

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

MAYCON CRISPIM DE OLIVEIRA CARVALHO

**SISTEMA UTILIZANDO ÁGUA OZONIZADA PELO MÉTODO
HIDRODINÂMICO, PARA A DESINFECÇÃO DE COLONOSCÓPIO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**MESTRADO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU**

São José dos Campos – SP, 2020

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

MAYCON CRISPIM DE OLIVEIRA CARVALHO

**SISTEMA UTILIZANDO ÁGUA OZONIZADA PELO MÉTODO
HIDRODINÂMICO, PARA A DESINFECÇÃO DE COLONOSCÓPIO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia Biomédica – Mestrado, da Universidade Anhembi Morumbi, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica.

Orientador: Prof. Dr. Carlos José de Lima

Co-orientadora: Profa. Dra. Adriana Barrinha F. Moretti

São José dos Campos – SP, 2020

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI

MAYCON CRISPIM DE OLIVEIRA CARVALHO

SISTEMA UTILIZANDO ÁGUA OZONIZADA PELO MÉTODO HIDRODINÂMICO, PARA A DESINFECÇÃO DE COLONOSCÓPIO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia Biomédica – Mestrado, da Universidade Anhembi Morumbi, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Biomédica aprovada pela seguinte Banca Examinadora:

Prof. Dr. Carlos José de Lima

Orientador

Universidade Anhembi Morumbi

Prof. Dra. Adriana Barrinha F. Moretti (Interno)

Universidade Anhembi Morumbi

Prof. Dr. Álvaro José Damião (Externo)

Instituto de Estudos Avançados, Divisão de Fotônica.

Prof. Dr. Renato Amaro Zângaro (Coordenação)

Universidade Anhembi Morumbi

Prof. Dr. Rodrigo Alexis Lazo Osório (Suplente)

Universidade Anhembi Morumbi

São José dos Campos – SP, Dezembro/ 2020

Todos os direitos reservados. É proibida a reprodução total ou parcial do trabalho sem autorização da Universidade, do autor e do orientador.

MAYCON CRISPIM DE OLIVEIRA CARVALHO

**Graduado em Engenharia Biomédica pelas
Faculdades Integradas do Norte de Minas – FUNORTE no ano de 2017.**

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca UAM
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

C331ss	Carvalho, Maycon Crispim de Oliveira Sistema utilizando água ozonizada pelo método hidrodinâmico, para a desinfecção de colonoscópio / Maycon Crispim de Oliveira Carvalho. - 2020. 75f. : il.; 30cm. Orientador: Carlos José de Lima. Dissertação (Mestrado em Mestrado em Engenharia Biomédica); co-orientadora Adriana Barrinha F. Moretti - Universidade Anhembí Morumbi, São José Dos Campos, 2020. Bibliografia: f. 1. Engenharia Biomédica. 2. Desinfecção. 3. Água Ozonizada. 4. Hidrodinâmica. 5. Colonoscópio. CDD 610.28
--------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Aline Ferreira de Oliveira - CRB 8/9601

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à Deus e a minha família.
Sem eles nada seria possível.

AGRADECIMENTOS

À Deus que me concedeu saúde, força para lutar e disposição para não desistir.

Aos meus pais José das Graças de Carvalho e Neusa Maria de Oliveira que me deram a vida, valores e princípios que norteiam minha vida.

À minha família meu porto seguro em todos os momentos da minha vida, apoiando, ajudando e torcendo, em especial o meu tio José Luiz Freire Martins e aos meus irmãos Marcus Eduardo de Oliveira Carvalho e Márcio Ednardo de Oliveira Carvalho.

Agradeço à minha noiva Daiane Aurie Fonseca por compreender o tempo em que estive ausente por causa do desenvolvimento deste trabalho, que ao longo desses meses me deu não só força, mas apoio para vencer essa etapa da minha vida acadêmica.

Ao meu orientador Prof. Dr. Carlos José de Lima, pela amizade incondicional, pelo exemplo como professor, pela preocupação com meu bem-estar e por estar presente em todos os momentos de dificuldade do meu trabalho e por me dar tranquilidade e confiança a cada reunião.

À minha co-orientadora, Prof. Dra. Adriana Barrinha F. Moretti, pela paz e sabedoria a cada palavra, pela ajuda, apoio, confiança, orientação em todos os passos deste trabalho.

Também agradeço a meu colega Henrique que sempre me ajudou com sua vasta experiência desde o início deste projeto de pesquisa.

A Universidade Anhembi Morumbi pela bolsa institucional e aos meus professores que compartilharam o tempo e conhecimento.

A CITÉ pelo apoio parcial financeiro que possibilitou na aquisição de materiais para o desenvolvimento do trabalho.

Agradeço à empresa Livre Montagem de Produtos Assistivos S.A (KIT LIVRE), que compreendeu os meus horários de estudos. Deixo aqui a minha gratidão aos irmãos Júlio e Lúcio Oliveto Alves, grandes gestores e mentores, que acompanharam de perto a realização desse trabalho, bem como a toda equipe da empresa, obrigado pelo incentivo e apoio incondicional.

RESUMO

Os endoscópios são classificados como itens semicríticos e termossensíveis, cujo reprocessamento pode ser realizado de forma manual ou automática utilizando certos reagentes químicos, tais como, glutaraldeído, ácido peracético ou ortoftalaldeído, e assim, obter-se uma desinfecção de alto nível. O reprocessamento de endoscópios flexíveis é considerado um desafio, pois a desinfecção é uma etapa complicada devido ao seu design estrutural com lúmens estreitos, além disso, podem ocorrer erros no reprocessamento devido a limpeza e armazenamento inadequados. O ozônio (O₃) vem sendo utilizado na área de desinfecção há vários anos, demonstrando grande eficácia na destruição de bactérias, vírus e fungos. Com base nessa premissa, o presente estudo teve como objetivo, desenvolver um equipamento utilizando água ozonizada operando de forma fluído dinâmica para a desinfecção de alto nível, de colonoscópios. O equipamento é constituído basicamente de uma cuba, com geometria interna na forma de espiral para acomodar o colonoscópio. A água ozonizada flui pelo circuito com o auxílio de uma bomba, e dessa forma, desinfecta tanto pelo poder de oxidação do ozônio, como pela força do fluxo da água, removendo a sujidade. Para verificar a eficácia do reprocessamento, foi adotada a avaliação microbiológica, e para tal, optou-se por induzir a contaminação do colonoscópio com o microrganismo *Staphylococcus aureus*, que é uma bactéria comumente presente no trato intestinal humano. A utilização da água ozonizada na concentração de 930 mg.L⁻¹.min, foi capaz de eliminar 99,9999% de microorganismos em todos os pontos de coleta testados. Paralelamente, o tempo clássico de desinfecção de colonoscópios utilizando produtos químicos, que é de 30 minutos, a partir do uso do referido equipamento, pode ser reduzido para 15 minutos, favorecendo sobremaneira os serviços clínicos de endoscopia, uma vez que estes, realizam rotineiramente grande número de exames ao dia. Portanto, concluímos que, o protótipo desenvolvido neste trabalho, voltado para desinfecção de colonoscópios utilizando água ozonizada, apresenta eficácia superior aos métodos clássicos, se mostrando altamente adequado para a desinfecção de alto nível, de colonoscópios.

Palavra-Chaves: Engenharia Biomédica. Desinfecção. Água Ozonizada. Hidrodinâmica. Colonoscópio.

ABSTRACT

Endoscopes are classified as semi-critical and thermosensitive items, whose reprocessing can be carried out manually or automatically using certain chemical reagents, such as glutaraldehyde, peracetic acid or orthophthalaldehyde, and thus obtain a high level of disinfection. The reprocessing of flexible endoscopes is considered a challenge, since disinfection is a complicated step due to its structural design with narrow lumens, in addition, errors in reprocessing may occur due to improper cleaning and storage. Ozone (O₃) has been used in the disinfection area for several years, showing great efficacy in the destruction of bacteria, viruses and fungi. Based on this premise, the present study aimed to develop equipment using ozonized water operating in a dynamic fluid for high-level disinfection of colonoscopes. The equipment consists basically of a vat, with internal geometry in the form of a spiral to accommodate the colonoscope. Ozonized water flows through the circuit with the aid of a pump, and in this way, it disinfects both by the oxidation power of ozone and by the force of the water flow, removing dirt. In order to verify the efficacy of reprocessing, microbiological evaluation was adopted, and for this, it was decided to induce contamination of the colonoscope with the microorganism *Staphylococcus aureus*, which is a bacterium commonly present in the human intestinal tract. The use of ozonized water at a concentration of 930 mg.L⁻¹.min, was able to eliminate 99.9999% of microorganisms in all the tested collection points. At the same time, the classic disinfection time for colonoscopes using chemicals, which is 30 minutes, from the use of said equipment, can be reduced to 15 minutes, greatly favoring clinical endoscopy services, since these routinely perform a great deal number of exams per day. Therefore, we conclude that the prototype developed in this work, aimed at disinfecting colonoscopes using ozonated water, is more effective than classical methods, proving to be highly suitable for high-level disinfection of colonoscopes.

Keys words: Biomedical Engineering. Disinfection. Ozonated Water. Hydrodynamic. Colonoscope.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	17
2.	OBJETIVOS	21
2.1.	OBJETIVO GERAL	21
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
3.	REVISÃO DE LITERATURA	22
3.1.	Histórico da endoscopia.....	22
3.2.	As infecções associadas ao mau reprocessamento dos endoscópios	25
3.3.	Reprocessamento dos endoscópios	25
3.4.	As etapas de reprocessamento de endoscópios.....	26
3.4.1.	Pré-limpeza.....	26
3.4.2.	Limpeza	27
3.4.3.	Enxágue	27
3.4.4.	Desinfecção	28
3.4.5.	Secagem	28
3.4.6.	Armazenamento.....	29
3.5.	Desinfecção de Alto Nível	29
3.5.1.	Glutaraldeído.....	31
3.5.2.	Ácido Peracético.....	32
3.5.3.	Ortoftaldeído 0,55% (OPA).....	32
3.6.	Métodos manuais e automatizados para limpeza e desinfecção dos endoscópios.....	33
3.6.1.	Limpeza manual	33
3.6.2.	Desinfecção automatizada	34
3.7.	Ozônio.....	34
3.7.1.	Produção de ozônio.....	36
3.7.2.	Método de descarga corona	36
3.7.3.	Ação antimicrobiana do ozônio.....	38
3.7.4.	Toxicidade do ozônio.....	40
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	41

4.1.	Tipo de pesquisa	41
4.2.	Local da pesquisa	41
4.3.	Desenvolvimento do Sistema.....	41
4.4.	Montagem da réplica do colonoscópio	45
4.5.	Avaliação microbiológica.....	46
4.6.	Teste Microbiológicos e de análise por Bioluminescência	49
4.6.1.	Ultrasnap (Hygiena, USA)	50
4.6.2.	Aquasnap Total - Hygiena, USA.....	51
4.7.	Dosagem de ozônio aplicado	51
5.	RESULTADOS	53
6.	DISCUSSÃO	61
7.	CONCLUSÃO.....	68
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1: CABEÇOTE DO COLONOSCÓPIO, MARCA FUJINON MODELO 2220 EC 250 HLS, COM A PRESENÇA DOS CONTROLES (“JOYSTICKS”) DE ANGULAÇÃO DA EXTREMIDADE DISTAL. FONTE: REGISTRO DO PESQUISADOR 24
- FIGURA 2: ESQUEMA INTERNO DE UM ENDOSCÓPIO PENTAX. FONTE: MULLER & LAGEMANN (2002)..... 24
- FIGURA 3: ESPECTRO DE DANOS DO CANAL DE TRABALHO DO ENDOSCÓPIO. FONTE: (BARAKAT; GIROTRA; HUANG; BANERJEE, 2018). 26
- FIGURA 4: ETAPAS DE REPROCESSAMENTO DE ENDOSCÓPIO. FONTE (BAI *ET AL*, 2013) 26
- FIGURA 5: ESTRUTURA MOLECULAR DO OZÔNIO INDICANDO A CONFORMAÇÃO DOS TRÊS ÁTOMOS DE OXIGÊNIO. FONTE: (SILVA *ET AL.*, 2011)..... 35
- FIGURA 6: GERAÇÃO DO OZÔNIO ATRAVÉS DO PROCESSO CORONA. FONTE: (ADAPTADO DE SILVA *ET AL.*, 2011). 37
- FIGURA 7: MECANISMO DE AÇÃO DO OZÔNIO EM BACTÉRIAS. 1- BACTÉRIA; 2 – PAREDE CELULAR DA BACTÉRIA SENDO ATACADA PELO OZÔNIO; 3 – OXIDAÇÃO DA PAREDE CELULAR; 4, 5 E 6 – RUPTURA E DESTRUIÇÃO DA BACTÉRIA. FONTE: SNATURAL (2020)..... 39
- FIGURA 8: VISTA SUPERIOR REPRESENTANDO O RESERVATÓRIO PARA A DESINFECÇÃO DO COLONOSCÓPIO, BEM COMO TAMBÉM O CIRCUITO HIDRODINÂMICO DE GEOMETRIA SINUOSA DE POSICIONAMENTO DO COLONOSCÓPIO PARA A MELHOR HIGIENIZAÇÃO. NESTE TANQUE HÁ A ENTRADA DE ÁGUA OZONIZADA NO SENTIDO DE MANTER UM NÍVEL DE FLUÍDO MÍNIMO, NO INTUITO DE DEIXAR O COLONOSCÓPIO TOTALMENTE IMERSO: (1) COLONOSCÓPIO · (2) RESERVATÓRIO PRINCIPAL · (3) ENTRADA DE ÁGUA OZONIZADA BOMBEADA PELA BOMBA PRINCIPAL · (4) ENTRADA DE ÁGUA OZONIZADA PARA O CANAL DO COLONOSCÓPIO · (5) PÁS · (6) DRENAGEM DA ÁGUA OZONIZADA · (7) CIRCUITO DE FLUXO DE ÁGUA · (8)

EXTREMIDADE DISTAL DO COLONOSCÓPIO · (9) FIOS DE AÇO INOXIDÁVEL TRACIONADOS PARA SUSTENTAÇÃO DO COLONOSCÓPIO. FONTE: AUTOR PESQUISADOR.....	42
FIGURA 9: DIAGRAMA ESQUEMÁTICO MOSTRANDO OS COMPONENTES E FUNCIONAMENTO DO PROTÓTIPO. (1) COLONOSCÓPIO · (2) TANQUE PRINCIPAL · (3) TANQUE SECUNDÁRIO · (4) BOMBA PRINCIPAL · (5) BOMBA SECUNDÁRIA · (6) VÁLVULAS VENTURI · (7) GERADOR DE OZÔNIO · (8) CILINDRO DE OXIGÊNIO · (9) VÁLVULA REGULADORA DE FLUXO DE GÁS · (10) NÍVEL DA ÁGUA · (11) DRENO DA ÁGUA OZONIZADA · (12) VÁLVULA REGULADORA DE FLUXO DE ÁGUA · (13) VÁLVULA · (14) DESCARTE DE OZÔNIO PROCESSADO · (15) SENSOR DE CONCENTRAÇÃO DE OZÔNIO NA ÁGUA · (16) MEDIDOR DA CONCENTRAÇÃO DE OZÔNIO NA ÁGUA · (17) SISTEMA DESCARTE DE ÁGUA · (18) ENTRADA DO CANAL PARA INTRODUIR A ÁGUA OZONIZADA · (19) CONTROLE DO CIRCUITO ELETRÔNICO. FONTE: AUTOR PESQUISADOR.....	44
FIGURA 10: FLUXOGRAMA DOS PONTOS DE COLETA DE AMOSTRAS MICROBIOLÓGICAS DO MODELO AMOSTRAL DO COLONOSCÓPIO. FONTE: AUTOR PESQUISADOR.	48
FIGURA 11: FLUXOGRAMA COM AS ETAPAS DE COLETA DOS FRAGMENTOS AMOSTRAIS. FONTE: AUTOR PESQUISADOR.....	49
FIGURA 12: CONCENTRAÇÃO DE OZÔNIO (MG.L ⁻¹) EM ÁGUA PROVENIENTE DIRETO DA REDE PÚBLICA VERSUS TEMPO (MINUTOS) UTILIZANDO O MODELO HIDRODINÂMICO DO PROTÓTIPO DESENVOLVIDO. FONTE: AUTOR PESQUISADOR.	54
FIGURA 13: CONCENTRAÇÃO DE OZÔNIO (MG.L ⁻¹) EM ÁGUA FILTRADA VERSUS TEMPO (MINUTOS) UTILIZANDO O MODELO HIDRODINÂMICO DO PROTÓTIPO DESENVOLVIDO. FONTE: AUTOR PESQUISADOR.....	55
FIGURA 14: CONCENTRAÇÃO DE OZÔNIO (MG.L ⁻¹) VERSUS TEMPO (MINUTOS) EM ÁGUA FILTRADA A PARTIR DO PROTÓTIPO DESENVOLVIDO, NESTA CONDIÇÃO FOI REALIZADO DE INÍCIO O PROCESSO DE OZONIZAÇÃO E APÓS O MINUTO 25 HOUE A IMERSÃO DO COLONOSCÓPIO PARA A DESINFECÇÃO APÓS A PRIMEIRA ETAPA DE LIMPEZA. FONTE: AUTOR PESQUISADOR.....	56

FIGURA 15: DADOS DE REDUÇÃO LOGARÍTMICA QUANTITATIVA DA BACTÉRIA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, A PARTIR DA CONTAMINAÇÃO DO COLONOSCÓPIO EM CALDO MICROBIANO CONTENDO 9×10^8 UFC/ML, AS ANÁLISES FORAM REALIZADAS NAS EXTREMIDADES DISTAL E PROXIMAL DO COLONOSCÓPIO, OS VALORES INDICADOS ABRANGEM AS ETAPAS DE DESINFECÇÃO CONSIDERANDO O DETERGENTE ENZIMÁTICO COMBINADO COM UMA DAS FASES QUE SÃO O GLUTARALDEÍDO OU A ÁGUA OZONIZADA. AS INDICAÇÕES RP_GLU E RP_OZO REPRESENTAM RESPECTIVAMENTE REPROCESSAMENTO E OZÔNIO..... 58

FIGURA 16: DADOS DE REDUÇÃO LOGARÍTMICA QUANTITATIVA DA BACTÉRIA *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, A PARTIR DA CONTAMINAÇÃO DO COLONOSCÓPIO EM CALDO MICROBIANO CONTENDO 9×10^8 UFC/ML, FOI INJETADA ÁGUA ESTÉRIL NO CANAL VIA EXTREMIDADE PROXIMAL DO COLONOSCÓPIO, E COLETADA NA OUTRA EXTREMIDADE DISTAL, OS VALORES INDICADOS ABRANGEM AS ETAPAS DE DESINFECÇÃO CONSIDERANDO O DETERGENTE ENZIMÁTICO COMBINADO COM UMA DAS FASES QUE SÃO O GLUTARALDEÍDO OU A ÁGUA OZONIZADA. 60

