



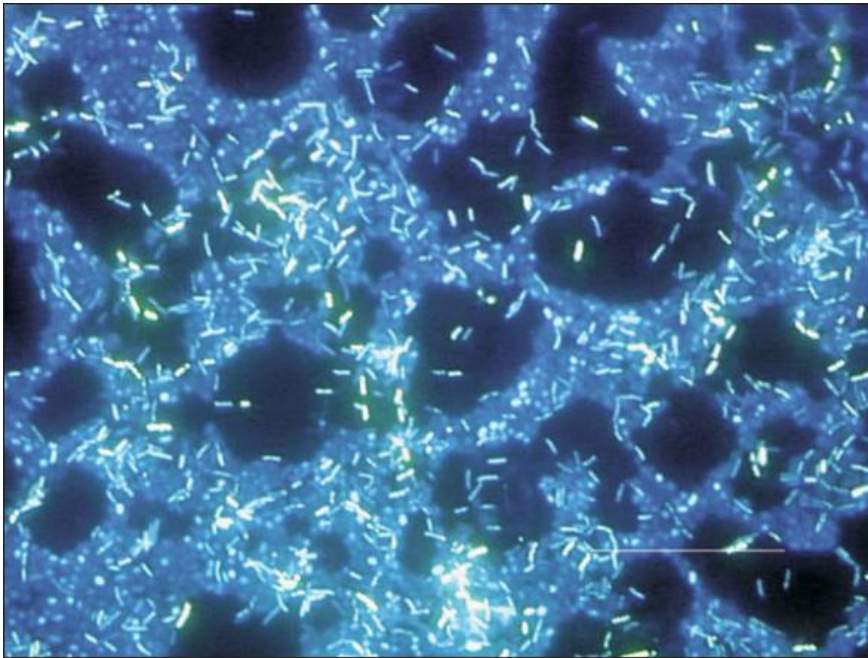
XIV Congresso Brasileiro de
Controle de Infecção e
Epidemiologia Hospitalar
19 A 22 DE NOVEMBRO DE 2014 | EXPO UNIVED CURITIBA | CURITIBA | PR



Impacto dos biofilmes na desinfecção

Células individuais
ou **comunidades**

Matriz (exopolímeros e
componentes de origem
não biológica)



**Material
incorporado**

Canais (trocas)

(Donlan, 2001a,b; 2002)

