimento das células procarióticas. In: VERMELHO, A. B.; BASTOS, M. C. F.; SÁ, M.H.B. *Bacteriologia Geral*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. cap. 3, p.122-182. ISBN 978-85-277-1366-5.

VICKERY, K. *et al.* The effect of multiple cycles of contamination, detergent washing, and disinfection on the development of biofilm in endoscope tubing. *American Journal of Infection Control*, v. 37, n. 6, p. 470-475, ago. 2009. ISSN 0196-6553. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655308008018>>. Acesso em 12 de fevereiro de 2013.

VICKERY, K.; PAJKOS, A.; COSSART, Y. Removal of biofilm from endoscopes: evaluation of detergent efficiency. *American Journal of Infection Control*, v. 32, n. 3, p. 170-176, mai. 2004. ISSN 0196-6553. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655303008198>>. Acesso em 12 de março de 2013.

VIJAYARAGHAVAN, R. *et al.* Hospital outbreak of atypical mycobacterial infection of port sites after laparoscopic surgery. *Journal of Hospital Infection*, v. 64, n. 4, p. 344-347, dez 2006. ISSN 0195-6701. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195670106003860>>.

VILAS-BOAS, V. A.; LEVY, C. E.; FREITAS, M. I. P. D. Carga microbiana de trocartes reprocessáveis após laparoscopias ginecológicas. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia*. Rio de Janeiro, v. 31, n.12, p. 586-591, dez. 2009. ISSN 0100-7203. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010072032009001200002&nrm=iso >. Acesso em 16 de março de 2013.

WEBER, D. J.; RUTALA, W. A. Assessing the risk of disease transmission to patients when there is a failure to follow recommended disinfection and sterilization guidelines. *American Journal of Infection Control*, v. 41, n. 5, Supplement, p. S67-S71, mai. 2013. ISSN 0196-6553. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196655313000138>>. Acesso em 20 de janeiro de 2013.

ANEXO 1 – Aprovação COEP - UFMG



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP**

Projeto: CAAE – 11416512.1.0000.5149

**Interessado(a): Profa. Adriana Cristina de Oliveira
Departamento de Enfermagem Básica
Escola de Enfermagem - UFMG**


DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 27 de fevereiro de 2013, o projeto de pesquisa intitulado "**Prática da antissepsia cirúrgica das mãos e efetividade da utilização de luvas cirúrgicas estéreis em um hospital**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

**Profa. Maria Teresa Marques Amaral
Coordenadora do COEP-UFMG**

Anexo 2. Aprovação da Diretoria de Ensino Pesquisa e Extensão (DEPE).




Universidade Federal de Minas Gerais
Hospital das Clínicas
Diretoria de Ensino, Pesquisa e Extensão

Belo Horizonte, 20 de março de 2014.

PROCESSO: Nº 011/14 "LIMPEZA MANUAL X AUTOMATIZADA: UMA ANÁLISE DE CARGA MICROBIANA DE INSTRUMENTAIS CIRÚRGICOS APÓS USO CLÍNICO EM CIRURGIAS DO APARELHO DIGESTIVO"

Reportando-nos ao projeto de pesquisa acima referenciado, considerando sua concordância com o parecer da Comissão de Avaliação Econômico-financeira de Projetos de Pesquisa do HC e a aprovação pelo COEP/UFMG em 27/02/2013, esta Diretoria aprova seu desenvolvimento no âmbito institucional. Solicitamos enviar à DEPE **relatório** parcial ou final, após um ano.

Atenciosamente,



PROF.ª ANDRÉA MARIA SILVEIRA
Diretora da DEPE/HC-UFMG

Sr.ª.
Prof.ª Adriana Cristina de Oliveira
Dpto. Enfermagem Aplicada
Escola de Enfermagem - UFMG

APÊNDICE A – Instrumento de coleta de dadosInstrumento de coleta de dados

Projeto de mestrado: Limpeza manual x automatizada: uma análise de carga microbiana de instrumentais cirúrgicos após o uso clínico em cirurgias do aparelho digestivo.