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: RESUMO DAS VANTAGENS E DESVANTAGENS DE AGENTES QUÍMICOS USADOS COMO PRODUTOS ESTERILIZANTES OU COMO DESINFETANTES DE ALTO NÍVEL.....	29
TABELA 2: AGENTES OXIDANTES E RESPECTIVOS POTENCIAIS DE OXIDAÇÃO	36
TABELA 4: DETERMINAÇÃO DA PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE CRESCIMENTO MICROBIANO (ANÁLISE MICRO-BIOLÓGICA QUALITATIVA) DAS SUPERFÍCIES EXTERNAS PROXIMAL E DISTAL DO COLONOSCÓPIO ADAPTADO.	57
TABELA 5: DETERMINAÇÃO DE ATP (TRIFOSFATO DE ADENOSINA) PELA TÉCNICA DE BIOLUMINESCÊNCIA DAS SUPERFÍCIES EXTERNA PROXIMAL E DISTAL DO COLONOSCÓPIO ADAPTADO.	57
TABELA 6: DETERMINAÇÃO DA PRESENÇA OU AUSÊNCIA DE CRESCIMENTO MICROBIANO (ANÁLISE MICROBIOLÓGICA QUALITATIVA) DE AMOSTRAS DE ÁGUA DO CANAL DE TRABALHO DO COLONOSCÓPIO ADAPTADO	58
TABELA 7: DETERMINAÇÃO DE ATP (ADENOSINA TRIFOSFATO) PELA TÉCNICA DE BIOLUMINESCÊNCIA DE AMOSTRAS DE ÁGUA DO CANAL DE TRABALHO DO EQUIPAMENTO	59

LISTA DE EQUAÇÕES

EQUAÇÃO 1: CÁLCULO DE REYNOLDS. FONTE: FLOURY *ET AL.*, 2004. 53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APA – Ácido Peracético
Após CE – Após Contaminação experimental
atm – Atmosfera
CCD – Charge-Coupled Device (Dispositivo de carga acoplada)
CDC – Centers for Disease Control and Prevention
CPRE – Colangiopancreatografia Retrógrada Endoscópica
DNA – Deoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucleico)
EDA – Endoscopia Digestiva Alta
EDB – Endoscopia Digestiva Baixa
EGD – Esofagogastroduodenoscopia
FDA – Food And Drug Administration
GA – Glutaraldeído
OPA – Ortoftalaldeído
POP – Procedimento Operacional Padrão
PTFE – Politetrafluoretileno
PVC – Policloreto De Vinila
RAE – Reprocessamento Automático De Endoscópio
RDC – Resolução da Diretoria Colegiada
RNA – Ribonucleic Acid (Ácido Ribonucleico)
RP_GLU – Reprocessamento com Glutaraldeído
RP_OZO – Reprocessamento com ozônio
S. aureus – *Staphylococcus aureus*
S₂ – Sulfeto
UFC – Unidade Formadora de Colônia
URL – Unidade Relativa de Luz
WGO – World Gastroenterology Organisation

1. INTRODUÇÃO

Devido a constante evolução da tecnologia tem-se buscado reavaliar com certa frequência as práticas de cuidado, manutenção e desinfecção de instrumentos médico-hospitalares. No intuito de se evitar a transmissão de doenças infecciosas, torna-se necessário a realização de protocolos de desinfecção, a fim de eliminar a presença de microrganismos. Um exemplo a relatar são os endoscópios, pois são aparelhos que necessitam de manutenção e desinfecção rigorosas e específicas, pois, são equipamentos utilizados em serviços especializados, com alta demanda de exames e, por serem de alto custo, seu inventário é geralmente restrito. Sendo assim, são equipamentos aprovados para reutilização, apesar de apresentarem estrutura complexa (BALSAMO *et al.*, 2012).

Embora os endoscópios desempenhem um papel vital na prestação de cuidados de saúde e ofereçam muitos benefícios aos pacientes. O risco associado à contaminação secundária continua sendo uma preocupação significativa na área da saúde, uma vez que podem ser associados a mais casos de infecções de pacientes mediadas por dispositivos do que qualquer outro instrumento médico, devido a sua complexidade estrutural, o endoscópio apresenta um desafio substancial para alcançar um reprocessamento eficaz (LEE *et al.*, 2018).

Os endoscópios podem ser rígidos ou flexíveis, ambos são sensíveis ao calor (termo sensíveis). Possuem uma estrutura opto-mecânica e eletrônica complexa, composta por canais longos e com lumens estreitos, com revestimento interno de politetrafluoretileno (PTFE, Teflon®), segundo Hanai *et al.*, (2019). Isto favorece a aderência de matéria orgânica e microrganismos e, em consequência, formação de biofilme, o que exige um rigoroso processo de limpeza e desinfecção a cada utilização para evitar a transmissão de infecções (BRASIL, 2013).

Todos os artigos médico-hospitalares que não são descartáveis necessitam ser reprocessados com segurança antes de cada nova utilização. A Resolução RDC 156 de 11 de agosto de 2006 dispõe sobre registro, rotulagem

e reprocessamento de produtos médico-hospitalares (BRASIL, 2006). Reprocessamento pode ser entendido como o processo aplicado a produtos médico-hospitalares, exceto os de uso único, para permitir sua reutilização, o que inclui limpeza, desinfecção, preparo da embalagem, rotulagem, esterilização, testes biológicos e químicos, análise de possíveis resíduos do agente esterilizante, conforme legislação vigente de integridade física de amostras e controle de qualidade (CARRARA *et al.*, 2013).

A Resolução 6 de 10 de março de 2013, com o intuito de mitigar a contaminação secundária via endoscópios, padroniza o processo de desinfecção dos aparelhos. Durante a etapa de pré-limpeza, prevê a remoção da sujidade presente nos produtos para a saúde, utilizando-se água e ação mecânica. Na etapa da limpeza, há a remoção da sujidade orgânica e inorgânica com redução da carga microbiana presente nos produtos para a saúde utilizando-se água, detergentes, produtos e acessórios de limpeza; por meio de ação mecânica (manual ou automatizada), atuando em superfícies internas (lúmen) e externas, de forma a tornar o produto seguro para o manuseio e preparado para a reutilização, desinfectado ou esterilizado (BRASIL, 2013).

A Resolução RDC 6 de 10 de março de 2013, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) recomenda que todo serviço de endoscopia tenha um Procedimento Operacional Padrão (POP), com as etapas do reprocessamento de equipamentos e acessórios, de acordo com a legislação referente ao uso dos agentes saneantes e as orientações contidas nos manuais de processamento do fabricante. Este POP deve estar disponível na sala de reprocessamento para consulta pela equipe de saúde de autoridade sanitária competente (ANVISA, 2013).

Por serem termo sensíveis, os métodos utilizados para a desinfecção podem ser classificados em meios físicos e químicos (CARRARA *et al.*, 2013). Atualmente, existem inúmeros desinfetantes químicos no mercado, sendo o glutaraldeído a 2% (GA) o desinfetante mais amplamente utilizado na prática de desinfecção de alto nível. Trata-se de um dialdeído saturado, com ação bactericida, viricida, microbactericida e fungicida, não é corrosivo para metais,

não danifica plástico e apresenta relativamente um baixo custo. (MOLLOY-SIMARD *et al.*, 2019).

Outro desinfetante também muito utilizado é o ácido peracético, que é caracterizado pela rápida ação contra todos os microrganismos, o que o torna um agente bactericida, viricida e esporicida, cuja vantagem especial é sua decomposição em produtos não tóxicos, ou seja, água, oxigênio e peróxido de hidrogênio (LEE *et al.*, 2018). Entretanto, apresenta a desvantagem de ser menos estável em relação ao glutaraldeído, possuindo uma vida útil de 12 a 18 dias na forma líquida dependendo das condições de armazenamento e de três anos sob a forma de pó. Além disso, apresenta a desvantagem de oxidar cobre, bronze, aço comum. Esse efeito pode ser revertido com o uso de aditivos e alteração de pH, (KAMPF, 2018) e apresenta parcial grau de toxicidade a nível ecológico (PANOUILLÈRES; BOILLOT; PERRODIN, 2007).

O Ortoftalaldeído 0,55% (OPA) é outro exemplo de desinfetante utilizado para a desinfecção de alto nível. Ele é um dialdeído que apresenta natureza lipofílica, tornando assim a parede celular das micobacterias e bactérias Gram negativas mais susceptíveis a sua ação, causando danos a membrana que envolve o microrganismo, haja vista, que sua ação microbicida ocorre através da interação entre o ácido amino e as proteínas dos micro-organismos (SEO *et al.*, 2016). Todavia, possui poucos dados sobre os perigos da exposição a longo prazo (LEE *et al.*, 2018).

A uma constante busca por tecnologias que realizem a desinfecção sem a necessidade de elevação de temperatura e pressão, devido às características e fragilidades de produtos lançados no mercado, bem como maior rapidez no processo de desinfecção, conveniência e apelos ambientais. Estudos com ozônio (O₃) têm trazido grandes benefícios e bons resultados, uma vez que o ozônio é conhecido como o segundo mais poderoso agente oxidante (SCHIAVON *et al.*, 2012).

A principal diferença entre o ozônio e outros biocidas é o mecanismo de inativação dos microrganismos, uma vez que o ozônio atua diretamente na parede celular, causando ruptura desta membrana e consequente morte em menor tempo, ou ao menos inviabilizando a reprodução de microrganismos,

bem como também evitando a recuperação destas células após o processo de oxidação (KHADRE, YOUSEF, e KIM 2001; RESTAINO *et al.*, 1995). Por esse motivo, a utilização do ozônio se torna tão importante e eficaz na inativação de bolores, leveduras, vírus, protozoários, inclusive formas esporuladas e cistos de protozoários, que são mais resistentes, além disso, inativa também diversas bactérias gram-negativas e gram-positivas, células vegetativas, esporos fúngicos ou capsídeos virais, em concentrações relativamente baixas e em reduzido tempo de atuação (SILVA, *et al.*, 2011).

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Desenvolver um equipamento que emprega um sistema hidrodinâmico com água ozonizada para a desinfecção de alto nível de colonoscópio.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar protocolo de higienização, utilizando ozônio para a desinfecção do colonoscópio.
- Desenvolver um protocolo de desinfecção com água ozonizada fluído dinâmica, utilizando testes microbiológicos de maneira a garantir uma desinfecção de alto nível.
- Determinar as dosagens necessárias para obter uma desinfecção de alto nível.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Histórico da endoscopia

A técnica de endoscopia com fins diagnósticos e terapêuticos faz parte da realidade das unidades de saúde. A endoscopia consiste em um procedimento para inspeção de órgãos e cavidades do corpo humano, com o uso de um instrumento chamado endoscópio (NAKAIDARA e ZATERK, 2001).

O aparelho endoscópico utilizado atualmente para estudo do trato gastrointestinal (o vídeo-endoscópio) é resultado de quase 200 anos de evolução tecnológica. Desde seu princípio, a endoscopia mostrou uma grande vocação terapêutica e se desenvolveu muito no final do século XIX e início do século XX (CHEN, CHEN, 1980; GROEN, 2017). A história da endoscopia diagnóstica pode ser dividida em quatro períodos:

- Endoscopia rígida (1809 – 1932);
- Endoscopia semiflexível (1932 – 1958);
- Endoscopia com fibras ópticas (1958 – 1981);
- Endoscopia eletrônica (1981 – atual)

Historiadores médicos apontam Philipp Bozzini, como o primeiro a considerar a possibilidade de um exame endoscópico do esôfago. Utilizando um espelho na garganta, é provável que ele não tenha visto nada além do esfíncter criofaríngeo (CHEN, 1980; SIVAK, 1999; SBED, 1984).

Os primeiros aparelhos eram tubos rígidos, feitos com aço inoxidável e iluminação obtida por uma lâmpada na extremidade da haste, exibindo uma boa imagem e propiciando a visualização de patologias digestivas. No entanto, esses aparelhos tinham pontos cegos pela falta de curvatura, razão pelo qual alguns locais não podiam ser examinados (ACHORD, MUTHUSAMY, 2019).

A endoscopia semiflexível evoluiu com o trabalho conjunto de Georg Wolf e Rudolph Schindler, apresentado em 1932, o endoscópio podia ser parcialmente flexionado na introdução, mas uma vez no estômago precisava ser retificado para acomodar as 50 ou mais lentes empregadas (COTTON, WILLIAMS, 1998).

Atualmente, os equipamentos são divididos em dois tipos: fibroscópios, que transmitem a imagem através de um sistema de fibras óticas; e os vídeoendoscópios, que transmitem as imagens através de uma micro câmera, ou CCD, gerando uma imagem eletrônica (SBED, 1984).

Com toda esta evolução tecnológica, é possível ganhar um aumento da imagem em até 100 vezes, em relação ao tamanho normal, com a magnificação ótica (zoom ótico) nos endoscópios eletrônicos (ANTHONY *et al.*, 2002), o que permite uma investigação microscópica da mucosa e de suas lesões.

A endoscopia gastrointestinal flexível é uma importante ferramenta diagnóstica e terapêutica em gastroenterologia clínica. O procedimento padrão para endoscopia digestiva não mudou muito nas últimas décadas. A extremidade distal do tubo de inserção flexível pode ser curvada na vertical e na horizontal pelos volantes através dos cabos Bowden. A inserção e retração manual podem ser combinadas com a rotação de todo o endoscópio. A luz é transmitida do processador conectado à ponta do endoscópio, de onde um chip envia sinais de imagem da lente para um monitor. Os canais permitem a insuflação do lúmen gastrointestinal, aspiração de conteúdo de fluido e lavagem das lentes. Um canal de instrumentação maior acomoda vários acessórios de diagnóstico e terapêuticos. O design e a cobertura do endoscópio permitem uma desinfecção eficiente antes da reutilização (KURNIAWAN; KEUCHEL, 2017).

Os endoscópios atuais são constituídos de duas partes: o cabeçote com os controles “joystick” e o tubo flexível de inserção. Neste cabeçote encontram-se as válvulas de ar, água e sucção, o que permite ao manipulador controlar a inserção de ar ou água e a sucção de líquidos do interior dos órgãos do trato gastrointestinal, e o comando de controle conforme apresentado na Figura 1. O canal de ar/água é único, tem 1 mm de diâmetro, possibilita a injeção de ar que ocasionalmente pode ser utilizado para inflar um órgão e água para realizar a limpeza das lentes (COSTA, 2012).



Figura 1: Cabeçote do colonoscópio, marca Fujinon modelo 2220 EC 250 HLS, com a presença dos controles (“Joysticks”) de angulação da extremidade distal. **Fonte:** Registro do pesquisador

Na porção do “tubo flexível de inserção” ou corpo do endoscópio encontram-se os canais do colonoscópio e um lúmen para a condução da imagem através de fibra ótica. As pinças são inseridas e as secreções são aspiradas pelo canal de sucção/biópsia, já pelo canal de ar/água é inserido ar para distensão do órgão e água para a limpeza da lente do equipamento, mostrados na Figura 2.

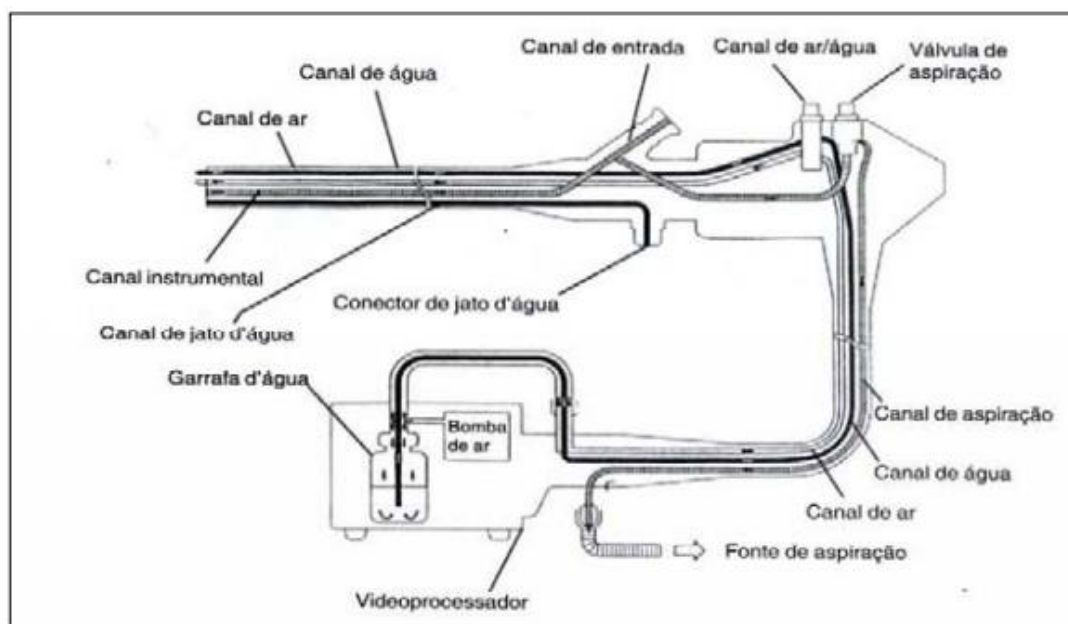


Figura 2: Esquema interno de um endoscópio Pentax. **Fonte:** Muller & Lagemann (2002).

No mercado atual há diversos tipos de endoscópios disponíveis, apresentando diferença de comprimento e diâmetro dos canais, de acordo com a área a ser analisada, dentre os modelos de endoscópios existentes estão o gastroscópio, broncoscópio, colonoscópio, duodenoscópio, cistoscópio, entre outros equipamentos.

3.2. As infecções associadas ao mau reprocessamento dos endoscópios

Durante o uso clínico, os endoscópios gastrointestinais são fortemente contaminados com a microbiota nativa do paciente, esses endoscópios passam por reprocessamento para impedir a transmissão infecciosa microbiana em uso futuro, existem muitas razões para a contaminação persistente, incluindo falhas no reprocessamento, defeitos adquiridos e inerentes ao endoscópio, suprimentos de limpeza inadequados ou com defeito e formação de biofilme (MCCAFFERTY *et al.*, 2018).

Bactérias resistentes à contaminação se espalham a partir de endoscópios contaminados, levando as instituições médicas a realizarem análises microbiológicas de seus endoscópios, na tentativa de detectar a contaminação por microrganismos de grande preocupação, para que esses endoscópios possam ser reprocessados adequadamente, e assim, evitar infecções (SINGH *et al.*, 2019).