BIOFILME

- Ecossistema estruturado
- Altamente dinâmico
- Atua de maneira coordenada,



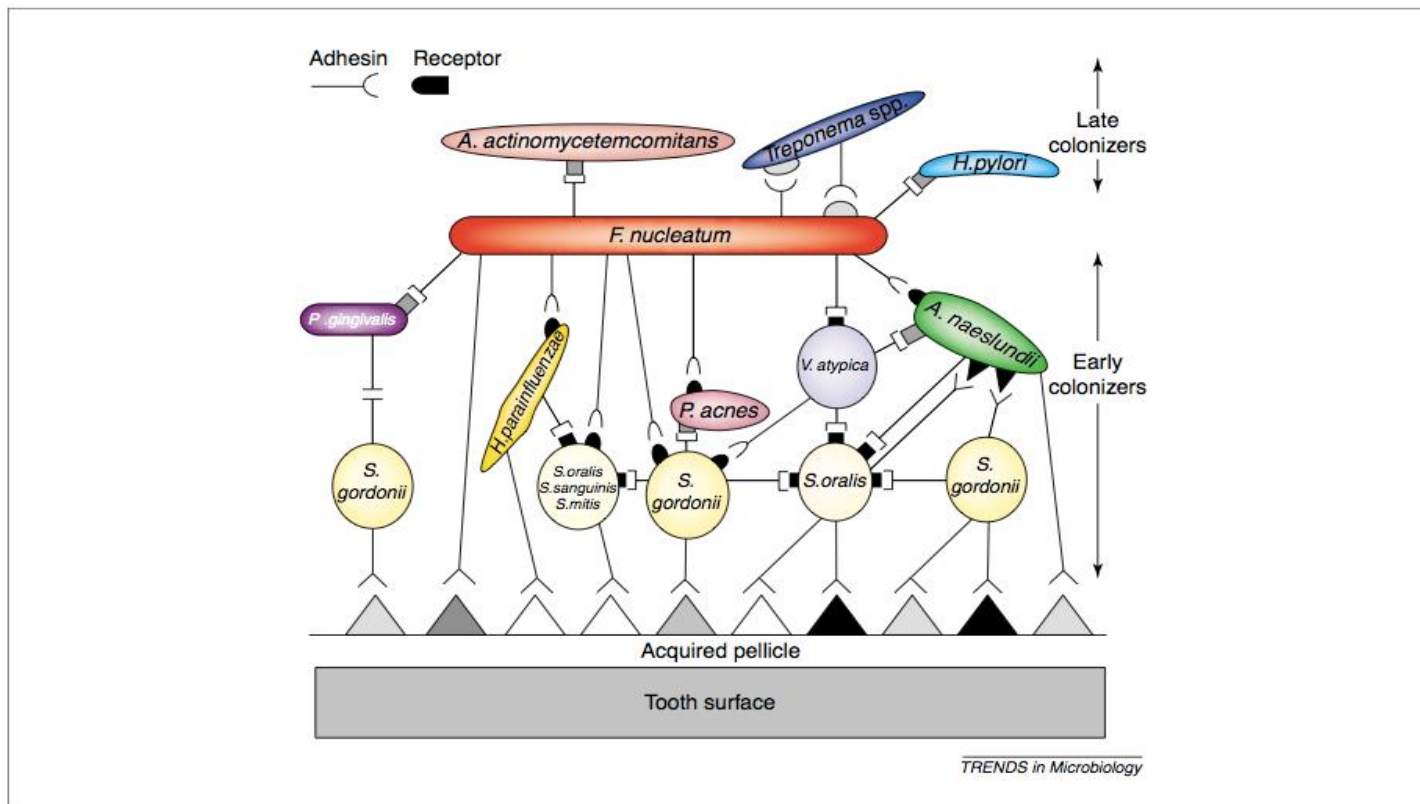
Habitat favorável à vida em comunidade e à sobrevivência dos microrganismos.

Conseguem colonizar todos os ambientes acessíveis a seres vivos (bióticos e abióticos)

BIOFILME

Coagregação:

- Um dos processos permite que a formação do biofilme ocorra rapidamente
- Microrganismos criam receptores para se ligar no filme condicionante e aos outros microrganismos



BIOFILME

- Primeiros registros: há aproximadamente 3,25 milhões de anos;
- Microrganismos - predominantemente dentro de biofilmes
- Preservação da diversidade microbiana
- Seleção natural
- Sobrevivência de microrganismos anaeróbios





Biofilme

BIOFILME

Importância do **substrato**:

Suporte no qual ocorre a adesão de células microbianas

- o solo, a água, ou um dispositivo para saúde

Interação dos microrganismos com substratos se dá sempre através das respectivas superfícies.

(Pajkos et al., 2004; Donlan; Costerton, 2002; Donlan, 2002).