As amostras serão coletadas imediatamente após a utilização de instrumentais em cirurgias do aparelho digestivo (CAD) potencialmente contaminadas, contaminadas e infectadas em cinco momentos distintos.

1° amostra: Após o uso clínico na chegada do material à CME;

2° amostra: Após limpeza manual e imersão em detergente enzimático;

3° amostra: Após limpeza manual e limpeza em lavadora termodesinfectora

4° amostra: Após limpeza automatizada em lavadora ultrassônica.

5° amostra: Após limpeza automatizada e limpeza em lavadora termodesinfectora.

N° identificação: _____ Data da coleta: ____/____/____.

1) Sala de cirurgia: _____

2) Tipo de cirurgia: _____

3) Potencial de contaminação do procedimento:

potencialmente contaminada contaminada infectada.

5) Material umidificado após o uso: sim não

	1° coleta	2° coleta	3° coleta	4° coleta	5° coleta
Tipo de instrumental					
Horário do término da extração					
Horário do término da filtração.					

Observação:

APÊNDICE B - Caracterização das cirurgias segundo a sua classificação e ocorrência de umidificação cujos instrumentais foram amostrados para o estudo.

Nº ID	Data	Tipo de cirurgia	Classificação	Umidificação
1	09/07/2013	Retrossigmoidectomia	Contaminada	não
2	26/07/2013	Derivação bílio-digestiva	Potencialmente contaminada	não
3	02/08/2013	Hepatectomia parcial	Potencialmente contaminada	não
4	08/08/2013	Gastrectomia	Potencialmente contaminada	sim
5	12/08/2013	Fistulectomia anal	Contaminada	não
6	19/08/2013	Retrossigmoidectomia	Contaminada	sim
7	20/08/2013	Laparotomia exploratória	Contaminada	não
8	22/08/2013	Gastroplastia	Potencialmente contaminada	sim
9	26/08/2013	Retrossigmoidectomia	Contaminada	sim
10	28/08/2013	Laparotomia revisão	Contaminada	sim
11	29/08/2013	Esofagogastrectomia	Potencialmente contaminada	não
12	02/09/2013	Retrossigmoidectomia	Contaminada	não
13	03/09/2013	Retrossigmoidectomia	Contaminada	sim
14	05/09/2013	Glossectomia total	Potencialmente contaminada	sim
15	09/09/2013	Retrossigmoidectomia	Contaminada	sim
16	10/09/2013	Esofagogastrectomia	Potencialmente contaminada	sim
17	13/09/2013	Derivação bílio-digestiva	Potencialmente contaminada	sim
18	16/08/2013	Retrossigmoidectomia	Contaminada	sim
19	17/09/2013	Retrossigmoidectomia	Contaminada	sim
20	23/09/2013	Gastrostomia	Potencialmente contaminada	sim
21	27/09/2013	Hepatectomia	Potencialmente contaminada	sim
22	30/09/2013	Amputação de reto	Contaminada	sim
23	02/10/2013	Fechamento de gastroquise	Potencialmente contaminada	sim
24	04/10/2013	Derivação bílio-digestiva	Potencialmente contaminada	sim
25	05/11/2013	Colostomia	Contaminada	sim

APENDICE C - Micro- organismos, instrumental cirúrgico e carga microbiana recuperados em cada um dos cinco momentos de coleta.