3.3. Reprocessamento dos endoscópios

A Figura 3 apresenta o esquema que descreve todo o espectro de danos no canal de trabalho, de leve a grave: arranhões superficiais e ranhuras com casca aderente são quase onipresentes e consistentes com o desgaste normal. A importância de arranhões e queimaduras mais profundas é incerta e essas descobertas devem desencadear discussões com o fabricante. A flambagem do canal pode comprometer o lúmen deste guia, prejudicar a capacidade de movimentar dispositivos acessórios e a limpeza manual; reparo do canal é indicado. Perfurações e manchas relacionadas geralmente indicam falhas no

teste de vazamento; reparo do canal é indicado (BARAKAT; GIROTRA; HUANG; BANERJEE, 2018).

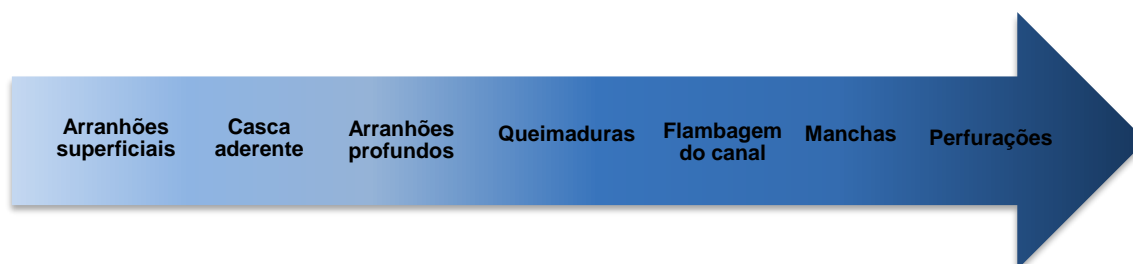


Figura 3: Espectro de danos do canal de trabalho do endoscópio. **Fonte:** (Barakat; Girotra; Huang; Banerjee, 2018).

3.4. As etapas de reprocessamento de endoscópios

Reprocessamento inadequado do endoscópio, endoscópios danificados, e a estrutura complexa dos endoscópios podem ameaçar a segurança dos pacientes submetidos à endoscopia. Desse modo, foram estabelecidas diretrizes para o reprocessamento adequado desses instrumentos, onde são recomendadas várias etapas que consistem em pré-limpeza, limpeza, enxágue, desinfecção, lavagem, secagem e armazenamento (Figura 4). Como os endoscópios são classificados como dispositivos semicríticos, de acordo com o sistema de classificação Spaulding, é necessária a desinfecção de alto nível (DAN) para reprocessamento (SHIN; KIM, 2015).



Figura 4: Etapas de reprocessamento de endoscópio. **Fonte** (BAI *et al*, 2013)

3.4.1. Pré-limpeza

A pré-limpeza é a primeira etapa do pós-tratamento e deve ser realizada à beira do leito imediatamente após a conclusão da endoscopia. A pré-limpeza envolve a remoção de detritos visíveis, limpando o exterior do endoscópio com uma solução de detergente adequada. O ar e a solução devem passar repetidamente pelo canal de biópsia. Após a pré-limpeza, o endoscópio precisa

ser transportado para outra sala para desinfecção. Se as salas não forem adjacentes, o endoscópio deve ser colocado em um recipiente fechado para ser transportado (RUTALA; WEBER, 2016).

3.4.2. Limpeza

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

Antes de limpar o endoscópio, um teste contra vazamento deve ser realizado e todas as peças destacáveis devem ser separadas. Deve ser usado detergente para limpar a superfície externa do endoscópio utilizando um pano, esponja ou escova macia. Todos os canais acessíveis devem ser limpos e escovados para remover detritos e outros contaminantes. Áreas ou acessórios difíceis de limpar devem ser limpos com um limpador ultrassônico (SPEER, 2019).

3.4.3. Enxágue

Etapa que visa à remoção das sujidades e da carga microbiana das superfícies externa, interna e canais dos endoscópios, após o desprendimento destes detritos durante a limpeza, devendo ser dada uma atenção especial aos canais internos, sempre utilizando o adaptador fornecido pelo fabricante para proceder a irrigação dos canais utilizando seringa para uma injeção de baixa pressão Speer (2019), etapa que segundo a *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) deve ser realizada com água destilada de preferência, já na impossibilidade desta recomenda-se que haja um controle eficaz da qualidade da água potável, de preferência filtrada para o enxágue do endoscópio (COWEN, 2001).

Quando se utiliza detergentes enzimáticos, deve haver um ótimo enxague eliminando assim qualquer resíduo de proteínas no equipamento, evitando o comprometimento do mesmo, e ao final de cada enxague deve realizar o devido descarte da água utilizada (SPEER, 2019).

3.4.4. Desinfecção

Recomenda-se desinfecção de alto nível após os processos de limpeza e lavagem. O endoscópio e seus componentes devem ser completamente imersos em uma solução desinfetante de alto nível, garantindo que todos os canais sejam bem perfundidos. A seleção de desinfetantes de alto nível deve basear-se na aprovação seguindo as especificações das seguintes instituições: *US Food and Drug Administration (FDA)*, *Conformité Européene* ou *Korean Food and Drug Administration*. O tempo de exposição e a temperatura apropriados para a desinfecção de alto nível são específicos para cada desinfetante e sua concentração. Um reprocessador de endoscópio automatizado pode ser usado para desinfecção de alto nível (RUTALA; WEBER, 2016).

3.4.5. Secagem

Os endoscópios devem ser secos após cada procedimento, purgando a água dos canais utilizando ar comprimido, depois realizar a desinfecção com álcool nos canais, seguido de secagem utilizando ar comprimido. A lavagem com álcool facilita a secagem e constitui um complemento útil da desinfecção por seus efeitos bactericidas (SPEER, 2019).

Água colonizada ou umidade residual podem ser uma fonte de microrganismos, e a secagem apropriada elimina toda a umidade das superfícies internas e externas do endoscópio. A secagem dos endoscópios, especialmente antes de um armazenamento prolongado, diminui a taxa de colonização bacteriana. A secagem com ar comprimido aumenta a eficácia do processo de desinfecção (BAI *et al*, 2013).

3.4.6. Armazenamento

O endoscópio deve ser armazenado em armário de secagem com circulação forçada de ar para completar a secagem. Se o endoscópio for utilizado raramente, é adequado guardá-lo separado, pendurado na vertical em armário especialmente concebido, em vez de armário de armazenamento/secagem com circulação forçada de ar, e depois reprocessar o endoscópio antes de uso no próximo paciente. Os endoscópios devem ser secos completamente antes de serem pendurados (SPEER, 2019).

3.5. Desinfecção de Alto Nível

A Tabela 1 a seguir relata as características em termos de vantagens e desvantagens, dos protocolos tradicionais de desinfecção de endoscópios utilizando agentes químicos.

Tabela 1: Resumo das vantagens e desvantagens de agentes químicos usados como produtos esterilizantes ou como desinfetantes de alto nível.

Método de esterilização	Vantagens	Desvantagens
Glutaraldeído	<ul style="list-style-type: none"> • Inúmeros estudos de uso publicados • Relativamente barato • Excelente compatibilidade de material 	<ul style="list-style-type: none"> • Irritação respiratória do vapor de glutaraldeído • Odor pungente e irritante • Atividade bactericida relativamente lenta (a menos que outros desinfetantes tenham sido adicionados, como fenólico, álcool) • Coagula sangue e fixa tecido nas superfícies • Dermatite alérgica de contato
Ácido-peracético	<ul style="list-style-type: none"> • Ciclo padronizado (por exemplo, sistema de processamento de 	<ul style="list-style-type: none"> • Incompatibilidade potencial do material (por exemplo, o

Método de esterilização	Vantagens	Desvantagens
	<p>esterilizantes químicos líquidos usando ácido peracético, lavado com água potável tratada extensivamente)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Esterilização por imersão líquida em baixa temperatura (50 ° C a 55 ° C) • Subprodutos “amigos” do ambiente (ácido acético, S₂, H₂O) • Totalmente automatizado • O sistema de uso único elimina a necessidade de testes de concentração • Pode melhorar a remoção de material orgânico e endotoxina • Nenhum efeito adverso à saúde dos operadores em condições operacionais normais • Compatível com muitos materiais e instrumentos • Não coagula sangue ou fixa tecidos nas superfícies • Esterilizador flui através do escopo, facilitando a remoção de sal, proteínas e micróbios. • Efeito esporicida rápido • Fornece padronização de procedimentos (diluição constante, perfusão de canal, temperaturas, exposição) 	<p>revestimento anodizado de alumínio se torna opaco)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Usado somente para instrumentos imersíveis • Indicador biológico pode não ser adequado para monitoramento de rotina • Um escopo ou um pequeno número de instrumentos podem ser processados em um ciclo • Mais caro (reparos no endoscópio, custos operacionais, custos de compra) do que a desinfecção de alto nível • Lesões graves nos olhos e na pele (solução concentrada) com contato • Sistema de ponto de uso, sem armazenamento estéril • Um AER usando ácido-peracético a 0,2% não aprovado pela FDA como processo de esterilização, mas HLD
OPA	<ul style="list-style-type: none"> • Desinfetante de alto nível de ação rápida • Não requer ativação • Odor não significativo • Excelente compatibilidade de 	<ul style="list-style-type: none"> • Mancha cinza de proteína (por exemplo, pele, mucosas, roupas e superfícies ambientais) • Experiência clínica limitada

Método de esterilização	Vantagens	Desvantagens
	materiais <ul style="list-style-type: none"> • Não coagula sangue ou fixa tecidos nas superfícies reivindicadas 	<ul style="list-style-type: none"> • Mais caro que o glutaraldeído • Irritação nos olhos com contato • Atividade esporocida lenta • Reações anafiláticas à OPA em pacientes com câncer de bexiga com exposição repetida à OPA por cistoscopia

Fonte: Adaptado de (Rutala; Weber, 2016).

3.5.1. Glutaraldeído

O glutaraldeído é um desinfetante amplamente utilizado, especialmente em países em desenvolvimento, para desinfecção rápida e eficaz de instrumentos que não são adequados para esterilização em autoclave. Se trata de um desinfetante de alto nível, possuindo um amplo espectro de ação. Possui propriedades não corrosivas frente a metal, borracha e plástico além de resistência à inativação pela matéria orgânica, sendo utilizado tanto para reprocessamento manual como automático de endoscópios. É recomendado pelos fabricantes pelo baixo custo, entretanto os efeitos tóxicos do glutaraldeído nos sistemas respiratório e gastrointestinal têm sido amplamente relatados e discutidos na literatura, uma vez que ele fixa proteínas, o que permite a formação de biofilme, além de possuir resíduos tóxicos, causando efeitos adversos em manipuladores e pacientes, além de não ser biodegradável (NAZIK *et al.*, 2012).

A Resolução RDC n°. 14, de 28 de fevereiro de 2007, que aprova o Regulamento Técnico para Produtos Saneantes com Ação Antimicrobiana, também harmonizada no âmbito do Mercosul, a qual não permite nas formulações, substâncias que sejam comprovadamente cancerígenas e, nesse sentido, apresenta uma lista de substâncias ativas não permitidas nas composições de desinfetantes hospitalares para superfícies fixas, incluídos o formaldeído e paraformaldeído, a mesma Resolução abrange apenas os

desinfetantes hospitalares para artigos semicríticos e os esterilizantes, apresenta como um dos princípios ativos autorizados os aldeídos (formaldeído, glioxal, glutaraldeído e paraformaldeído) (BRASIL, 2007).

3.5.2. Ácido Peracético

O Ácido Peracético (APA) é um agente químico que está sendo utilizado na esterilização e desinfecção de alto nível de artigos críticos e semicríticos termos sensíveis. O APA é um composto quaternário orgânico, formado a partir de uma mistura equilibrada entre água, ácido acético e peróxido de hidrogênio, observa-se que este é considerado ecologicamente correto, pois seus produtos residuais são atóxicos. Há um relato controverso especificando que o ácido Peracético apresenta toxicidade quando testado perante o crustáceo *Tophia magna* (PANOUILLÈRES; BOILLOT; PERRODIN, 2007).

O ácido peracético, é um peroxidado, caracterizado pela rápida ação contra todos os microrganismos, o que o torna um agente bactericida, viricida e esporicida, cuja vantagem especial é sua decomposição em produtos não tóxicos, ou seja, água, oxigênio e peróxido de hidrogênio. É efetivo na presença de matéria orgânica e esporicida, mesmo em baixas temperaturas, e o seu mecanismo de ação se dá pela desnaturação proteica e ruptura da permeabilidade da membrana (LEE *et al.*, 2018). Entretanto, apresenta a desvantagem de ser menos estável em relação ao glutaraldeído, possuindo uma vida útil de 12 a 18 dias na forma líquida dependendo das condições de armazenamento e de três anos sob a forma de pó, também apresenta a desvantagem de oxidar cobre, bronze, aço comum com baixo teor de carbono, efeito que pode ser revertido com o uso de aditivos e alteração de pH (KAMPF, 2018).

3.5.3. Ortoftalaldeído 0,55% (OPA)

O Ortoftalaldeído 0,55% (OPA) é um dialdeído que apresenta natureza lipofílica, tornando assim a parede celular das microbactérias e bactérias Gram

negativas mais susceptíveis a sua ação, já que sua atuação microbicida ocorre através da interação entre o ácido amino e as proteínas dos micro-organismos (SEO *et al.*, 2016). Todavia possui poucos dados sobre os perigos da exposição por tempo longo, bem como também de especificar métodos seguros de manipulação, mas se assemelha ao glutaraldeído em alguns itens de risco, uma vez que o OPA pode causar irritação nos olhos e trato respiratório, apresentando riscos ao manipulador e a sua lenta ação contra esporos bacterianos (LEE *et al.*, 2018).

3.6. Métodos manuais e automatizados para limpeza e desinfecção dos endoscópios

Para o reprocessamento do endoscópio gastrointestinal flexível, é recomendado duas maneiras sendo elas: manual e automatizado.

3.6.1. Limpeza manual

A limpeza manual deve ser realizada por uma pessoa familiarizada com a estrutura do endoscópio e treinada em técnicas de limpeza. O procedimento deve se iniciar imediatamente após o endoscópio ser utilizado, para que o material biológico não seque e endureça dificultando assim ainda mais a sua remoção. Para realização deste procedimento devem ser utilizados escovação e exposição de todos os componentes externos e internos acessíveis com um detergente de uso específico compatível com endoscópios (uma vez que o detergente enzimático requer no mínimo 15 minutos de contato para agir, é preferível utilizar um detergente não enzimático), seguida de uma lavagem cuidadosa para assegurar que todos os detritos e detergentes sejam removidos antes da próxima etapa de higienização (BAI *et al.*, 2013).

A Resolução RDC 6 de março de 2013, Art. 41., da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) recomenda que a limpeza dos produtos para a saúde com conformações complexas, deve ser precedida de limpeza manual e complementada por limpeza automatizada em lavadora ultrassônica ou outro equipamento de eficiência comprovada (BRASIL, 2013).

3.6.2. Desinfecção automatizada

A vantagem do reprocessamento automático é que o manipulador e os pacientes ficam menos expostos a produtos químicos, com o risco de causar reações alérgicas ou infecciosas. É indicado o reprocessamento automático de endoscópio (RAE) para todos os modelos do equipamento citado, que devem primeiro ser limpos manualmente, visto que, esta etapa (limpeza manual) é obrigatória, mesmo que o fabricante indique que o RAE tem uma fase de lavagem (COSTA *et al.*, 2012).

O uso de reprocessadores automáticos de endoscópios tem sido bastante citado por protocolos internacionais (Rutala *et al.*, 2010; Bashaw, 2016), pois permitem a padronização das etapas do reprocessamento a fim de garantir o controle de variáveis como temperatura, quantidade dos agentes químicos utilizados no processo, evitando erros humanos. Antes dos ciclos de limpeza e desinfecção dos reprocessadores automáticos, tendo em vista as evidências anteriores de que o atrito por pressão ou escovação são importantes, recomenda-se a limpeza manual (RUTALA; WEBER; HICPAC, 2008).

Alguns equipamentos de reprocessamento permitem o registro de todo o processo, sinais sonoros ou visuais que são ativados quando há falha no processo, assim, o uso deste tipo de aparelho diminui a probabilidade de alguma etapa do reprocessamento ser omitida, ou de ter o seu tempo reduzido (SVETLÍKOVÁ *et al.*, 2009).

3.7. Ozônio

O nome ozônio deriva do *ozein*, a palavra grega para cheiro (verbo), que se refere ao odor distinto e desagradável do ozônio (BALAKRISHNAN; ARUNAGIRI; RAO, 2002). Ele se tornou conhecido em 1781, quando pela primeira seu cheiro característico foi detectado. Entretanto, somente em 1837 ele foi reconhecido como substância química, mas somente trinta anos depois em 1867 a fórmula tri atômica do ozônio foi descrita (BOCCI, 2005).

Formado com uma estrutura molecular de 3 átomos de oxigênios unidos por ligação covalente, com ângulo de 127° entre eles (Figura 6), o composto ozônio é uma forma alotrópica do elemento oxigênio. Por ser uma molécula instável, possui meia-vida de aproximadamente 20 minutos em condições normais de pressão e temperatura, ou seja, 1 atm e 20 a 25°C , decompõe-se facilmente em oxigênio, liberando um íon reativo, o que o destaca por proporcionar condições favoráveis ao meio ambiente (BOCCI, 2005; MOAT *et al.* 2009). É muito menos estável que o oxigênio (O_2) diatômico, gás à temperatura ambiente, instável, altamente reativo e oxidante, diamagnético, que condensa a -112°C , tem um ponto de congelamento de $-251,4^\circ\text{C}$ (BLACK; VEATCHE, 2010), Figura 5.

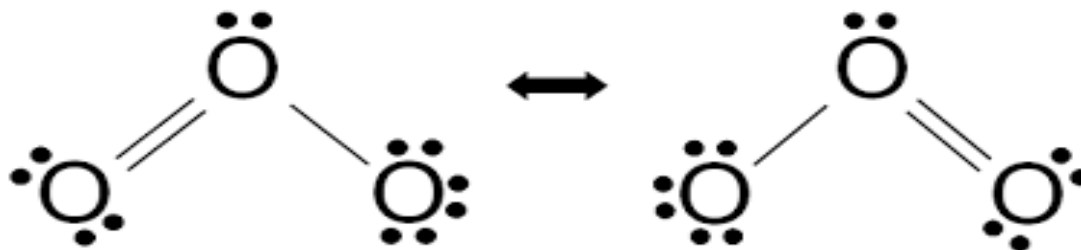


Figura 5: Estrutura molecular do ozônio indicando a conformação dos três átomos de oxigênio. **Fonte:** (SILVA *et al.*, 2011).

É um gás muito reativo e é naturalmente encontrado na troposfera superior (camada de ozônio), que está localizada a aproximadamente 20 a 25 quilômetros de altitude. Este gás ozônio desempenha um papel importante na absorção da radiação ultravioleta proveniente do sol, que é tão prejudicial à saúde humana (BALAKRISHNAN; ARUNAGIRI; RAO, 2002).