BIOFILME

Fabricantes



Plastificadores às estruturas do substrato



Objetivo: manter os polímeros maleáveis e evitar que se tornem quebradiços



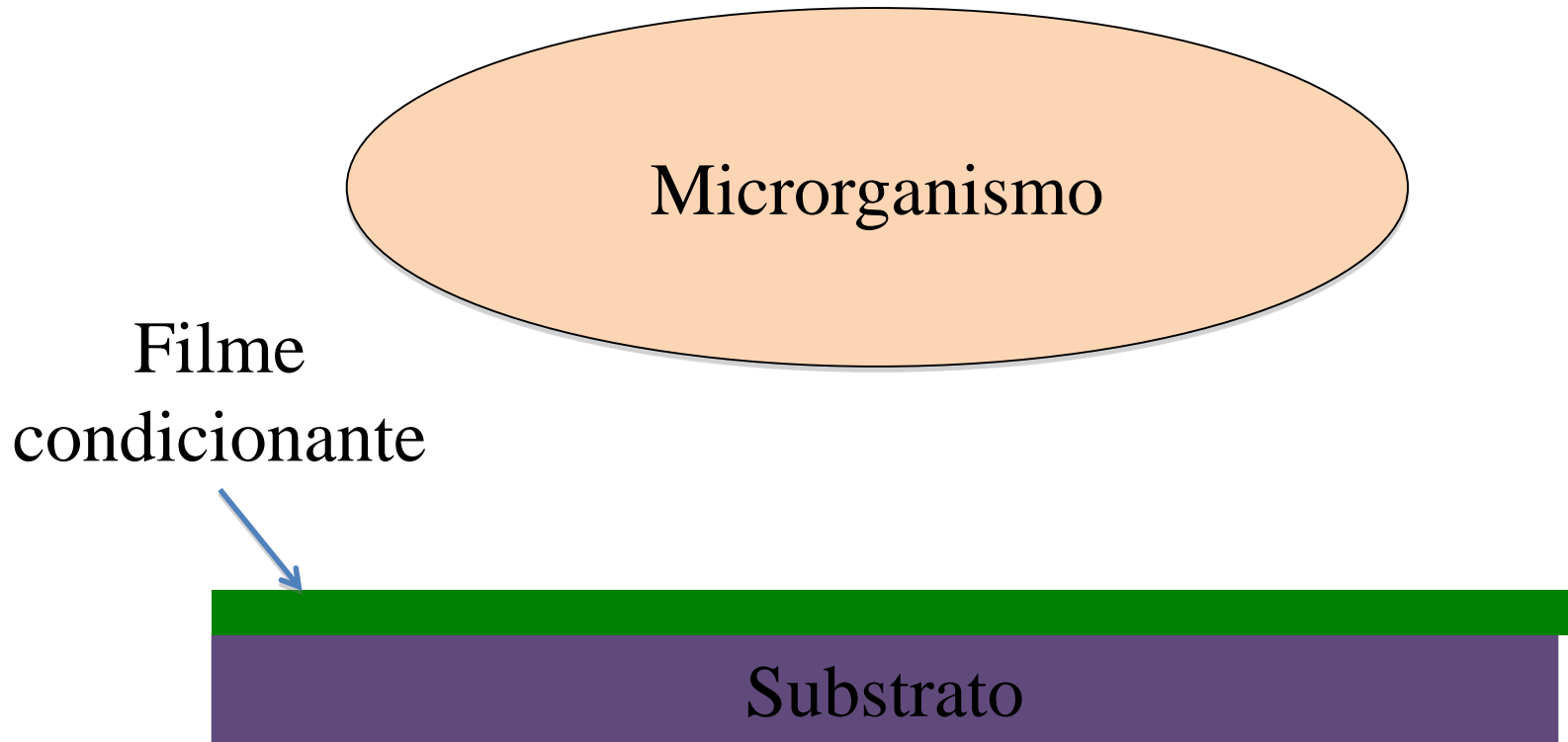
Alteração na composição química



Altera a forma de interação entre substratos e os microrganismos

Substratos constituídos de um mesmo tipo de polímero como o PTFE podem apresentar diferentes comportamentos de interação (plastificadores diferentes)

BIOFILME



Filme condicionante: formada por substâncias do meio - mudam as características do substrato