ID	Instrumental				
	Carga microbiana total (UFC)				
	Micro-organismos recuperados por etapa				
	Após uso clínico	Limpeza manual (E 1)	Limpeza automatizada (E 1)	Limpeza manual (E 2)	Limpeza automatizada (E 2)
	Crile	Crile	Crile	Crile	Crile
1	Carga microbiana total >300 <i>Pseudomonas putida</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 250 BGN não fermentador BGP <i>Acinetobacter baumannii complexx</i> <i>Pseudomonas putida</i> <i>Pantoea spp</i>	Carga microbiana total 1	Carga microbiana total 13 BGP
	crile Carga microbiana total 30 <i>Staphylococcus coagulase negativo</i> <i>Micrococcus lúteo</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Citrobacter Koseni</i>	Kocher Carga microbiana total 6 <i>Elizabethkingea meningoseptica</i> BGP <i>Penicillium spp.</i>	Kelly Carga microbiana total 49 <i>Kluivera intermedia</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Elizabethkingea meningoseptica</i>	Anatômica Carga microbiana total 45 <i>Aerococcus viridans</i>	Kocher Carga microbiana total 0 <i>Cladosporium spp.</i>
3	Bakaus Carga microbiana total 20 <i>Escherichia coli</i> <i>Aspergillus spp.</i>	Kocher Carga microbiana total 4 <i>Staphylococcus coagulase negativo</i>	Crile Carga microbiana total 15 <i>Achromobacter denitrificans</i> <i>Penicillium spp.</i> <i>Aspergillus japonicos</i>	Foerster Carga microbiana total 1 <i>Aspergillus spp.</i>	Passa fio Carga microbiana total 0 <i>Aspergillus fumigatos</i>

E1: Etapa 1; E2: Etapa 2; BGN: Bastonetes Gram negativos; BGP: Bastonetes Gram positivos.

Continuação

ID	Instrumental				
	Carga microbiana total (UFC)				
	Micro-organismos recuperados por etapa				
	Após uso clínico	Limpeza manual (E 1)	Limpeza automatizada (E 1)	Limpeza manual (E 2)	Limpeza automatizada (E 2)
4	Kocher	Kocher	Allis	Foerster	Hemostática
	Carga microbiana total 17	Carga microbiana total 1	Carga microbiana total 204	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 0
	Coco Gram Positivo <i>Minemoniela</i>	BGN não fermentador <i>Aspergillus</i> spp. BGP	<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Kluivera intermedia</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		
5	Porta agulha	Dissecção	Rochester	Backhaus	Crile
	Carga microbiana total 233	Carga microbiana total 299	Carga microbiana total 214	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 1
	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativo <i>Aspergillus</i> spp. <i>Paecilomyces</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Kluivera intermedia</i> BGN <i>Penicillium</i> spp.	<i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas putida</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Enterobacter cloacae complexx</i>		<i>Staphylococcus</i> coagulase negativo
6	Rochester	Rochester	Rochester	Crile	Crile
	Carga microbiana total 114	Carga microbiana total 123	Carga microbiana total 44	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 108
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Pseudomonas</i> spp BGN <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Cladosporium</i> spp.	<i>Trichosporon asahii</i> <i>Cladosporium</i> spp.		<i>Staphylococcus</i> coagulase negativo BGP <i>Cladosporium</i> spp.

E1: Etapa 1; E2: Etapa 2; BGN – Bastonetes Gram negativos; BGP: Bastonetes Gram positivos.

Continuação

ID	Instrumental				
	Carga microbiana total (UFC)				
	Micro-organismos recuperados por etapa				
	Após uso clínico	Limpeza manual (E 1)	Limpeza automatizada (E 1)	Limpeza manual (E 2)	Limpeza automatizada (E 2)
7	Crile	Crile	Kelly	Crile	Kocher
	Carga microbiana total 3 <i>Staphylococcus coagulase negativo</i> <i>Cladosporium spp.</i>	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 38 <i>Pseudomonas pseudoalcaligenes</i>	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 0
8	Allis	Allis	Crile	Rochester	Crile
	Carga microbiana total 14 <i>Staphylococcus coagulase negativo</i> <i>Cladosporium spp.</i>	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 2 BGN não fermentador	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 0
9	Crile	Crile	Kocher	Passa fio	Crile
	Carga microbiana total <i>Pseudomonas putida</i>	Carga microbiana total 54 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Pseudomonas putida</i>	Carga microbiana total 251 <i>Pseudomonas putida</i>	Carga microbiana total 3 <i>Staphylococcus sp</i> BGP	Carga microbiana total 0
10	Crile	Dissecção	Kocher	Crile	Crile
	Carga microbiana total >300 <i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Cladosporium spp.</i>	Carga microbiana total 11 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Carga microbiana total 161 <i>Acinetobacter baumannii</i> BGN não fermentador <i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Carga microbiana total 1 <i>Aspergillus spp.</i>	Carga microbiana total 0 sem crescimento