Em seu estado gasoso, além de ser altamente oxidante, é facilmente solúvel em água, possui alta solubilidade, essas características fazem do ozônio um poderoso composto usado como desinfetante (SILVA *et al.* 2011). O ozônio é conhecido como o segundo mais poderoso agente oxidante (Tabela 2) que pode ser utilizado em escala para aplicações em tratamento de água e esgoto, sendo adotado por diversos países em milhares de sistemas de tratamento de efluentes e água potável (SCHIAVON *et al.*, 2012).

Tabela 2: Agentes oxidantes e respectivos potenciais de oxidação

Agente Oxidante	Potencial de oxidação (mV)
Flúor	3,06
Ozônio	2,07
Peróxido de hidrogênio	1,78
Permanganato	1,67
Dióxido de cloro	1,50
Hipoclorito	1,49
Cloro	1,36

Fonte: BELTRÁN (2004).

3.7.1. Produção de ozônio

O ozônio é produzido naturalmente na estratosfera pela ação fotoquímica dos raios ultravioleta (~260nm) sobre as moléculas de oxigênio, esta radiação contém energia suficiente para separar os dois átomos que compõem a molécula de O₂, produzindo assim íons reagentes que podem recombinar com moléculas de O₂, culminando na formação do O₃. Outra forma de produção natural do ozônio, é constatado pela ação da tempestade atmosférica com a presença de raios no ar. A descarga elétrica dissocia a molécula de oxigênio em dois átomos íons oxidantes. Estas duas partículas instáveis podem se combinar com outras moléculas de oxigênio, resultando na formação das moléculas de ozônio (ROSADO, 2014).

3.7.2. Método de descarga corona

O ozônio pode ser produzido de três formas principais: por eletrólise, pela ação da radiação ultravioleta e descarga corona. Nos geradores comerciais, o ozônio é produzido principalmente por descarga corona ou radiação e consequente geração da luz ultravioleta. A radiação ultravioleta, todavia, não atende as necessidades de produção requeridas pela indústria. Assim a descarga elétrica do tipo corona é o método mais utilizado para se obter ozônio em quantidades significativas, devido a maior taxa de conversão

do oxigênio em ozônio. Neste método, o ozônio é gerado pela passagem de ar ou oxigênio puro entre dois eletrodos metálicos, separados também por um material dielétrico, e submetidos a uma elevada diferença de potencial elétrico em volts Figura 6. (ALMEIDA *et al.*, 2004).

O gerador de ozônio basicamente reproduz, de forma controlada e eficaz, o fenômeno natural na atmosfera terrestre, juntando uma adequada tecnologia na área de materiais à eletroeletrônica avançada, conforme é possível observar na Figura 6. Desta maneira, a geração de ozônio ocorre pelo princípio de descarga elétrica, que acelera elétrons o suficiente para quebrar, através de impacto, as ligações da molécula de oxigênio (PICCOLI; SOUZA; SOUZA, 2015).

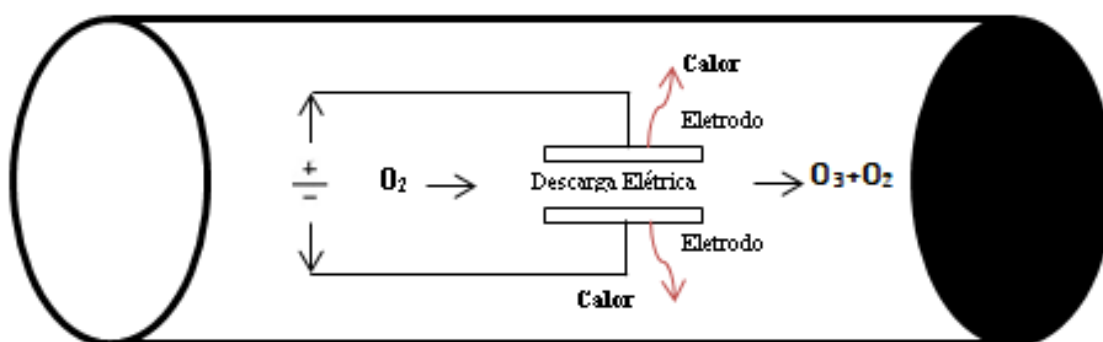


Figura 6: Geração do ozônio através do processo corona. **Fonte:** (Adaptado de Silva *et al.*, 2011).

No processo de descarga corona, o ozônio é gerado por uma descarga elétrica entre dois tubos metálicos posicionados de maneira concêntrica, recebendo a denominação de reator de ozônio. No espaço entre esses dois tubos há passagem de gás oxigênio ou ar atmosférico, com uma descarga elétrica de alta tensão entre esses dois eletrodos metálicos de aço inoxidável. Há na saída a geração da mistura oxigênio (O_2) + Ozônio (O_3). Quando esta tensão excede o potencial de ionização do material dielétrico, os elétrons livres são impulsionados a altas velocidades, rompendo por meio do impacto as duplas ligações das moléculas de oxigênio (O_2) presentes no ar. Após o processo de quebra, algumas moléculas se agrupam em três de oxigênio (O),

formando assim o ozônio O_3 , por se tratar de uma molécula instável, ou seja, um dos seus três átomos apresenta uma ligação eletrônica mais fraca, assim ocorre a dissociação, resultando na formação da molécula oxigênio (O_2) + o íon reagente O^- , ou seja, um gás com alto poder oxidante. Os geradores de ozônio apresentam maior produção de O_3 , quando alimentados por oxigênio puro. O reator de ozônio utilizado é composto por dois eletrodos de aço inoxidável e um dielétrico de vidro ou cerâmica em um arranjo de cilindros coaxiais. O eletrodo externo é submetido ao potencial de aterramento, seguido por um espaçamento por onde o ar/oxigênio escoar e o meio dielétrico em contato com o segundo eletrodo submetido à alta tensão (SCHIAVON, *et al.*, 2013).

O gerador de ozônio que utiliza o processo corona é constituído de dois eletrodos submetidos à elevada diferença de potencial (aproximadamente 10.000 V), gerando o ozônio pela passagem de ar ou oxigênio puro entre os dois eletrodos. Com isso ocorrem colisões que desassociam as moléculas de oxigênio, causando assim a desintegração do oxigênio e a formação do ozônio (KUNZ *et al.*, 1999).

3.7.3. Ação antimicrobiana do ozônio

O ozônio tem potencial antimicrobiano e atua inicialmente na membrana celular do microrganismo, sendo a superfície de sua célula o primeiro alvo a ser atingido. Sua ação antimicrobiana é decorrente da oxidação de glicolipídeos, glicoproteínas e aminoácidos da parede celular, alterando a permeabilidade e causando sua rápida deterioração. O ozônio ataca também grupos sulfidril de enzimas, ocasionando o colapso da atividade enzimática celular. Além disso, sua ação sobre o material nuclear dos microrganismos altera as bases púricas e pirimídicas dos ácidos nucléicos, como ocorre com alguns vírus, onde o ozônio destrói seu RNA além de alterar as cadeias polipeptídicas do capsídeo proteico (SILVA, *et al.*, 2011).

A grande diferença entre o ozônio de outros agentes biocidas é o seu mecanismo de destruição de micro-organismos (Figura 7), sendo que este age diretamente na parede da célula, causando sua ruptura e morte celular em

menor tempo e inviabilizando a reprodução dos micro-organismos após sua oxidação, diferentemente do cloro, por exemplo, que atua por difusão através da parede celular agindo sobre elementos vitais encontrados no interior da célula, como proteínas, enzimas, DNA e RNA (BOCCI, 2000).

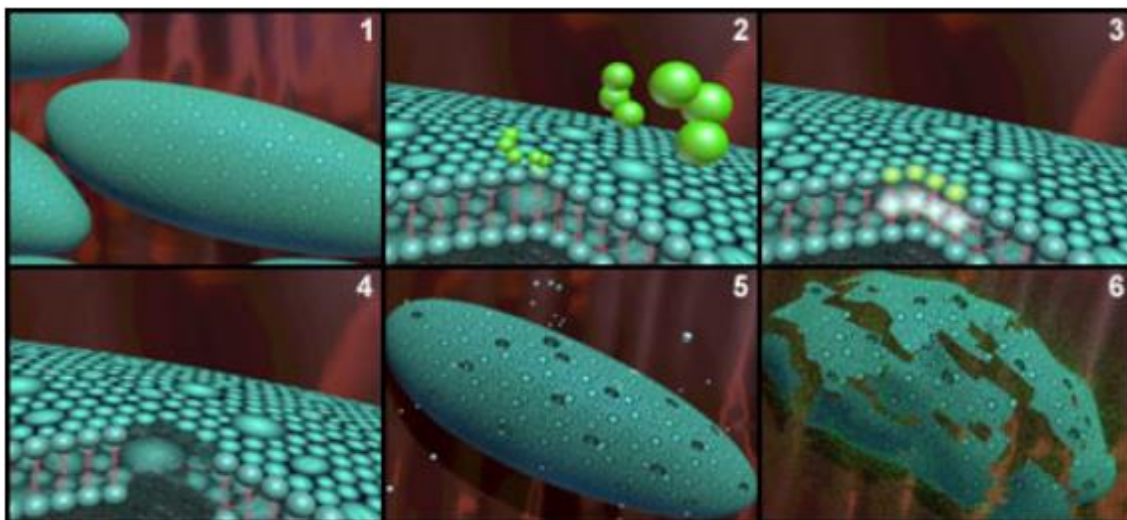


Figura 7: Mecanismo de ação do ozônio em bactérias. 1- Bactéria; 2 – Parede celular da bactéria sendo atacada pelo ozônio; 3 – Oxidação da parede celular; 4, 5 e 6 – Ruptura e destruição da bactéria. **Fonte:** Snatural (2020).

O ozônio é capaz de reagir com uma numerosa classe de compostos orgânicos, devido, principalmente, ao seu elevado potencial de oxidação ($E_0 = 2,07 \text{ V}$), superior ao de compostos reconhecidamente oxidantes, como H_2O_2 e o próprio cloro (PAULA, 2014).

A ozonização é uma técnica de oxidação química que promove a decomposição completa ou parcial de poluentes orgânicos de difícil degradação, tais poluentes orgânicos, quando sofrem desnaturação, formam CO_2 e H_2O ; e quando sofrem decomposição parcial são transformados em moléculas menores (menos complexas) (ROSADO, 2014).

Durante o processo de ozonização, a oxidação de compostos orgânicos e inorgânicos pode ocorrer através de uma reação direta (via ozônio molecular) ou indireta (via radical hidroxila) (KIM, *et al.*, 1999). Entretanto, na prática, pode haver uma contribuição simultânea destes dois mecanismos. Na reação direta, ocorre o ataque eletrofílico do ozônio molecular aos compostos que contêm ligações do tipo $\text{C}=\text{C}$, a alguns grupos constituídos por funcionais específicos

(OH, CH e OCH₃), e outros contendo átomos que apresentam densidade de carga negativa (N, P, O e S) (CHIATTONE *et al.*, 2008).

A reação indireta, por não ser seletiva, é capaz de promover um ataque aos compostos orgânicos 106 a 109 vezes mais rápido que outros agentes oxidantes. O radical hidroxila (\bullet OH) pode reagir através de três mecanismos: 1) abstração de hidrogênio, 2) transferência de elétrons e 3) adição de radicais. Processos de desinfecção ocorrem predominantemente via ozônio molecular, enquanto que processos de oxidação podem acontecer tanto por meio do ozônio molecular quanto via radical hidroxila (SOUSA *et al.*, 2011).

No ambiente aquático básico (pH > 9), o íon hidróxido (OH⁻) é o principal responsável pela decomposição, e a reação entre O₃ e OH⁻ desencadeia uma série de reações radicais que levam à formação de radicais hidroxila (MANTZAVINOS; PSILLKIS, 2004).

3.7.4. Toxicidade do ozônio

Trata-se de um gás que, para a sua utilização, demanda o uso de um protocolo de biossegurança. Caso seja utilizado fora desta situação, poderá acarretar sérios acidentes, resultando em danos à saúde. O grau de intoxicação humana irá depender do tempo de exposição e da concentração de ozônio (SOUSA *et al.*, 2011).

O ozônio inalado interage principalmente com células e fluidos que revestem as vias aéreas respiratórias, reagindo com componentes ricos em lipídios no fluido de revestimento pulmonar, assim como nas membranas celulares, resultado assim na indução do estresse oxidativo e na lesão das células epiteliais das vias aéreas (BROMBERG, 2016).

Embora o ozônio apresente características altamente tóxicas, por ele ser formado a partir de oxigênio puro, através de um processo endotérmico permitido por gradientes em alta tensão entre os eletrodos do equipamento, sua reação é reversível. Isto quer dizer que, o ozônio se decompõe espontaneamente voltando à sua forma original (oxigênio), de modo que em 40 minutos sob a temperatura de 20 °C, a concentração de ozônio é reduzida em

cerca de 50 %, e sob a temperatura de 30 °C o tempo reduz para 25 minutos, para decair os mesmos 50% de concentração. Tal característica diminui o risco ocupacional ao se trabalhar com o gás ozônio, o qual adicionalmente não emite resíduos tóxicos ao meio ambiente (BOCCI, 2005).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Tipo de pesquisa

Trata-se de uma pesquisa experimental, laboratorial e comparativa.

4.2. Local da pesquisa

O estudo foi realizado no Centro de Inovação, Tecnologia e Educação (CITÉ), sendo dividido em três etapas: para o desenvolvimento do equipamento para desinfecção de alto nível, utilizou-se o Laboratório de Apoio Mecânico, para a etapa de contaminação do colonoscópio, permitindo assim a formação de biofilme e posterior análise microbiológica, foi utilizado o Laboratório de Biotecnologia. A fase de limpeza e reprocessamento do modelo amostral de colonoscópio bem como os corpos amostrais (fragmentos de silicone), utilizou-se o Laboratório de Desinfecção e Esterilização.

4.3. Desenvolvimento do Sistema

O sistema (protótipo) foi desenvolvido, utilizando a ação hidrodinâmica da água ozonizada, para que ocorra a desinfecção de alto nível do colonoscópio (Figura 8). Foi concebido um reservatório principal (peça 2), utilizando um circuito hidrodinâmico em geometria sinuosa, para facilitar a dinâmica da água e remover a sujidade do colonoscópio (1), foi prevista também a presença das pás (peça 5) nos cantos deste tanque a fim de minimizar o efeito redemoinho, desta maneira haverá uma maior fluidodinâmica junto a superfície externa do colonoscópio. O acesso indicado pela peça (3) representa a entrada de água ozonizada a uma vazão pré-estabelecida, ao

longo do caminho que este fluido escoar, indicada pela seta de número (7) permite a remoção de sujidades depositadas sobre a superfície externa do colonoscópio.

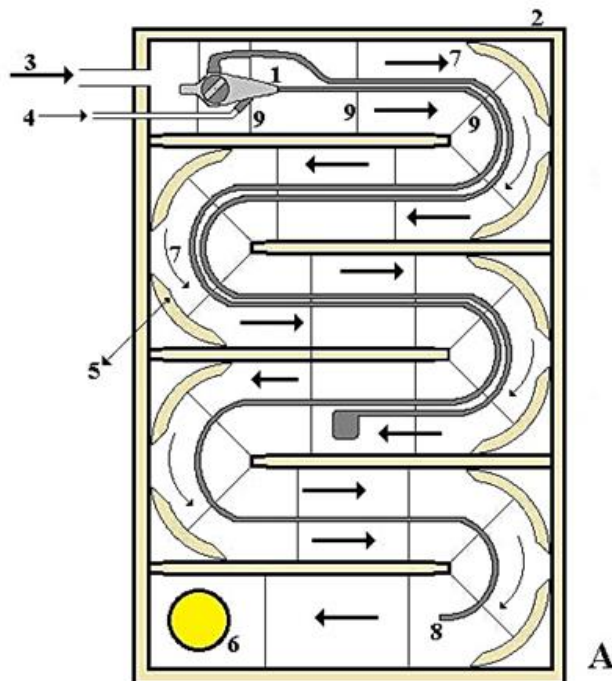


Figura 8: Vista superior representando o reservatório para a desinfecção do colonoscópio, bem como também o circuito hidrodinâmico de geometria sinuosa de posicionamento do colonoscópio para a melhor higienização. Neste tanque há a entrada de água ozonizada no sentido de manter um nível de fluido mínimo, no intuito de deixar o colonoscópio totalmente imerso: (1) Colonoscópio · (2) Reservatório principal · (3) Entrada de Água ozonizada bombeada pela bomba principal · (4) Entrada de Água ozonizada para o canal do colonoscópio · (5) Pás · (6) Drenagem da água ozonizada · (7) Circuito de fluxo de água · (8) Extremidade distal do colonoscópio · (9) Fios de aço inoxidável tracionados para sustentação do colonoscópio. **Fonte:** Autor Pesquisador

A inserção da água ozonizada no tanque principal, é realizada via bombas principal e secundária (peças 4 e 5 da Figura 9), com a drenagem interrompida (peça 6 da Figura 8), onde há a conexão de uma válvula de dois estágios (aberta/fechada, 13 da Figura 9). A água ozonizada atingirá um nível de altura no tanque principal, o suficiente de permitir que o colonoscópio fique totalmente imerso. Após isso, a válvula citada anteriormente será aberta, habilitando a drenagem da água, a vazão deste escoamento é controlada por

uma outra válvula (peça 12 da Figura 9) conectada em série com a válvula peça 13 da Figura 9, de maneira a manter o nível da água ozonizada estável, garantindo dessa forma a imersão total do colonoscópio, este é apoiado por um sistema de fios de aço inoxidável tracionados (peça 9 da Figura 8), a uma altura mínima acima do fundo do tanque principal, assim, a superfície de contato com o colonoscópio é mínima.

Na (Figura 8) há indicação da peça 4, que representa a entrada de água ozonizada especificamente no acesso junto ao canal de trabalho do colonoscópio, assim, está água ozonizada fluirá ao longo desse canal removendo a sujidade presente na parede interna do tubo de Teflon® (PTFE), este fluido escoará pela extremidade distal (item 8 da Figura 8) do colonoscópio.