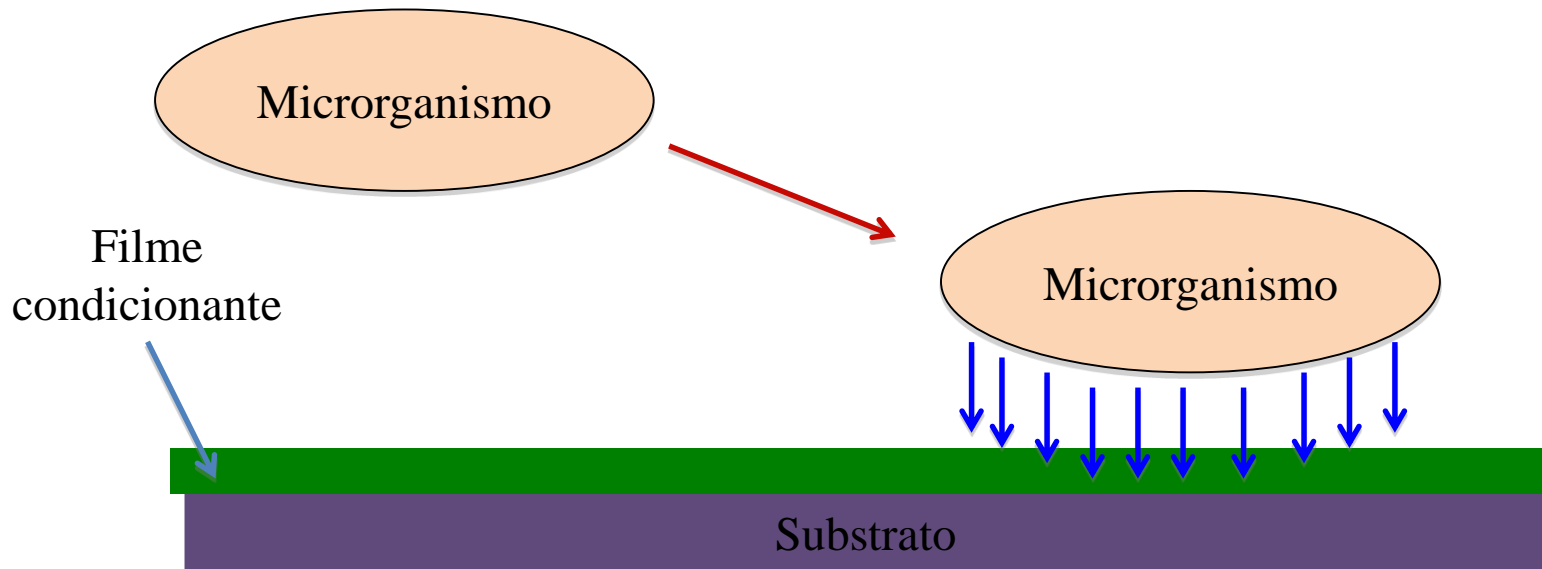
(Donlan, 2001b, 2002).

BIOFILME

Etapas para adesão das bactérias à superfície dos substratos:

1) Transporte do meio para a vizinhança da superfície:

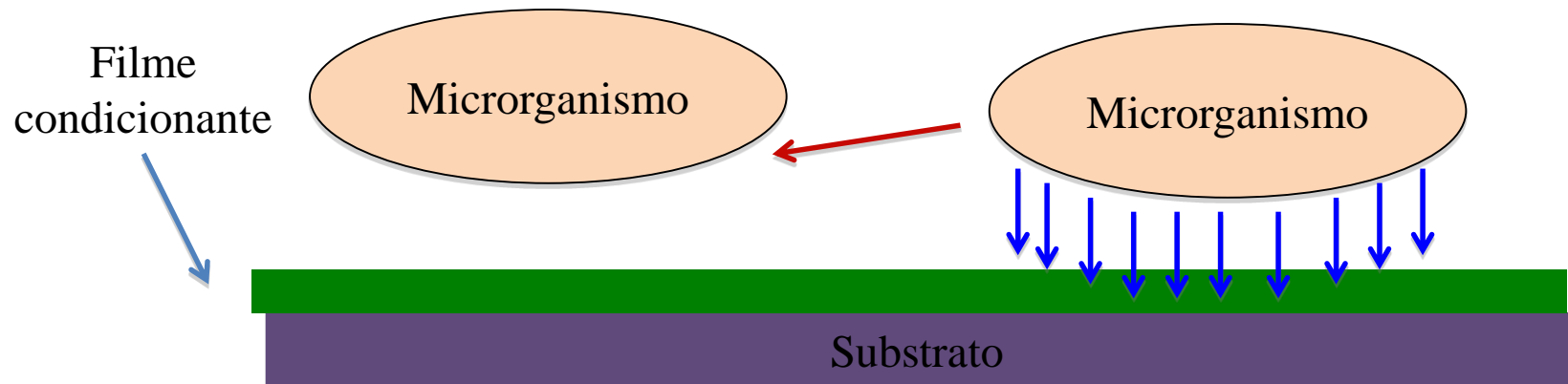
- **Aproximação** da superfície: translocação passiva (microrganismos não-móteis) e translocação ativa (microrganismos móveis).



BIOFILME

Etapas para adesão das bactérias à superfície dos substratos:

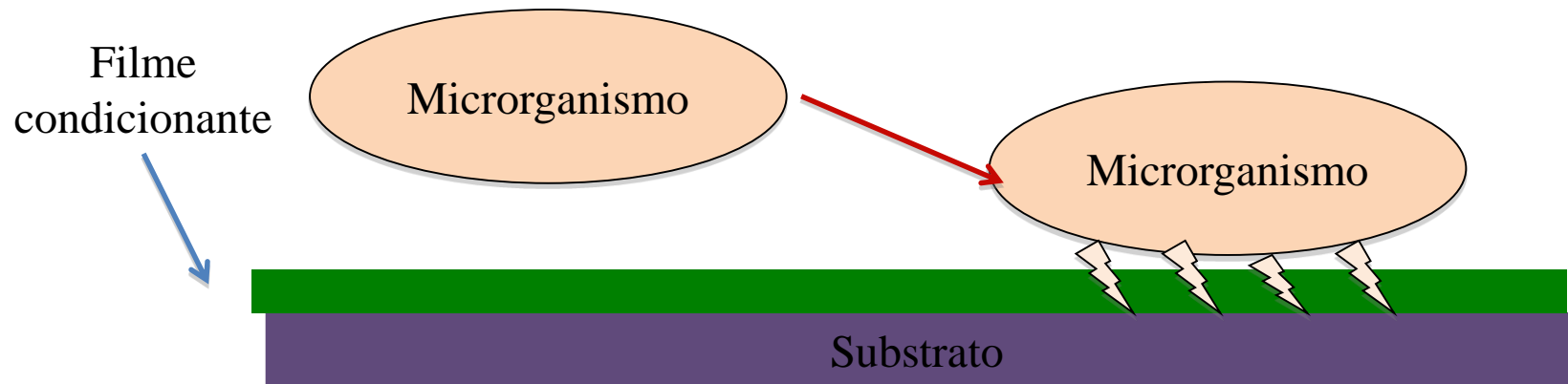
2) **Adesão** no mínimo **secundário**:



BIOFILME

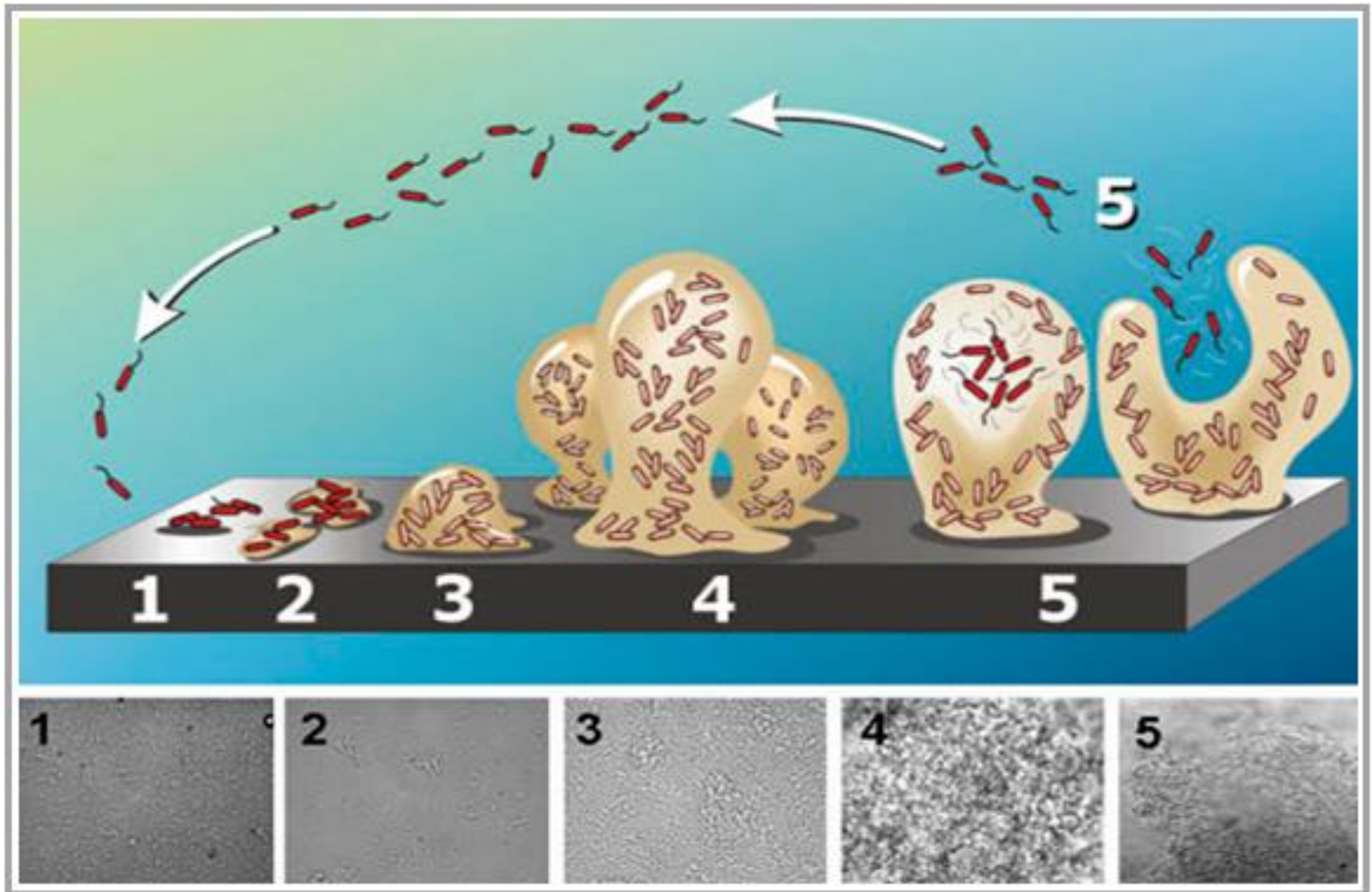
Etapas para adesão das bactérias à superfície dos substratos:

3) **Adesão no nível primário** com estabelecimento de **contatos firmes** entre o microrganismo e o substrato:



- Nem sempre a adesão dos microrganismos ao substrato leva à formação de biofilme, a adesão pode ser transitória.
- Apêndices nas superfícies de células como pílitos, fímbrias ou mesmo flagelos facilitam a transição da etapa de adesão reversível para a adesão irreversível.