E1: Etapa 1; E2: Etapa 2; BGN – Bastonetes Gram negativos; BGP: Bastonetes Gram positivos

Continuação

ID	Instrumental				
	Carga microbiana total (UFC)				
	Micro-organismos recuperados por etapa				
	Após uso clínico	Limpeza manual (E 1)	Limpeza automatizada (E 1)	Limpeza manual (E 2)	Limpeza automatizada (E 2)
11	Crile	Kocher	Rochester	Crile	Crile
	Carga microbiana total 8 B G P <i>Aspergillus flavus</i>	Carga microbiana total 36 <i>Aspergillus flavus</i> <i>Aspergillus fumigatos</i>	Carga microbiana total 136 <i>Acinetobacter ursingii</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Actinomiceto</i>	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 0
12	Metzemaubum	Kocher	Passa fio	Kocher	Passa fio
	Carga microbiana total > 300 <i>Escherichia coli</i> <i>Cladosporium spp</i> <i>Candida spp</i> <i>Staphylococcus coagulase negativo</i> BGP	Carga microbiana total 2 <i>Staphylococcus coagulase negativo</i>	Carga microbiana total 2 BGN não fermentador <i>Candida spp.</i>	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 0
13	Crile	Kocher	Rochester	Anatômica	Clamp
	Carga microbiana total 208 <i>Staphylococcus coagulase negativo</i> <i>Aspergillus spp</i> <i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Escherichia coli</i>	Carga microbiana total 14 <i>Staphylococcus coagulase negativo</i> <i>Pseudomonas putida</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 3	Carga microbiana total 0

E1: Etapa 1; E2: Etapa 2; BGN – Bastonetes Gram negativos; BGP: Bastonetes Gram positivos

Continuação

ID	Instrumental				
	Carga microbiana total (UFC)				
	Micro-organismos recuperados por etapa				
	Após uso clínico	Limpeza manual (E 1)	Limpeza automatizada (E 1)	Limpeza manual (E 2)	Limpeza automatizada (E 2)
14	Porta agulha	Porta agulha	Crile	Crile	Schnidt
	Carga microbiana total >300	Carga microbiana total 300	Carga microbiana total 160	Carga microbiana total 141	Carga microbiana total 0
	<i>Staphylococcus coagulase</i> negativo <i>Pseudomonas</i> spp <i>Nigrospora</i> BGN não fermentado <i>Aeromonas Salmonicida</i>	<i>Staphylococcus coagulase</i> negativo BGP Acremomium	<i>Cryseobacterium indologenes</i> <i>Elizabethkingea meningoséptica</i>	<i>Staphylococcus coagulase</i> negativo BGP	
15	Kocher	Passa fio	Anatômica	Metzemaum	Schnidt
	Carga microbiana total 20	Carga microbiana total 10	Carga microbiana total 2	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 0
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Aeromonas Salmonicida</i>	<i>Pseudomonas</i> spp <i>Pseudomomas putida</i> <i>cladosporium</i> spp	<i>Cladosporium</i> spp.		
16	Passa fio	Passa fio	Crile	Kocher	Crile
	Carga microbiana total 5	Carga microbiana total 112	Carga microbiana total 1	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 0
	<i>Candida albicans</i>	<i>Staphylococcus coagulase</i> negativo <i>Candida</i> spp.	<i>Rhodotorula</i> spp. <i>Candida</i> spp.		

E1: Etapa 1; E2: Etapa 2, BGN – Bastonetes Gram negativos; BGP: Bastonetes Gram positivos