A Figura 8, apresenta o diagrama de bloco indicando a funcionalidade do sistema para reprocessamento de colonoscópio. Esta etapa de desinfecção de alto nível deve ser realizada após o procedimento manual de lavagem utilizando o detergente enzimático. O sistema é composto pelo tanque principal (peça 2, Figura 8), onde o colonoscópio fica posicionado, e por onde escoar a água ozonizada, para que ocorra a desinfecção do equipamento; o tanque secundário (peça 3, Figura 9) é utilizado para armazenar a água ozonizada que abastece o sistema. O cilindro com oxigênio medicinal (peça 8, Figura 9), é acoplado a uma válvula mecânica reguladora de fluxo (peça 9) ajustada a uma vazão de 1/8 L/min., a qual está conectada à entrada do gerador de ozônio (acessório 7). Na saída deste equipamento há uma mistura dos gases de oxigênio (O_2) + ozônio (O_3), com a resultante de concentração de 62 mg/L. A saída do gerador de ozônio foi conectada às duas válvulas tipo Venturi (peça 6, Figura 9). A água foi injetada nas válvulas Venturi por meio de duas bombas centrífugas (peças 4 e 5, Figura 9), permitindo assim a mistura do gás ozônio com a água, e escoando a água ozonizada na entrada do tanque principal com capacidade de 30 L, e fluindo também água ozonizada junto ao canal do colonoscópio, incluindo também a parte externa do instrumento. Após a saída junto ao dreno, a água ozonizada retorna ao tanque secundário, fechando desta maneira o circuito hidráulico. Ao terminar o procedimento de

reprocessamento do colonoscópio, a água presente no reservatório secundário poderá ser descartada através do sistema de drenagem (item 17).

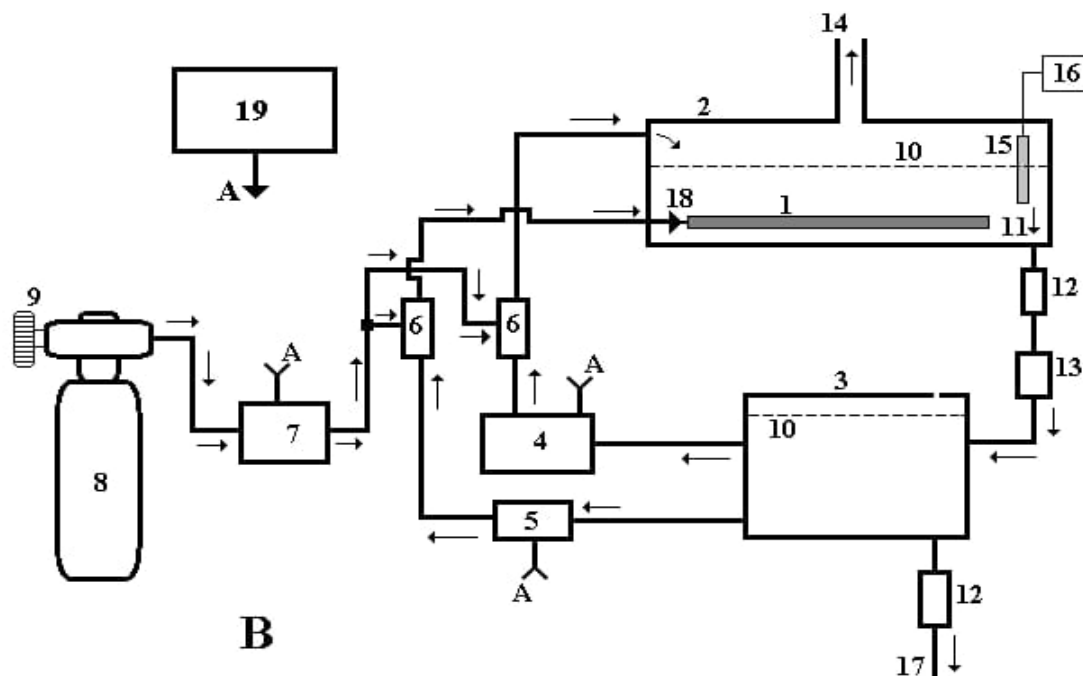


Figura 9: Diagrama esquemático mostrando os componentes e funcionamento do protótipo. (1) Colonoscópio · (2) Tanque principal · (3) Tanque secundário · (4) Bomba principal · (5) Bomba secundária · (6) Válvulas Venturi · (7) Gerador de Ozônio · (8) Cilindro de oxigênio · (9) Válvula reguladora de fluxo de gás · (10) Nível da água · (11) Dreno da água ozonizada · (12) Válvula reguladora de fluxo de água · (13) Válvula · (14) Descarte de ozônio processado · (15) Sensor de concentração de ozônio na água · (16) Medidor da concentração de ozônio na água · (17) Sistema descarte de água · (18) Entrada do canal para introduzir a água ozonizada · (19) Controle do circuito eletrônico. **Fonte:** Autor Pesquisador

Durante o processo de ozonização da água utilizando o sistema com válvulas Venturi, há a um excedente de gás ozônio, que se acumula junto ao reservatório principal. Foi fixada uma tampa junto a este tanque, com uma conexão utilizando mangueira de material polimérico flexível, em que a outra extremidade deste duto foi posicionada junto a um sistema de exaustão para o descarte do gás O_3 ao ambiente externo.

4.4. Montagem da réplica do colonoscópio

Afim de permitir os ensaios microbiológicos, foi construída uma réplica de colonoscópio, seguindo a referência da marca Fujinon modelo 2220-EC-250-HLS, que apresenta um comprimento de 1,9 m. A coleta de dados foi realizada no período de maio a outubro de 2020, no Laboratório de Desinfecção da CITÉ. Foram utilizados tubos de silicone como revestimento externo simulando uma situação com o colonoscópio acima citado. Com relação ao canal de trabalho do instrumento, foi adotado um tubo de politetrafluoretileno (PTFE) (Teflon®) como modelo amostral, pois, estes materiais são utilizados para a montagem dos colonoscópios originais (HANAI *et al.*, 2019, MARTONE; ONEDA, 2004).

Para a construção da réplica de um colonoscópio foi escolhida a marca do instrumento Fujinon, modelo 2220-EC-250-HL5, em que para representar a superfície externa deste endoscópio, foi utilizado o tubo de flexível de silicone com diâmetro externo de 10 mm (YANG, 2020). Internamente a este instrumento réplica foi utilizado um tubo flexível de Teflon® apresentando um diâmetro interno de 2,5 mm, o comprimento total deste colonoscópio réplica foi de 1,9 m (HANAI *et al.*, 2019, MARTONE; ONEDA, 2004).

Teflon® é uma marca comercial, registrada pela DuPont®, e corresponde ao polímero denominado politetrafluoretileno (PTFE), descoberto por Roy J. Plunkett em 1938. É um produto similar ao polietileno, no qual os átomos de hidrogênio foram substituídos pelos átomos de flúor. O PTFE é uma substância praticamente inerte, que costuma não reagir com outras substâncias, é impermeável, tem baixa toxicidade, baixo coeficiente de atrito, baixa aderência, e por ser bem aceito pelo corpo humano, é usado na elaboração de próteses (GRAZIANO; PEREIRA; KODA, 2016). O PTFE possui superfície hidrofóbica, característica esta que origina forças de interação da superfície com os microrganismos, dificultando a sua adesão (VICKERY, PAJKOS e COSSART, 2004).

4.5. Avaliação microbiológica

No intuito de verificar a eficácia de cada etapa de procedimento em relação ao reprocessamento do colonoscópio, foi adotada a avaliação microbiológica conforme é possível observar nas Figuras 10 e 11. Escolheu-se realizar uma contaminação do colonoscópio construído, utilizando o microrganismo *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (CCCD – S003). Para tal, foram preparadas suspensões microbianas, cuja as concentrações foram ajustadas a partir da turbidez, tendo como referência a escala Nefelométrica de *Mc Farland* N° 3, que corresponde a 9×10^8 UFC/mL (Cronmiller *et al.*, 1999). A contaminação do colonoscópio foi realizada a partir da imersão do colonoscópio réplica na suspensão microbiana, em um tubo de vidro longo, posicionado verticalmente, durante 30 minutos, com a finalidade de obter uma contaminação homogênea. Com relação ao canal de trabalho, foram injetados com o auxílio de uma seringa estéril 10 mL da suspensão microbiana.

Após o procedimento de contaminação o endoscópio foi removido do tubo retirando a sujidade em excesso utilizando papel toalha, na sequência ele foi imerso em uma solução contendo detergente enzimático (0,2%) durante 15 minutos. Posteriormente, o colonoscópio construído passou por três etapas de enxágue com água estéril (destilada e autoclavada) em um terceiro tubo.

Na sequência, o colonoscópio adaptado foi submetido ao protocolo de desinfecção usando o protótipo desenvolvido, baseado no modelo fluidodinâmico com água ozonizada (RP_OZO). O tempo necessário para desinfecção, empregando-se o dispositivo, desenvolvido foi de 15 minutos. Após este período foi realizada a análise dos fragmentos de silicone, este também ficaram imersos no caldo com as bactérias, para a posterior higienização e teste microbiológico. Foi realizado um protocolo idêntico de reprocessamento, usando o Glutaraldeído 2% (RP_GLU) como desinfetante, no lugar do ozônio.

Especificamente após as etapas de contaminação e reprocessamento, foi realizada a análise microbiológica, por meio da fricção com o Swab estéril na extremidade distal do colonoscópio. Em seguida, esta sonda foi transferida

na forma também de esfregaço ao meio de cultura *Mueller Hinton Ágar*. preparado em placa de Petri. Na sequência, este nutriente microbiológico foi armazenado em estufa ajustada a uma temperatura de 37°C, para posterior verificação de detecção ou não de presença bacteriana, após 24 e 48 horas. O mesmo procedimento citado anteriormente foi repetido no caso da sondagem do Swab estéril junto a extremidade proximal do colonoscópio.

Já para a análise de presença microbiológica junto ao canal do endoscópio construído, foi injetada água estéril (10 ml) na extremidade proximal do instrumento. Em seguida, este líquido foi coletado na outra extremidade (distal) utilizando uma seringa estéril, onde posteriormente foram depositadas 3 gotas (0,15mL) no meio de cultura *Mueller Hinton Ágar*, sendo em seguida transferido para a estufa a 37°C, para as posteriores verificações em 24 e 48 horas.

Na segunda etapa, pertinente ao reprocessamento do colonoscópio construído, utilizando a água ozonizada fluído dinâmica junto protótipo desenvolvido, após este procedimento de desinfecção de alto nível, todos os procedimentos de avaliação microbiológica mencionados anteriormente foram repetidos em triplicata. Os resultados serão indicados na forma de média e grau de erro estatístico, em que este último foi calculado em função da divisão do desvio padrão pela raiz quadrada de n (3), multiplicado por um número “score”, considerando um grau de confiabilidade de 95%. Foi realizado um protocolo idêntico de reprocessamento, usando o Glutaraldeído 2% (RP_GLU) como desinfetante, no lugar do ozônio.

Foi realizada também uma análise quantitativa das amostras de água provenientes do canal de sucção adaptado. Foi empregado um luminômetro para quantificar por bioluminescência a presença de ATP – Adenosine Triphosphate residual nas amostras de água (AquaSnap Total, Hygiene, CA, USA), de acordo com as orientações do fabricante, este instrumento disponibiliza uma medida quantitativa, diretamente proporcional à população microbiana, mostrando um valor denominado pelo fabricante como U.R.L. (Unidade Relativa de Luminescência), Figura 10.

Para a análise quantitativa da superfície externa proximal e distal do colonoscópio adaptado, a área de coleta das amostras foi previamente determinada (1 cm x 1 cm). Foi empregado um luminômetro para quantificar por bioluminescência a presença ATP na superfície (UltraSnap, Hygiena, CA, USA) externa do colonoscópio de acordo com as orientações do fabricante.

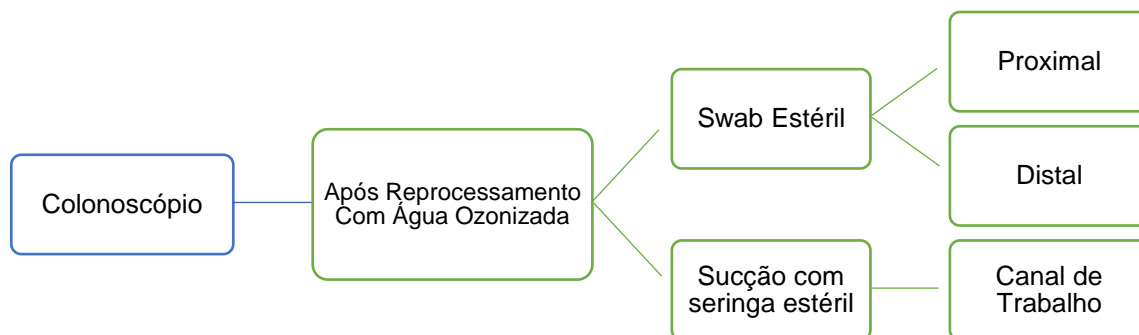


Figura 10: Fluxograma dos pontos de coleta de amostras microbiológicas do modelo amostral do colonoscópio. **Fonte:** Autor Pesquisador.

Conforme demonstrado na Figura 11, foram separados 9 fragmentos cilíndricos de (0.5 x 0.5)cm de borracha de silicone atóxica (“silicone rubber”) que passaram previamente pelo processo de esterilização via autoclave para eliminação de microrganismos. Após esse procedimento, já na capela previamente preparada, foram separados 3 fragmentos sem contaminação bacteriana e foram armazenados em meio de cultura líquido *Muller Hinton Broth*, para posterior armazenamento em estufa a 37°C, e pós verificação com 24 e 48 horas de prazo.

Posteriormente os 6 fragmentos restantes foram imersos na suspensão microbiana contendo *S. aureus* no volume de 20 mL. Todos eles, posteriormente, passaram pelo procedimento de remoção do excesso de sujidades, utilizando papel toalha, três destes, considerados como controle positivo, foram armazenados em meio líquido rico em nutrientes para a bactéria já citada, ou seja, em meio líquido contendo *Muller Hinton Broth*.

Já os outros 3 segmentos contaminados foram limpos removendo-se o excedente com papel toalha, e depois sendo submetidos a lavagem com

detergente enzimático (0,2%), deixando-os imersos nesta solução por 15 minutos (20mL). Posteriormente, eles passaram por três enxágues 1 minuto cada usando água estéril 20 mL. Após este procedimento, foi retirado o excedente de água de todos eles, e os três segmentos foram submetidos ao reprocessamento usando água ozonizada fluído dinâmica por 15 minutos, e finalmente imergindo-os isoladamente junto ao caldo contendo *Muller Hinton Broth*.

Todos estes tubos com os nove segmentos foram posteriormente armazenados em estufa a uma temperatura de 37°C, e, posteriormente, verificados após 24 e 48 horas. Neste sentido, as mostras consideradas negativas foram aquelas que não apresentaram turbidez após 24 e 48 horas de incubação, enquanto que as positivas foram as que apresentaram turbidez, indicando assim crescimento microbiano.

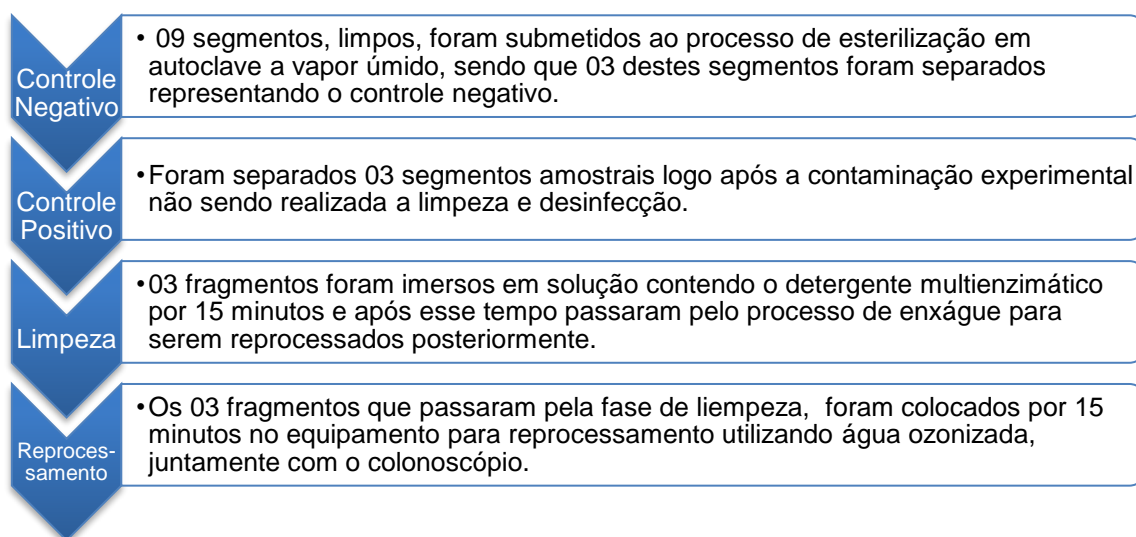


Figura 11: Fluxograma com as etapas de coleta dos fragmentos amostrais. **Fonte:** Autor Pesquisador

4.6. Teste Microbiológicos e de análise por Bioluminescência

Na última década, considerando a velocidade, objetividade, comercialização, fornecimento de dados quantitativos, capacidade de fornecer feedback imediato sobre os resultados e capacidade de analisar dados, o teste de bioluminescência de ATP está sendo muito utilizado, pois, tem melhorado a a prática de limpeza e desinfecção em ambientes hospitalares. A técnica de

bioluminescência do trifosfato de adenosina (ATP), segundo Contreras (2003), também é conhecida como validação de limpeza de superfície ou sistema "lightning". Este método mede o conteúdo de ATP orgânico em uma amostra. Com um cotonete especial, a matéria orgânica presente na superfície é coletada e transferida para um dispositivo de detecção composto por um complexo enzima-substrato (luciferina-luciferase). A reação formada pelo contato da amostra com o complexo libera uma luz cuja intensidade é medida por um luminômetro portátil e expressa em URL, assim o número de URLs é proporcional ao número de ATP, e o número de ATP é proporcional à densidade da matéria orgânica (MULVEY, *et al.*, 2011).

4.6.1. Ultrasnap (Hygiena, USA)

Haste flexível com algodão estéril na extremidade a ser utilizado para teste de ATP em superfícies. Armazenado de 2 a 8°C, conforme recomendação do fabricante. Após coleta da amostra nas superfícies externas dos endoscópios, a extremidade superior do dispositivo foi, então, flexionada seguidamente para lados opostos de modo a quebrar o lacre, sendo que o dispositivo foi agitado em movimentos circulares, segurando o mesmo verticalmente durante todo o processo. Por fim, o dispositivo foi inserido no System Sure Plus para verificação de ATP medido em URL.

Foram coletadas amostras da superfície externa proximal e distal do colonoscópio adaptado, a área de coleta das amostras foi previamente determinada (1 cm x 1 cm). Foi realizada uma análise quantitativa das amostras da superfície externa proximal e distal do colonoscópio adaptado, para tal foi empregado um luminômetro para quantificar por bioluminescência a presença ATP na superfície (UltraSnap, Hygiena, CA, USA) externa do colonoscópio de acordo com as orientações do fabricante.