BIOFILME

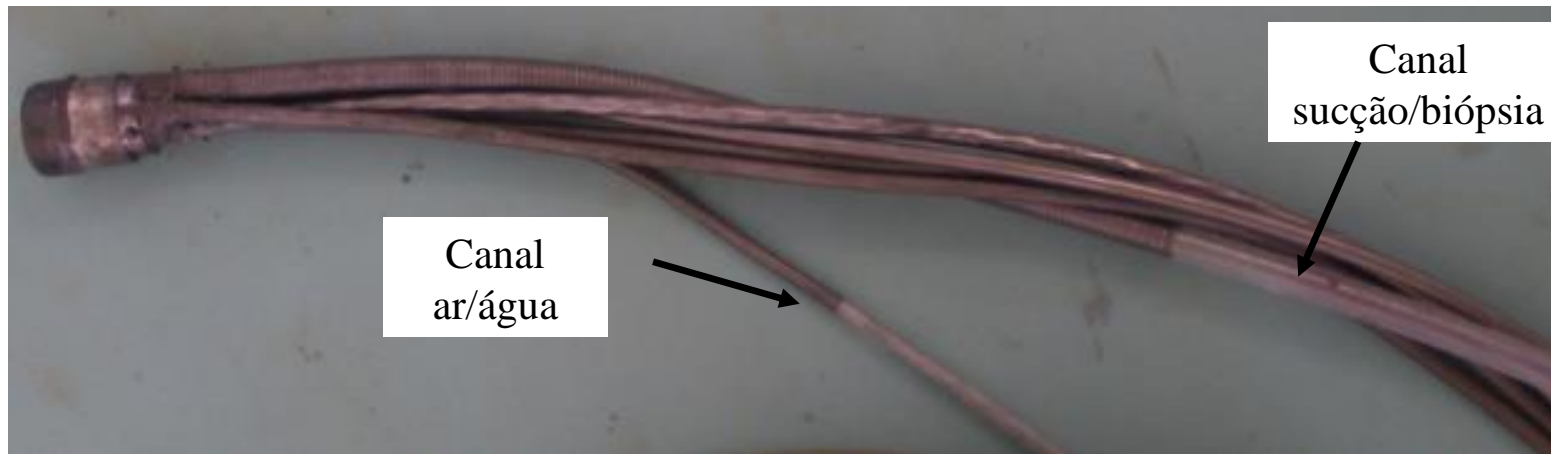


BIOFILME

Fatores que influenciam na interação dos microrganismos com os substratos:

- **Composição química** da superfície dos substratos

Materiais hidrofóbicos - desenvolvimento do biofilme mais rapidamente



(Fletcher; Loeb, 1979; Pringle; Fletcher, 1983; Bendinger et al., 1993).

BIOFILME

Canais endoscópicos gastrointestinais
politetrafluoretileno (PTFE) - Teflon®.

PTFE:

- Superfície inerte
- Biocompatível com o corpo humano
- Impermeável
- Baixa toxicidade
- Baixo coeficiente de atrito

(BÁLSAMO, 2009)