Continuação

ID	Instrumental				
	Carga microbiana total (UFC)				
	Micro-organismos recuperados por etapa				
	Após uso clínico	Limpeza manual (E 1)	Limpeza automatizada (E 1)	Limpeza manual (E 2)	Limpeza automatizada (E 2)
17	Dissecção	Crile	Anatômica	Crile	Crile
	Carga microbiana total 3 <i>Staphylococcus coagulase negativo</i>	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 12 <i>Staphylococcus coagulase negativo</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Carga microbiana total 1 <i>Penicillium spp.</i>	Carga microbiana total 281 <i>Staphylococcus coagulase negativo</i> BGP
18	Allis	Rochester	Kocher	Porta agulha	Clamp
	Carga microbiana total 72 <i>Staphylococcus coagulase negativo</i> <i>Aspergillus flavus</i>	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 12 <i>Staphylococcus coagulase negativo</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 0 sem crescimento
19	Rochester	Crile	Porta agulha	Hemostática	Passa fio
	Carga microbiana total 2 <i>Cladosporium spp</i>	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 264 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Pseudomonas putida</i>	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 0
20	Passa fio	Anatômica	Crile	Anatômica	Porta agulha
	Carga microbiana total 0 <i>Cladosporium spp</i>	Carga microbiana total 2 <i>Candida spp.</i> <i>Pseudomonas mendoncina</i>	Carga microbiana total 1 BGN não fermentador	Carga microbiana total 1 BGP	Carga microbiana total 0 <i>Aspergillus niger</i>

E1: Etapa 1; E2: Etapa 2; BGN – Bastonetes Gram negativos; BGP: Bastonetes Gram positivos.

Continuação

ID	Instrumental				
	Carga microbiana total (UFC)				
	Micro-organismos recuperados por etapa				
	Após uso clínico	Limpeza manual (E 1)	Limpeza automatizada (E 1)	Limpeza manual (E 2)	Limpeza automatizada (E 2)
21	Passa fio	Rochester	Passa fio	Hemostática	Hemostática
	Carga microbiana total 4	Carga microbiana total 16	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 1	Carga microbiana total 0
	<i>Enterobacter Cloacae</i> <i>Penicillium</i> spp.	<i>Pseudomonas putida</i> <i>Candida</i> spp. <i>Penicillium</i> spp.		Mycelia Sterila 1	<i>Aspergillus fumigatos</i> <i>Staphylococcus coagulase negativo</i>
22	Crile	Allis	Rochester	Porta agulha	Passa fio
	Carga microbiana total 3	Carga microbiana total 9	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 0
	<i>Staphylococcus coagulase negativo</i> <i>Cladosporium</i> spp <i>Escherichia coli</i>	<i>Mycelia sterilia</i>			
23	Kelly	Anatômica	Anatômica	Anatômica	Crile
	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 33	Carga microbiana total 1	Carga microbiana total 0
	<i>Acremonium</i> spp. <i>Mycelia Sterilia</i>	<i>Cunninghamella</i> spp	<i>Rhodotorula</i> <i>Aspergillus flavus</i>	<i>Cladosporium</i> spp.	<i>Curvularia</i>
24	Rochester	Crile	Crile	Crile	Peau
	Carga microbiana total 11	Carga microbiana total 5	Carga microbiana total 14	Carga microbiana total 0	Carga microbiana total 0
	<i>Staphylococcus coagulase negativo</i> <i>Penicillium</i> <i>Acremonium</i> spp.	<i>Pseudomonas sp</i> <i>Aspergillus fumigatos</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Candida</i> spp. <i>Cladosporium</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp.	

E1: Etapa 1; E2: Etapa 2; BGN – Bastonetes Gram negativos; BGP: Bastonetes Gram positivos.

Continuação

ID	Instrumental				
	Carga microbiana total (UFC)				
	Micro-organismos recuperados por etapa				
	Após uso clínico	Limpeza manual (E 1)	Limpeza automatizada (E 1)	Limpeza manual (E 2)	Limpeza automatizada (E 2)
	Crile	Anatômica	Crile	Hemostática	Hemostática
	Carga microbiana total 31	Carga microbiana total 14	Carga microbiana total 11	Carga microbiana total 9	Carga microbiana total 0
25	<i>Candida albicans</i> <i>Acremonium</i> spp.	<i>Candida famata</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativo <i>Aspergillus flavus</i> <i>Candida</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> coagulase negativo	

E1: Etapa 1; E2: Etapa 2; BGN – Bastonetes Gram negativos; BGP: Bastonetes Gram positivos.