4.6.2. Aquasnap Total - Hygiena, USA.

Instrumento utilizado para verificação da presença de ATP, de procedência orgânica ou microbiana, em amostras de água do flush dos canais de endoscópios. De acordo com as recomendações do fabricante, deve-se armazenar de 2 a 8°C. Para coletar a amostra, primeiro é necessário colocar o dispositivo em temperatura ambiente de 10 a 20 minutos, em seguida mergulhar na amostra por 5 segundos após ligar o dispositivo e conectar de volta ao tubo de ensaio. Em seguida, a extremidade superior do Aquasnap foi dobrada para os lados opostos para quebrar o selo e o dispositivo foi agitado, onde, por fim, o dispositivo foi inserido no instrumento de marca System Sure Plus para verificação de ATP medido em relative light unit (RLU) ou unidades relativas de luz (URL).

A coleta de amostras de água do canal de trabalho foi realizada após injeção e coleta de 10 mL de água destilada autoclavada com o auxílio de uma seringa estéril no interior do canal do colonoscópio adaptado após a contaminação (Antes_RP_Canal); após a ozonização (RP_OZO) e após o glutaraldeído 2% (RP_GLU).

4.7. Dosagem de ozônio aplicado

Entre os diversos tipos de endoscópio em geral, o que apresenta maior carga microbiana de contaminação, é o colonoscópio, de fato, por ser um instrumento que acessa o intestino humano, resulta numa quantificação populacional bacteriana extremamente elevada. Neste sentido foi realizado durante o desenvolvimento do protótipo, uma medida da expectativa de volume de biofilme, que poderia ficar depositado nas superfícies do colonoscópio, para isso, preparou-se um caldo de cultura com bactérias de *Staphylococcus aureus*, contendo uma concentração populacional de 10^8 /ml dentro de um tubo de vidro com diâmetro interno de 19 mm, fez-se a medição do volume de biofilme depositado no instrumento réplica construído, verificando-se os níveis

do caldo antes e após o mergulho do colonoscópio (1,5m de comprimento) no tubo de vidro, realizando-se este procedimento 10 vezes.

5. RESULTADOS

Com relação aos parâmetros do protótipo desenvolvido, foi verificado que a vazão da bomba principal que injeta água ozonizada na entrada do reservatório que aloja o colonoscópio, apresentou valor de 4 L/Minuto. Já com relação a bomba secundária que injeta água ozonizada na entrada do canal na extremidade proximal do endoscópio, apresentou valor de 0,470 L/Minuto. Utilizando a equação de Reynolds como citado a seguir Flourey *et al.*, (2004), que permite verificar o comportamento do escoamento da água dentro do tubo do canal do colonoscópio, assim, se este duto de PTFE (Teflon®) tem o diâmetro interno de 2,5 mm, a velocidade média de escoamento calculada apresentou valor de 1,59 m/s, a densidade da água valendo 1000Kg/m³, e a viscosidade também da água sendo 1,003.10⁻³ Pa.s, o número de Reynolds resultou no valor de 3.963, indicando desta forma um regime de escoamento turbulento conforme mostra a Equação 1.

- Densidade de fluído ρ (Kg.m⁻³)
- Velocidade média v (m/s)
- Diâmetro de tubo D (m)
- A viscosidade do fluído μ (Pa.s)

Utilizando essas quatro variáveis podemos obter um número adimensional conhecido como número de Reynolds. A partir desse número podemos determinar se o escoamento tem característica laminar ou turbulenta. Se o número de Reynolds for menor que 2.000 o escoamento será laminar; porém, se Reynolds estiver entre 2.000 a 3.000, o escoamento será laminar de transição, já se for maior que 3.000, o escoamento passa a ser turbulento (FLOURY *et al.*, 2004).

$$R_e = \frac{\rho \cdot v \cdot D}{\mu}$$

$$R_e = \frac{1000 \times 1,59 \times 2,5 \cdot 10^{-3}}{1,003 \cdot 10^{-3}}$$

$$R_e = 3963$$

Equação 1: Cálculo de Reynolds. **Fonte:** FLOURY *et al.*, 2004.

O nível de água presente no reservatório principal onde fica alojado o colonoscópio apresentou valor de 10 cm de altura, garantindo desta maneira a total imersão desta réplica, mesmo ele sendo suportado por um arranjo de fios de aço inoxidável tracionados.

A Figura 12 a seguir apresenta a curva de crescimento da concentração de ozônio dissolvido em água proveniente da rede pública, utilizando água não filtrada. O processo de ozonização utilizou válvulas Venturi. Após 25 minutos de ozonização, considerando um volume de água de 25 L, resultou num valor de concentração de 0,67 mg/L (temperatura 25 °C). Vale ressaltar que os pontos obtidos experimentalmente, permitiram a obtenção de uma curva média, optando por um modelo polinomial quadrático, pois, considerando o índice de correlação obtido, resultou numa aproximação expressiva dos pontos.

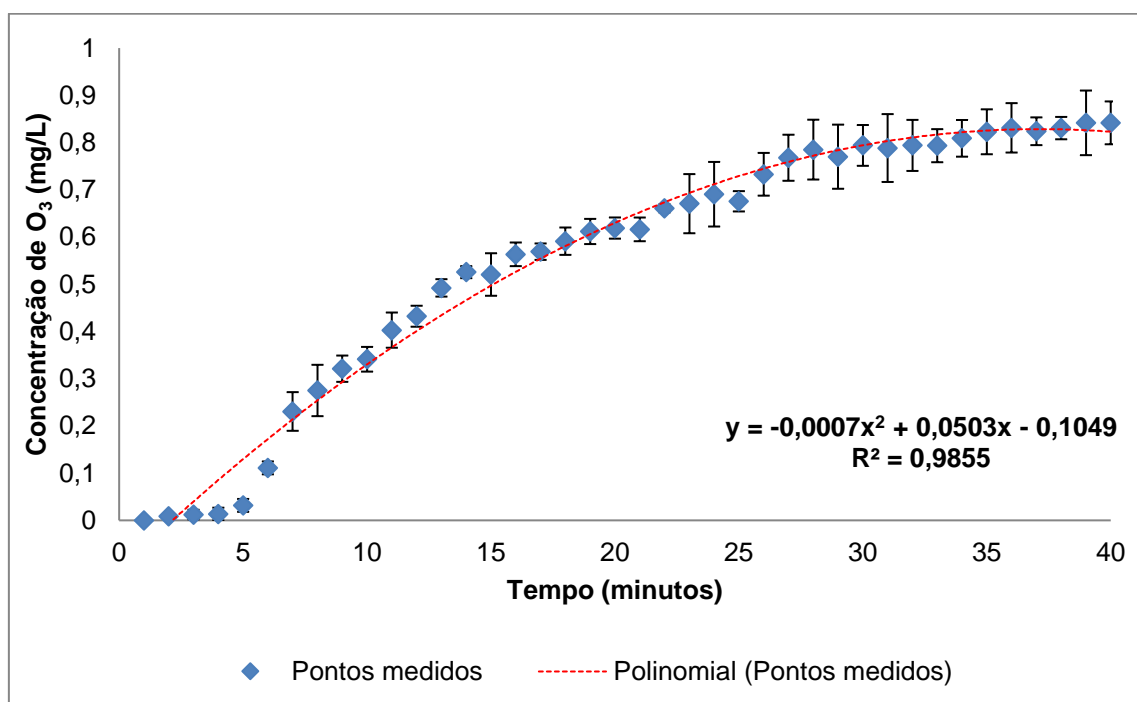


Figura 12: Concentração de ozônio ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) em água proveniente direto da rede pública versus tempo (minutos) utilizando o modelo hidrodinâmico do protótipo desenvolvido. **Fonte:** Autor Pesquisador.

A Figura 13 apresenta a curva de crescimento da concentração de ozônio diluído em água da rede pública, e posteriormente filtrada, sendo que o processo de ozonização foi utilizado pelo sistema usando válvulas Venturi, de

fato, após 25 minutos de ozonização considerando um volume de água filtrada de 25 L, resultou num valor de concentração de 0,8 mg/L, vale ressaltar de que há uma equação matemática que representa a curva medida experimentalmente, pois, considerando o índice de correlação indicado, resulta de que existe um grande aproximação dos pontos medidos.

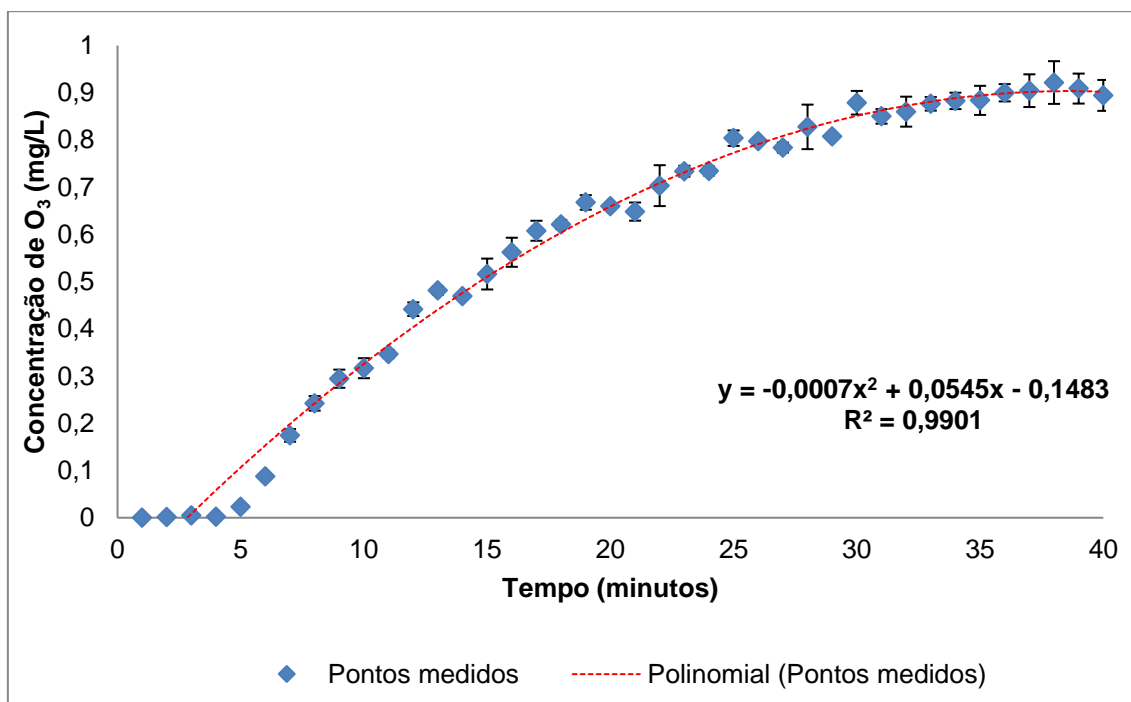


Figura 13: Concentração de ozônio (mg.L⁻¹) em água filtrada versus tempo (minutos) utilizando o modelo hidrodinâmico do protótipo desenvolvido. **Fonte:** Autor Pesquisador.

A Figura 14 apresenta a curva de crescimento da concentração de ozônio diluído em água da rede pública, e posteriormente filtrada, durante a efetuação do protocolo de desinfecção, já com o modelo amostral de colonoscópio imerso na água previamente ozonizada, resultou num valor de concentração de 0,91 mg/L. Vale ressaltar que o colonoscópio ficou imerso por 15 minutos na água que estava previamente ozonizada.

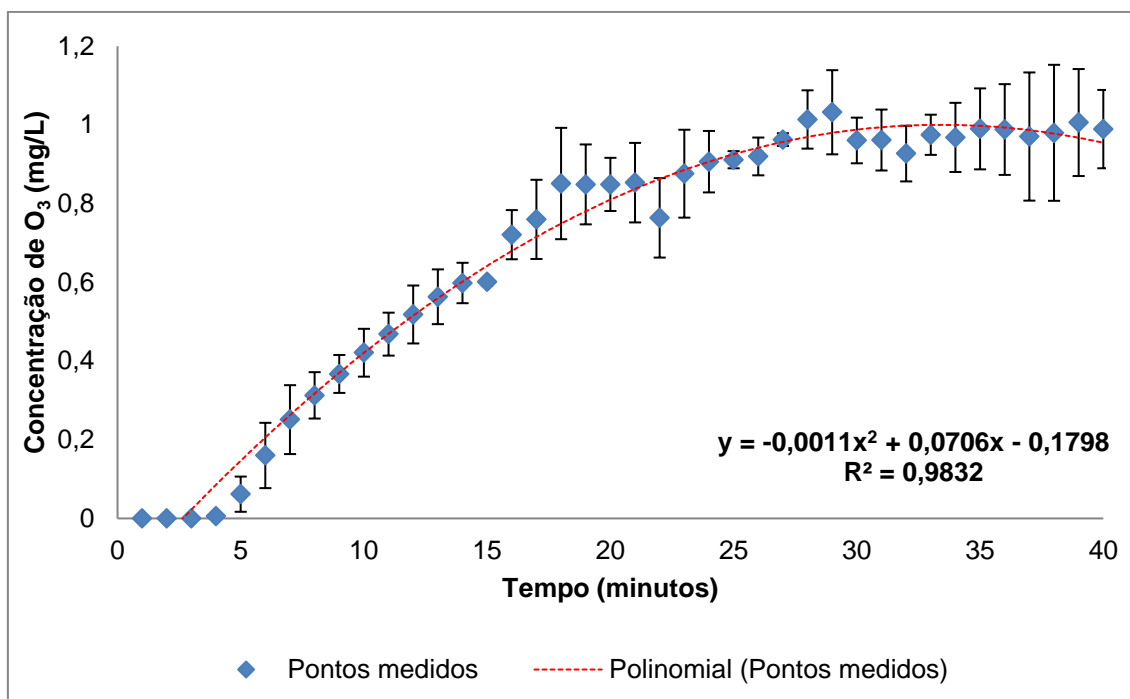


Figura 14: Concentração de ozônio (mg.L⁻¹) versus tempo (minutos) em água filtrada a partir do protótipo desenvolvido, nesta condição foi realizado de início o processo de ozonização e após o minuto 25 houve a imersão do colonoscópio para a desinfecção após a primeira etapa de limpeza. **Fonte:** Autor Pesquisador

A Tabela 3 apresenta os dados referentes a análise de turbidez do meio líquido (*Mueller Hinton*), contendo os fragmentos de silicone, após as diferentes fases do protocolo de desinfecção do colonoscópio adaptado. De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que não houve crescimento microbiano nos fragmentos de silicone que foram inoculados nos tubos com meio líquido antes da contaminação experimental (Antes CE). Todas as amostras que foram coletadas após a contaminação experimental (Depois CE) apresentaram turbidez. Estes resultados são coerentes, porque não havia sido empregado nenhum procedimento de limpeza ou desinfecção. Em contrapartida, as amostras que passaram pelo processo de desinfecção com Ozônio, não apresentaram turbidez, 24 e 48 horas após a inoculação, indicando assim, ausência de crescimento microbiano. Resultados semelhantes obtidos após a ozonização foram observados com o Glutaraldeído 2%.

Tabela 3: Determinação da presença ou ausência de crescimento microbiano (análise microbiológica qualitativa) das superfícies externas proximal e distal do colonoscópio adaptado.

Grupos	Proximal		Distal	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
Antes do RP (n=12)	Positivo (12/12)	Positivo (12/12)	Positivo (12/12)	Positivo (12/12)
RP_GLU (n=12)	Negativo (12/12)	Negativo (12/12)	Negativo (12/12)	Negativo (12/12)
RP_OZO (n=12)	Negativo (12/12)	Negativo (12/12)	Negativo (12/12)	Negativo (12/12)

Antes do RP = Antes do Reprocessamento; RP_GLU = Reprocessamento com Glutaraldeído; RP_OZO = Reprocessamento com Ozônio; Positivo = número de amostras com crescimento microbiano / total de 12 amostras; Negativo = número de amostras sem crescimento microbiano / total de 12 amostras.

A Tabela 4 apresenta os dados referentes a determinação de ATP residual usando a técnica de bioluminescência, com o intuito de avaliar a eficiência das técnicas de reprocessamento empregadas. Os dados demonstram que a região distal é mais contaminada que a proximal, sendo que a ozonização e o glutaraldeído 2% foram eficientes no processo de desinfecção do colonoscópio construído.

Tabela 4: Determinação de ATP (trifosfato de adenosina) pela técnica de Bioluminescência das superfícies externa proximal e distal do colonoscópio adaptado.

Grupos	Proximal (URL/cm ²)	Distal (URL/cm ²)	Proximal (UFC/cm ²)	Distal (UFC/cm ²)
Antes do RP do Colonoscópio	1268 (±158)	1584 (±86)	1.3 x 10 ⁶	1.6 x 10 ⁶
RP_GLU	--	--	--	--
RP_OZO	--	--	--	--

Antes do RP o Colonoscópio = Antes de reprocessar o canal; RP_GLU = Reprocessamento com Glutaraldeído; RP_OZO = Reprocessamento com Ozônio; URL = Unidades Relativas de luz; UFC = Unidades Formadoras de Colônias; -- não detectado.

A Figura 15 apresenta os dados em log de redução da carga microbiana da superfície proximal e distal do colonoscópio construído, indicando que as duas técnicas de reprocessamento apresentaram redução equivalentes.

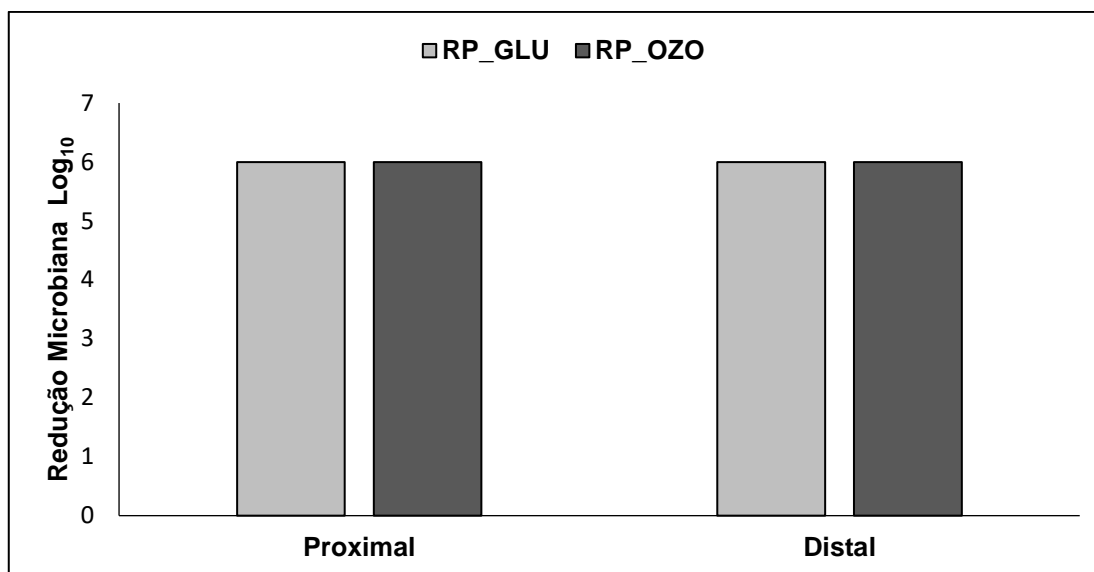


Figura 15: Dados de redução logarítmica quantitativa da bactéria *Staphylococcus aureus*, a partir da contaminação do colonoscópio em caldo microbiano contendo 9×10^8 UFC/ml, as análises foram realizadas nas extremidades distal e proximal do colonoscópio, os valores indicados abrangem as etapas de desinfecção considerando o detergente enzimático combinado com uma das fases que são o glutaraldeído ou a água ozonizada. As indicações RP_GLU e RP_OZO representam respectivamente Reprocessamento e Ozônio.

A Tabela 5 avalia a contaminação do canal de trabalho. A análise foi realizada através da coleta de água do local. De acordo com os dados apresentados, 100% das amostras de água apresentaram crescimento microbiano após a contaminação experimental e após o detergente enzimático. No entanto, após a ozonização ou após o Glutaraldeído 2%, não houve crescimento em 100% das amostras.

Tabela 5: Determinação da presença ou ausência de crescimento microbiano (análise microbiológica qualitativa) de amostras de água do canal de trabalho do colonoscópio adaptado

Grupos	Proximal		Distal	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
Antes de RP (n=12)	Positivo (12/12)	Positivo (12/12)	Positivo (12/12)	Positivo (12/12)
RP_GLU (n=12)	Negativo (12/12)	Negativo (12/12)	Negativo (12/12)	Negativo (12/12)
RP_OZO (n=12)	Negativo (12/12)	Negativo (12/12)	Negativo (12/12)	Negativo (12/12)

Antes de RP do canal = Antes de reprocessar o canal; RP_GLU = Reprocessamento com Glutaraldeído; RP_OZO = Reprocessamento com Ozônio; Positivo = número de amostras com crescimento microbiano / total de 12 amostras; Negativo = número de amostras sem crescimento microbiano / total de 12 amostras.

A Tabela 6 apresenta os dados relativos à quantificação de ATP, determinado a partir de técnica de bioluminescência, das amostras de água provenientes do canal de trabalho. Os resultados demonstram a contaminação experimental eficiente do canal a partir da análise da água. Após os procedimentos de reprocessamento com ozônio e glutaraldeído 2% verificou-se que 100% das amostras foram negativas, não foi detectada leitura indicativa de ATP, demonstrando a eficiência das técnicas no processamento do material.

Tabela 6: Determinação de ATP (Adenosina trifosfato) pela técnica de Bioluminescência de amostras de água do canal de trabalho do equipamento

Grupos experimentais	Água do Canal (URL/mL)	Água do Canal (UFC/mL)
Antes de RP (n=12)	3716 (\pm 742)	3.7×10^7
RP_GLU (n=12)	--	--
RP_OZO (n=12)	--	--

Média (\pm desvio padrão); Antes de RP o canal = Antes de reprocessar o canal; RP_GLU = Reprocessamento com Glutaraldeído; RP_OZO = Reprocessamento com Ozônio; URL = Unidades de luz relativa; UFC = Unidades Formadoras de Colônias; -- não detectado.

A Figura 16 apresenta os dados em log de redução da carga microbiana no canal de trabalho do colonoscópio adaptado, estes indicam que as a ozonização e o glutaraldeído 2% apresentaram redução equivalentes (7 Logs).

Ao realizar verificação do volume de biofilme, chegou-se à medição de $1,4 \pm 0,2$ ml. Em termos de engenharia na área da utilização do ozônio como controle microbiana, é importante considerar a estimativa de um parâmetro denominado Dosagem de Ozônio Aplicada (Applied Ozone Dosage), que culminou num valor de 83 g.L^{-1} .

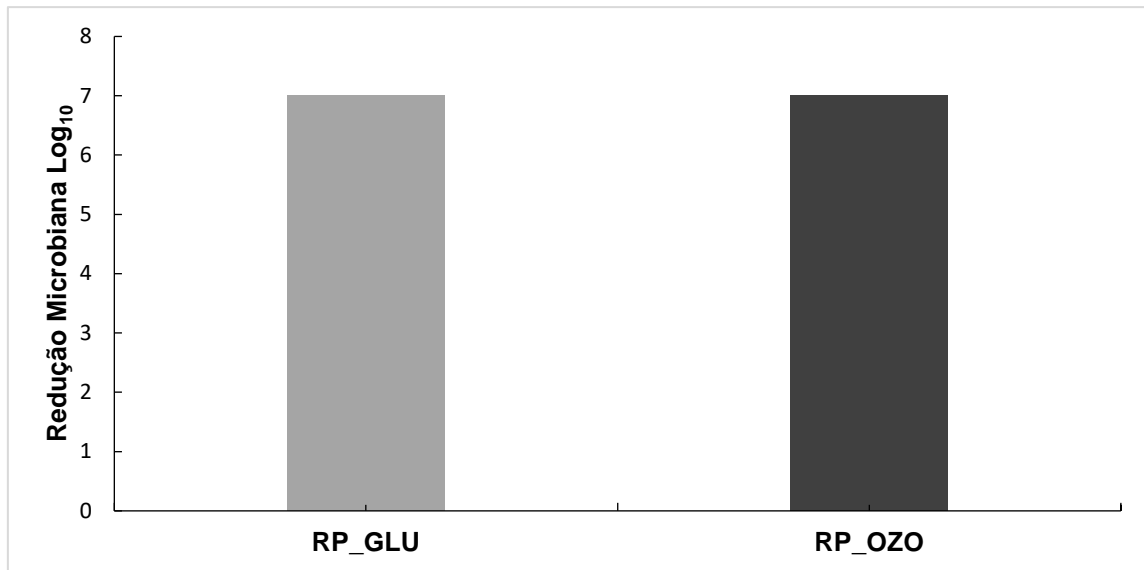


Figura 16: Dados de redução logarítmica quantitativa da bactéria *Staphylococcus aureus*, a partir da contaminação do colonoscópio em caldo microbiano contendo 9×10^8 UFC/ml, foi injetada água estéril no canal via extremidade proximal do colonoscópio, e coletada na outra extremidade distal, os valores indicados abrangem as etapas de desinfecção considerando o detergente enzimático combinado com uma das fases que são o glutaraldeído ou a água ozonizada.

6. DISCUSSÃO

Ao pesquisar os trabalhos que abordam a desinfecção de endoscópios usando água ozonizada, verificou-se um número limitado de publicações, encontrou-se apenas um artigo científico relatando o uso da água ozonizada para a desinfecção de um gastroendoscópios (MARSON *et al.*, 2016). Neste trabalho há produção da água ozonizada de maneira hidrostática, e ainda usando uma metodologia convencional de ozonização da água, atuando com uma técnica de transferência de ozônio à água, utilizando uma peça porosa (difusor), a fim de produzir bolhas e incorporar ozônio no fluido.

Durante o desenvolvimento do protótipo de desinfecção do endoscópio, foi construída uma réplica de colonoscópio, considerando como referência a marca Fujinon, modelo 2220 EC 250 HLS seguindo as especificações em termos de utilização dos materiais, conforme citações das patentes registradas (Hosono, 1982; Abe *et al.*, 2003, Murphy and Presser 2005, Furumi 2005). Utilizar um colonoscópio proveniente de ambiente clínico poderia acarretar na interferência do cotidiano no atendimento aos pacientes.

No presente estudo foi realizado o reprocessamento a partir do tempo zero de ozonização da água do sistema, ou seja, o endoscópio após lavagem com detergente, foi colocado imerso na água do tanque principal, e a partir deste instante, iniciou-se a ozonização. Entretanto, foi constatado que o método não foi suficiente para realizar uma descontaminação completa do colonoscópio. Também se verificou contaminação em todas as vias hidráulicas do sistema desenvolvido, visto que, o tempo padrão estabelecido de 15 minutos foi curto para que se alcançasse uma alta concentração de ozônio na água, para realizar a desinfecção do colonoscópio. É importante salientar que após este procedimento o equipamento passou por desinfecção utilizando água ozonizada com concentração de ozônio de 930 mg.L⁻¹.min, a fim de eliminar uma possível contaminação do sistema (bombas, mangueiras, válvulas Venturi, tanque principal e secundário, etc.) antes do procedimento que foi realizado posteriormente.

Há de se considerar que pode ocorrer contaminação no equipamento de reprocessamento, principalmente na parte de conexão entre a reprocessadora e o endoscópio, sendo necessário definir um protocolo de desinfecção das máquinas e a monitoração da água utilizada (IDO *et al.*, 1996). Como em todos os testes microbiológicos, após 15 minutos de desinfecção do colonoscópio, mostrou a não presença de nenhuma UFC. Após a retirada do instrumento, continuou-se ainda por 5 minutos o processo de ozonização da água, desta maneira, tem-se a expectativa de que, mesmo se algum microrganismo sobreviva mantendo-se viável logo após a remoção do colonoscópio, a própria ação do ozônio na água garantirá a inativação dos microrganismos sobreviventes no equipamento.

A desinfecção do canal do colonoscópio via ação hidrodinâmica da água ozonizada, apresentou valores para o cálculo do número de Reynolds, e evidenciou um regime turbulento atuando na parede interna do tubo de PTFE. Esta movimentação não laminar da água tende a favorecer a geração do efeito cavitação (White, 1991; Li *et al.*, 2006), inviabilizando desta maneira a formação de biofilme com o alojamento de microrganismos. Neves *et al.* (2016), apontam a erradicação do desenvolvimento de biofilme como prioridade nos procedimentos de desinfecção nos canais dos endoscópios.

Em geral, após o procedimento clínico ter sido realizado, o endoscópio é submetido a uma lavagem manual com água filtrada e detergente enzimático (Beilenhoff *et al.*, 2008). O tempo que este procedimento ocorre chega a aproximadamente 25 minutos. Enquanto isso, para o protótipo de desinfecção desenvolvido, este já irá atuando de maneira a ir ozonizando a água e assim, após o procedimento de lavagem com o detergente enzimático, o colonoscópio poderá ser submergido na água já ozonizada, a qual demandará um tempo de 15 minutos a fim de constatar a não presença microbiana, completando desta maneira a etapa final de desinfecção.

Diferentes agentes químicos (Glutaraldeído, Ácido Peracético, Ortoftalaldeído 0,55%) são amplamente utilizados para a desinfecção de alto nível de diversos materiais como: endoscópios, instrumentos médicos e odontológicos. Há também materiais de plástico e borracha, que não podem

ser esterilizados em altas temperaturas e pressão. Conforme alguns estudos relataram, esses agentes químicos possuem atividade bactericida com o tempo de atuação relativamente longo, em média de 20 a 40 minutos com pH controlado (PETERSEN, 1999).

Em contrapartida, esses agentes químicos podem causar irritação e sensibilidade a pele e mucosas em condições de trabalho desfavoráveis (Rutala, 1996). Outra desvantagem a ser ressaltada é que estes agentes químicos demandam controle de estoque, uso e descarte segundo legislação vigente. A principal vantagem do uso da água ozonizada, na desinfecção de alto nível do colonoscópio, está no fato de se obter um perfil de desinfecção semelhante à forma convencional, ou seja, realmente produz a inativação dos microrganismos presentes. Entretanto, a água ozonizada não requer um controle diário estrito do pH como por exemplo o Ácido Peracético; os agentes químicos convencionais necessitam de descarte adequado, sendo que estes devem ser acondicionado em recipientes próprios e recolhidos pelo fornecedor do produto e na questão do tempo de reprocessamento.

Todas as referências consultadas (Rutala *et al.*, 2010; Costa *et al.*, 2012; Bashaw, 2016), relataram que o procedimento geral de desinfecção do endoscópio, entre eles inclui-se o colonoscópio, é dividida em duas etapas. A primeira é estabelecida com a lavagem usando água, de preferência filtrada, associada ao detergente enzimático. A segunda e última fase específica como desinfecção de alto nível, que, no método convencional, deve ficar submerso de 20 a 40 minutos com agentes químicos, no caso da água ozonizada 15 minutos foram suficientes para obter o mesmo nível de desinfecção (sem considerar o tempo da imersão no detergente enzimático). De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, quando se utilizou água ozonizada ($930 \text{ mg.L}^{-1}.\text{min}$), houve a redução de 99,9999% dos micro-organismos viáveis nas condições utilizadas. Assim, o ozônio foi capaz de desinfetar os endoscópios de maneira eficiente. Cabe salientar que a dose de ozônio utilizada é de extrema importância, pois define o potencial desinfetante deste agente antimicrobiano.

Outro fato constatado foi quando se procedeu na ozonização de duas fontes de água. Verificou-se que a curva de concentração da água proveniente da rede pública, apresentou valores de concentração de ozônio menores do que comparado à curva relacionada a mesma água proveniente da torneira filtrada. De fato, esta última água citada devido ao processo de filtração, apresenta menores quantidades de material susceptível à reação com o ozônio.

As atuações de dois mecanismos no protótipo desenvolvido, que são a fluidodinâmica ocorrendo principalmente junto ao canal do colonoscópio, e ozonização da água utilizando válvula Venturi resultaram na eficiência na desinfecção do colonoscópio. Com relação ao primeiro citado anteriormente, a hidrodinâmica junto com a turbulência, produz o efeito de arrasto de qualquer material orgânico depositado junto à parede do duto. A presença do ozônio na água acaba resultando na inativação do microrganismo no meio líquido. Há ainda que se ressaltar que, com o advento da produção da água ozonizada via método Venturi, o aumento da concentração de O_3 na água torna-se bem mais expressivo, quando comparado ao método tradicional usando difusor (CARVALHO *et al.*, 2015).

Para este estudo foi escolhido o como agente de contaminação o microrganismo *Staphylococcus aureus*, isto se justifica devido a sua presença no trato do intestino humano (BEILENHOF *et al.*, 2007), bem como também a sua capacidade de formar biofilme em superfícies diversas (Periasamy *et al.*, 2012). A análise de turbidez do meio líquido nutritivo não seletivo contendo os fragmentos de silicone, após as diferentes fases do protocolo de desinfecção do colonoscópio adaptado, revelou que todas as amostras após a contaminação experimental foram positivas, indicando crescimento microbiano. Em contrapartida, as amostras que passaram pelo reprocessamento com água ozonizada, não apresentaram turbidez, demonstrando ausência de crescimento microbiano. Estes dados estão de acordo com o trabalho de Urata *et al.* (2003) que relataram a eficácia da água ozonizada na eliminação *in vitro* de microrganismos frequentemente encontrados em endoscópios, como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Candida*

albicans. Neste sentido, justifica-se o fato de optarmos pela escolha do *S. aureus* para a contaminação do colonoscópio adaptado, uma vez que essa espécie bacteriana é largamente encontrada no trato intestinal do corpo humano (Hess *et al.*, 2003), bem como também de ser classificada como Gram Positiva. Além disso, estudos tem demonstrado que as bactérias Gram negativas são mais sensíveis ao ozônio do que as positiva (Restaino *et al.*, 1995; Moore *et al.*, 2000).

Os dados referentes a análise qualitativa microbiológica, considerando a presença e ausência de crescimento microbiano na superfície externa proximal e distal do colonoscópio adaptado demonstrou que tanto o a água ozonizada quanto o Glutaraldeído 2%, foram eficientes na eliminação de microrganismos destas regiões. Estes dados estão de acordo com os obtidos por Marson *et al.* (2016), no qual avaliou as mesmas regiões em gastroendoscópios, sendo que a dose de ozônio na qual foi possível eliminar 99,9999% dos microrganismos foi de 330 mg.min.L⁻¹. No entanto, não é possível realizar uma análise comparativa com relação as dosagens de O₃ empregadas no trabalho de Marson *et al.* (2016) porque no presente estudo, foi utilizado um sistema hidrodinâmico e empregando-se um sistema Venturi com o intuito de favorecer a transferência do gás (O₂+O₃) para a água, assim com o auxílio de um equipamento que determinar a concentração de O₃ dissolvido na água, este foi determinado em tempo real.

Uma abordagem que mais recentemente está sendo empregada para monitorar a limpeza de endoscópios flexíveis, envolve a determinação de trifosfato de adenosina (ATP) como medida de adequação de limpeza. Há vários artigos publicados que demonstram que o monitoramento de ATP fornece um método valioso de auditoria da limpeza de endoscópios (Hansen *et al.*, 2004; Obee *et al.*, 2005; Griffith *et al.*, 2007; Aiken *et al.*, 2011, Alfa *et al.*, 2013b; Fushime *et al.*, 2013). O ATP está presente em microrganismos, bem como em células humanas, sendo assim, a Unidade Relativa de Luz (URLs) detectadas após a limpeza podem representar biocarga residual ou secreções do paciente que contêm ATP celular. Neste sentido, no presente estudo foi avaliada a presença de ATP residual nas superfícies proximal e distal do

colonoscópio adaptado, sendo que após a aplicação das diferentes técnicas de reprocessamento não foram detectados ATP residual, indicando assim, que as técnicas foram eficientes no processo avaliado. Estes dados corroboram os resultados obtidos na análise microbiológica qualitativa, uma vez que após a ozonização e o Glutaraldeído 2% as amostras não apresentaram crescimento microbiano.

Estudos descreveram que 1 URL equivale a aproximadamente 103 UFC para bactérias Gram positivas, enquanto que, para bactérias Gram negativas a relação é de 102 UFC (Turner *et al.*, 2010; Aiken *et al.*, 2011; Alfa *et al.*, 2013b). Neste sentido, foi feita a correlação levando em conta que a contaminação experimental foi realizada com *S. aureus*, assim foi possível observar aproximadamente 6 logs de redução microbiana, induzido pelas duas técnicas de reprocessamento, indicando assim uma porcentagem de eliminação de 99.9999% da carga microbiana.

Alfa *et al.*, (2013a, 2013b) empregaram a técnica rápida para quantificação de ATP usando um luminômetro da marca 3M Inc. (Trace) com o intuito de avaliar a limpeza manual de endoscópios. No presente estudo empregamos a mesma técnica, utilizando o luminômetro da marca Hygiena, sendo que foi aplicado um teste que determina a quantidade de ATP total na água (AquaSnap Total), coletada do canal de trabalho do equipamento. A ozonização foi eficiente, pois, não houve detecção de ATP após este procedimento. Estes dados confirmam os nossos resultados microbiológicos qualitativos, uma vez que as 12 amostras do canal de trabalho apresentaram resultado negativo após a ozonização. Além disso, estes dados corroboram com os apresentados por Marson *et al.*, (2016), que observaram que após 10 minutos de ozonização (330 mg.min/L) houve uma redução de 99,9999% dos microrganismos presentes no canal de trabalho de gastroendoscópios.

De acordo com Alfa *et al.* (2013a) a conformidade da limpeza dos canais flexíveis do endoscópio não pode ser verificada por meio de inspeção visual, por isso eles sugeriram a determinação dos níveis de ATP como uma possível monitoração de limpeza rápida para canais flexíveis do endoscópio. Alfa *et al.* (2013b) determinaram que os endoscópios flexíveis com limpeza manual

completa, deverão apresentar no teste de determinação de ATP valores <200 URLs. No presente estudo, as amostras de água apresentaram URL acima dos valores recomendados, indicando que a contaminação experimental foi efetiva sobre o colonoscópio utilizado, para posteriores etapas de desinfecção. Considerando estes valores de referência, após o reprocessamento com ozônio e glutaraldeído 2%, ambas as técnicas atenderam as recomendações, indicando uma limpeza manual completa adequada. Além disso, a partir da análise do log de redução microbiano da água do canal foi possível observar aproximadamente 7 logs de redução induzido pelas duas técnicas de reprocessamento, indicando assim uma porcentagem de eliminação de 99.9999% da carga microbiana inicial. Estes dados são promissores, pois, indicam que a técnica de reprocessamento empregando água ozonizada foi tão efetiva quanto o Glutaraldeído 2%.

7. CONCLUSÃO

A utilização da água ozonizada, na condição dinâmica empregada no sistema que foi desenvolvido, para reprocessamento de endoscópio, é extremamente promissora. O presente estudo demonstrou a efetividade na redução microbiana das superfícies externa e no canal de trabalho do dispositivo, quando utilizada a dose de ozônio a $930 \text{ mg.L}^{-1}.\text{min}$. Além disso, vale salientar que houve a diminuição do tempo de desinfecção utilizando o equipamento com água ozonizada, visto que, o tempo padrão que é em média de 30 minutos foi reduzido para 15, indicando assim que futuramente pode ser uma alternativa para desinfecção de alto nível de endoscópios.

Na pesquisa bibliográfica realizada foi encontrado artigos científicos e principalmente patentes, esta busca revelou que os reprocessadores de endoscópio, que utilizam água ozonizada para a desinfecção, atuam com este fluido de maneira hidrostática e fluidodinâmica, mas com o posicionamento dos endoscópios numa condição de ficarem dispostos, de tal maneira que a sua superfície de contato com a água ozonizada, fique comprometida. No protótipo desenvolvido neste desenvolvimento, o instrumento fica posicionado numa situação de geometria sinuosa permitindo que o fluxo de água ozonizada remova e inative os microrganismos presentes, em toda a superfície do endoscópio, e simultaneamente no canal de trabalho.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, M.; *et al.* **Flexible tube for an endoscope and electronic endoscope equipped with the flexible tube.** U.S. Patent n. 6,540,669, 1 abr. 2003.

ACHORD, J. L.; MUTHUSAMY, V. R. The history of gastrointestinal endoscopy. In: **Clinical Gastrointestinal Endoscopy.** Content Repository Only!, 2019. p. 2-11. e1.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Nota Técnica No-01/2014/GQUIP/GGTPS/ANVISA. Esclarecimentos quanto à exigibilidade da certificação pelas Normas Técnicas listadas na Instrução Normativa IN 9/2013 (revoga a IN nº 03/2011). Maio, 2014.

AIKEN, Z. A.; WILSON, M; PRATTEN, J. Evaluation of ATP bioluminescence assays for potential use in a hospital setting. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 32, n. 5, p. 507-509, 2011.9

ALFA, M. J.; *et al.* The adenosine triphosphate test is a rapid and reliable audit tool to assess manual cleaning adequacy of flexible endoscope channels. **American Journal of Infection Control**, v. 41, n. 3, p. 249-253, 2013a.

ALFA, M. J.; *et al.* Validation of adenosine triphosphate to audit manual cleaning of flexible endoscope channels. **American Journal of Infection Control**, v. 41, n. 3, p. 245-248, 2013.

ALMEIDA, E.; *et al.* Tratamento de efluentes industriais por processos oxidativos na presença de ozônio. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 818-824, 2004.

ANTHONY, J.; *et al*; Section editors, Firas H. Al- Kawas...[et.al]. **Gastrointestinal disease: na endoscopic approach.** 2nd. Ed, 2002.

BAI, J. C. *et al.*; World Gastroenterology Organisation global guidelines on celiac disease. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 47, n. 2, p. 121-126, 2013.

BALAKRISHNAN, P. A.; ARUNAGIRI, A.; RAO, P. G. Ozone generation by silent electric discharge and its application in tertiary treatment of tannery effluent. **Journal of Electrostatics**, v. 56, n. 1, p. 77-86, 2002.

BALSAMO, Ana Cristina *et al.* Removing biofilm from a endoscopic: evaluation of disinfection methods currently used. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 46, p. 91-98, 2012.

BARAKAT, M. T.; GIROTRA, M., HUANG, R.J; BANERJEE, S. Escopo do escopo: avaliação endoscópica dos canais de trabalho do endoscópio com um novo endoscópio de inspeção de alta resolução (com vídeo). **Endoscopia gastrointestinal**, 88 (4), 601–611.e1, 2018.

BASHAW, M. A. Guideline implementation: processing flexible endoscopes. *AORN Journal*, v. 104, n. 3, p. 225-236, 2016

BEILENHOFF, U. *et al.* ESGE-ESGENA guideline for quality assurance in reprocessing: microbiological surveillance testing in endoscopy. **Endoscopy**, v. 39, n. 2, p. 175-181, 2007.

BEILENHOFF, U. *et al.* ESGE–ESGENA guideline: cleaning and disinfection in gastrointestinal endoscopy. **Endoscopy**, v. 40, n. 11, p. 939-957, 2008.

BELTRAN, F. J. *Ozone Reaction Kinetics for Water and Wastewater Systems*. Lewis Publishers. **Boca Raton: Florida**, 2004.

WHITE, G. C. **White's handbook of chlorination and alternative disinfectants**. Wiley, 2010.

BOCCI, V. *Ossigeno-Ozonoterapia. Comprensione del Meccanismi di Azione e Possibilitá Terapeutiche*. Milão: CEA-Casa Editrice Ambrosiana, 2000. 324p.

BOCCI, V. *Ozone A new medical drug*. 2005.

BRASIL, Resolução - RDC Nº 10, de 6 de março de 2013. Dispõe sobre a importação de amostras e kits de coleta de amostras sujeitos ao regime de vigilância sanitária destinados a testes de controle de dopagem.

BRASIL, Resolução ANVISA RDC. n 156, de 11 DE agosto de 2006. Dispõe sobre o registro, rotulagem e reprocessamento de produtos médicos, e dá outras providências, v. 1.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 14 de 28 de fevereiro de 2007, Regulamento Técnico Para Produtos Saneantes com Ação antimicrobiana.

BROMBERG, P. A. Mechanisms of the acute effects of inhaled ozone in humans. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects**, v. 1860, n. 12, p. 2771-2781, 2016.

CARRARA, D. *et al.* A desinfecção de endoscópios com ácido peracético por dez minutos é efetiva. **Revista SOBECC. São Paulo**, v. 18, n. 4, p. 36-46, 2013.

CARVALHO, H. C. *et al.* Effectiveness of ozone-liquid mass transfer aiming ozone therapy. In: **World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, June 7-12, 2015, Toronto, Canada**. Springer, Cham, 2015. p. 1283-1285.

CHEN, T. S.; CHEN, P. S. *The history of Gastroenterology – Essays on development and accomplishments*, 1980.

CHIATTONE, P. V.; TORRES, L. M.; ZAMBIAZI, R. C. Application of ozone in industry of food/Aplicação do ozônio na indústria de alimentos. **Alimentos e Nutrição (Brazilian Journal of Food and Nutrition)**, v. 19, n. 3, p. 341-350, 2008.

CONTRERAS, C. J.; *et al.* Higiene e Sanitização na Indústria de Carnes e Derivados. São Paulo: Varela. 1. ed. 210 p., 2003.

COSTA, C *et al.* Reprocessamento em endoscopia digestiva. **Jornal Português de Gastreenterologia**, v. 19, n. 5, p. 241-250, 2012.

COTTON, P.; WILLIAMS, C. Fundamentos de endoscopia digestiva. Porto Alegre (RS). Artes Médicas: 1998

COWEN, A. E. The clinical risks of infection associated with endoscopy. **Canadian Journal of Gastroenterology**, v. 15, 2001.

FLOURY, J. *et al.* Analysis of a new type of high pressure homogeniser. A study of the flow pattern. **Chemical Engineering Science**, v. 59, n. 4, p. 843-853, 2004.

FURUMI, S. **Method of Manufacturing Endoscope Flexible Tube**. U.S. Patent Application n. 11/100,242, 13 out. 2005.

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, 2013.

GRAZIANO, K. U.; PEREIRA, M. E. A.; KODA, E. Methodological proposal for validation of the disinfecting efficacy of an automated flexible endoscope reprocessor. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 24, 2016.

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, 2007.

GROEN, P. C. History of the endoscope [scanning our past]. **Proceedings of the IEEE**, v. 105, n. 10, p. 1987-1995, 2017.

HANAI, T. *et al.* **Channel tube for endoscope**. U.S. Patent Application n. 16/151,149, 31 jan. 2019.

HANSEN, D. *et al.* ATP measurement as method to monitor the quality of reprocessing flexible endoscopes. **German Medical Science: GMS e-journal**, v. 2, 2004.

HESS, D. J. *et al.* Intracellular survival of *Staphylococcus aureus* within cultured enterocytes. **Journal of Surgical Research**, v. 114, n. 1, p. 42-49, 2003.

HIGA, J. T. Duodenoscope-related infections: Overview and epidemiology. **Techniques in Gastrointestinal Endoscopy**, v. 21, n. 4, p. 150623, 2019.

HOSONO, S. **Structure for preventing the breakage of end portions of a protective covering for the adjustable bend section of an endoscope**. U.S. Patent n. 4,347,837, 7 set. 1982.

IDO, K.; *et al.* Deficiencies of automatic endoscopic reprocessors: a method to achieve high-grade disinfection of endoscopes. **Gastrointestinal Endoscopy**, v. 44, n. 5, p. 583-586, 1996.

KAMPF, G. Peracetic Acid. In: **Antiseptic Stewardship**. Springer, Cham, 2018. p. 63-98.

KHADRE, M. A.; YOUSEF, A. E.; KIM, J.-G. Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. **Journal of Food Science**, v. 66, n. 9, p. 1242-1252, 2001.

KIM, J.G; YOUSEF, A. E.; DAVE, S. Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: a review. **Journal of Food Protection**, v. 62, n. 9, p. 1071-1087, 1999.

KUNZ A.; *et al.* Construção Otimização Um Sistema Produção Aplicação Ozônio Em Escala Laboratório. *Química Nova*. 1999;425-8.

KURNIAWAN, N.; KEUCHEL, M. Flexible gastro-intestinal endoscopy—clinical challenges and technical achievements. **Computational and Structural Biotechnology Journal**, v. 15, p. 168-179, 2017.

LEE, J; HER, J.Y. LEE, K.G. Reduction of aflatoxins (B1, B2, G1, and G2) in soybean-based model systems. **Food Chemistry**, v. 189, p. 45-51, 2015.

LI, J.; *et al.* Two-dimensional analysis of cavitating flows in a centrifugal pump using a single-phase Reynolds averaged Navier—Stokes solver and cavitation model. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part A: Journal of Power and Energy**, v. 220, n. 7, p. 783-791, 2006.

MANTZAVINOS, D; PSILLAKIS, E. Enhancement of biodegradability of industrial wastewaters by chemical oxidation pre-treatment. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology: International Research in Process, Environmental & Clean Technology**, v. 79, n. 5, p. 431-454, 2004.

MARSON, R. F. *et al.* Use of ozonated water for disinfecting gastrointestinal endoscopes. **Ozone: Science & Engineering**, v. 38, n. 5, p. 346-351, 2016.

MARTONE, S.; ONEDA, K. **Endoscope assemblies having working channels with reduced bending and stretching resistance**. U.S. Patent n. 6,740,030, 25 de maio de 2004.

MCCAFFERTY, C. E. *et al.* An update on gastrointestinal endoscopy-associated infections and their contributing factors. **Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials**, v. 17, n. 1, p. 1-6, 2018.

MOAT, J. *et al.* Application of a novel decontamination process using gaseous ozone. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 55, n. 8, p. 928-933, 2009.

MOLLOY-SIMARD, V. *et al.* Elevating the standard of endoscope processing: Terminal sterilization of duodenoscopes using a hydrogen peroxide–ozone sterilizer. **American journal of infection Control**, v. 47, n. 3, p. 243-250, 2019.

MOORE, G; GRIFFITH, C; PETERS, A. Bactericidal properties of ozone and its potential application as a terminal disinfectant. **Journal of Food Protection**, v. 63, n. 8, p. 1100-1106, 2000.

MULLER, S.; LAGEMANN, R. C. Enfermagem em endoscopia digestiva. **São Paulo: MEDSI**, 2002.

MULVEY, D. *et al.* Finding a benchmark for monitoring hospital cleanliness. **Journal of Hospital Infection**, v. 77, n. 1, p. 25-30, 2011

MURPHY, S.S. and P.C. Presser. 2005. Method of manufacturing endoscope flexible tube. Patent Number 022822 A1, 1-11.

NAKAIDARA, A.; ZATERK, S. História da Endoscopia moderna no Brasil. In: A gastroenterologia no Brasil. Rio de Janeiro: **Revinter**, 2001.

NAZIK, H. *et al.* Glutaraldehyde-induced bowel injury during gynecologic laparoscopy. **Journal of Minimally Invasive Gynecology**, v. 19, n. 6, p. 756-757, 2012.

NEVES, M. S. *et al.* Effectiveness of current disinfection procedures against biofilm on contaminated GI endoscopes. **Gastrointestinal endoscopy**, v. 83, n. 5, p. 944-953, 2016.

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, 2005.

OH, T. H. *et al.* Guidelines of cleaning and disinfection in gastrointestinal endoscope for clinicians. **Journal of the Korean Medical Association**, v. 61, n. 2, p. 130-138, 2018.

PANOUILLÈRES, M.; BOILLOT, C.; PERRODIN, Y. Study of the combined effects of a peracetic acid-based disinfectant and surfactants contained in hospital effluents on *Daphnia magna*. **Ecotoxicology**, v. 16, n. 3, p. 327-340, 2007.

PAULA, L. O. Tratamento de água residuária da atividade automotiva por ozonização convencional e catalítica. Uberlândia. 2014.

PERIASAMY, S. *et al.* How Staphylococcus aureus biofilms develop their characteristic structure. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 4, p. 1281-1286, 2012.

PETERSEN, B. T. Gaining perspective on reprocessing of GI endoscopes. **Gastrointestinal Endoscopy**, v. 50, n. 2, p. 287-291, 1999.

PICCOLI, H. H.; SOUZA, A. A. U.; ULSON DE SOUZA, Selene Maria Arruda Guelli. Bleaching of knitted cotton fabric applying ozone. **Ozone: Science & Engineering**, v. 37, n. 2, p. 170-177, 2015.

RESTAINO, L. *et al.* Efficacy of ozonated water against various food-related microorganisms. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 61, n. 9, p. 3471-3475, 1995.

ROSADO, F. G. L. Aplicação da ozonização e de processos oxidativos avançados na degradação dos fármacos paracetamol e dipirona presentes em efluentes aquosos simulados. Diamantina, MG. 2014.

RUTALA, W. A. *et al.* Guideline for disinfection and sterilization of prion-contaminated medical instruments. **Infect Control Hosp Epidemiol**, v. 31, n. 2, p. 107-17. 2010.

RUTALA, W. A.; WEBER, D. J. Disinfection, sterilization, and antisepsis: Na overview. **American Journal of Infection Control**, v. 44, n. 5, p. e1-e6, 2016

RUTALA, W. A.; WEBER, D. J.; HICPAC. Disinfection and Sterilization Guideline. Centers for Disease Control and Prevention. 2008.

RUTALA, W.A, *et al.* Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities, 2008. Atlanta (EUA): Centers for Disease Control and Prevention; 2008.

RUTALA, W. A. APIC guideline for selection and use of disinfectants. **American journal of infection control**, v. 24, n. 4, p. 313-342, 1996.

RUTALA, W. A.; WEBER, D. J. How to assess risk of disease transmission to patients when there is a failure to follow recommended disinfection and sterilization guidelines. **Infection Control & Hospital Epidemiology**, v. 28, n. 2, p. 146-155, 2007.

SBED/Endoscopia Digestiva – Sociedade Brasileira de Endoscopia Digestiva. Fundação SmithKline, 1984.

SCHIAVON, G. J.; *et al.* Design and analysis of an ozone generator system operating at high frequency with digital signal controller. **Revista Ciência e Tecnologia**, v. 15, n. 27, p. 23-35, 2012.

SCHIAVON, G. J.; *et al.* Projeto e Análise de um Sistema Gerador de Ozônio para Remoção de Cor de Efluente Têxtil. **Revista Ciência e Tecnologia**, v. 16, n. 28/29, 2013.

SEO, H.I. *et al.* Comparison of the efficacy of disinfectants in automated endoscope reprocessors for colonoscopes: tertiary amine compound (Sencron2®) versus ortho-phthalaldehyde (Cidex® OPA). **Intestinal research**, v. 14, n. 2, p. 178, 2016.

SHIN, S. P.; KIM, W. H. Recent update on microbiological monitoring of gastrointestinal endoscopes after high-level disinfection. **Clinical endoscopy**, v. 48, n. 5, p. 369, 2015.

SILVA, S. B.; *et al.* Potencialidades do uso do ozônio no processamento de alimentos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p. 659-682, 2011.

SINGH, H.; *et al.* Evaluation of an overnight non-culture test for detection of viable Gram-negative bacteria in endoscope channels. **Endoscopy International Open**, v. 7, n. 2, p. E268, 2019.

SIVAK, M.V. Endoscopic technology: Is this as good as it gets?. **Gastrointestinal Endoscopy**, v. 50, n. 5, p. 718-721, 1999.

SNATURAL Ltda. **Simulação computacional da degradação de membrana bacteriana**. Disponível em: <<https://www.snatural.com.br/ozonio-tratamento-agua-desinfeccao/>>. Acesso em 27 de novembro de 2020.

SOUSA, C. S. *et al.* Ozônio na esterilização de produtos para assistência à saúde: revisão integrativa da literatura. **Revista da Escola de Enfermagem da USP**, v. 45, n. 5, p. 1243-1249, 2011.

SPEER, T. Atualização da desinfecção de endoscópios: guia para um reprocessamento sensível aos recursos. 2019.

SVETLÍKOVÁ, Z.; *et al.* Role of porins in the susceptibility of Mycobacterium smegmatis and Mycobacterium chelonae to aldehyde-based disinfectants and drugs. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 53, n. 9, p. 4015-4018, 2009.

URATA, M. *et al.* Comparison of the microbicidal activities of superoxidized and ozonated water in the disinfection of endoscopes. **Journal of International Medical Research**, v. 31, n. 4, p. 299-306, 2003.

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, 2004.

WHITE, F. M. Viscous Fluid Flow 2nd edition McGraw-Hill. **New York**, 1991.