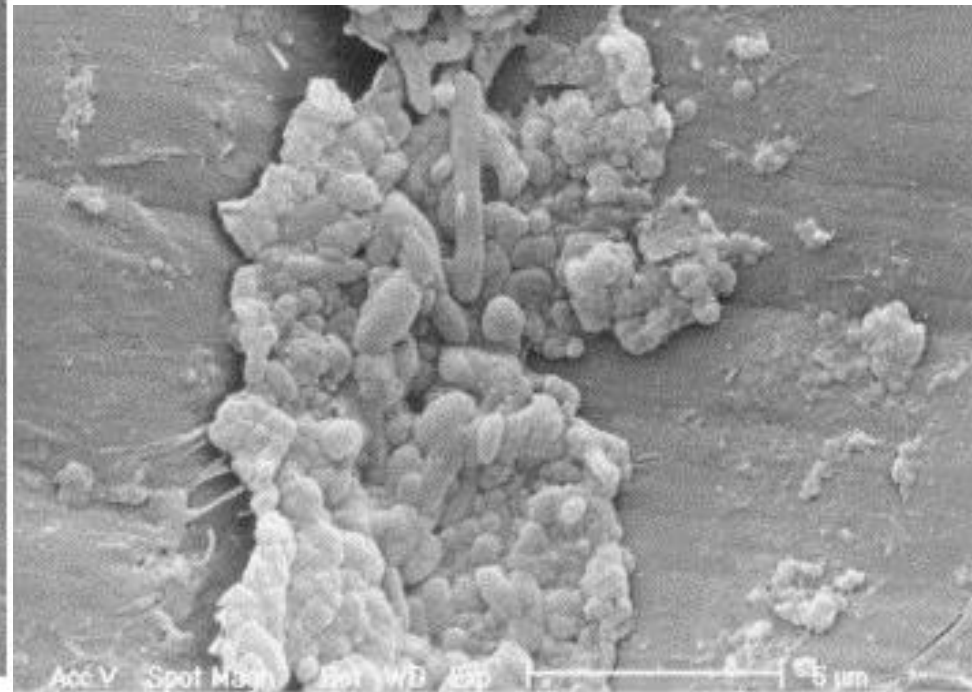
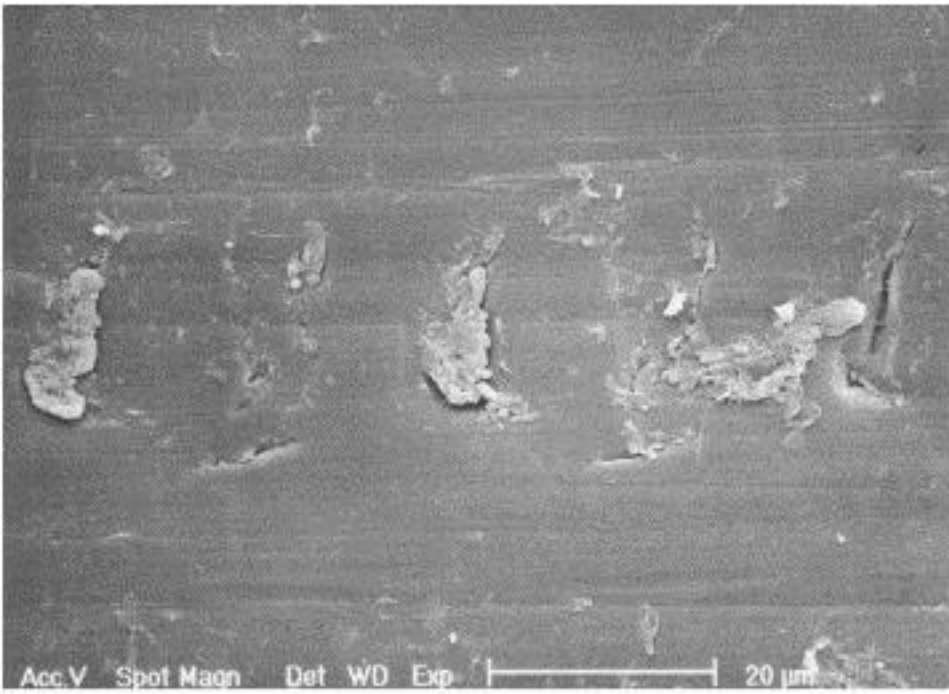
-Superfície hidrofóbica

(VICKERY, PAJKOS;COSSART, 2004).

BIOFILME

Fatores que influenciam na interação dos microrganismos com os substratos:

- **Morfologia da superfície (rugosidade):**



(Pringle; Fletcher, 1983; Fletcher; Loeb, 1979; Pajkos et al, 2004;)

BIOFILME

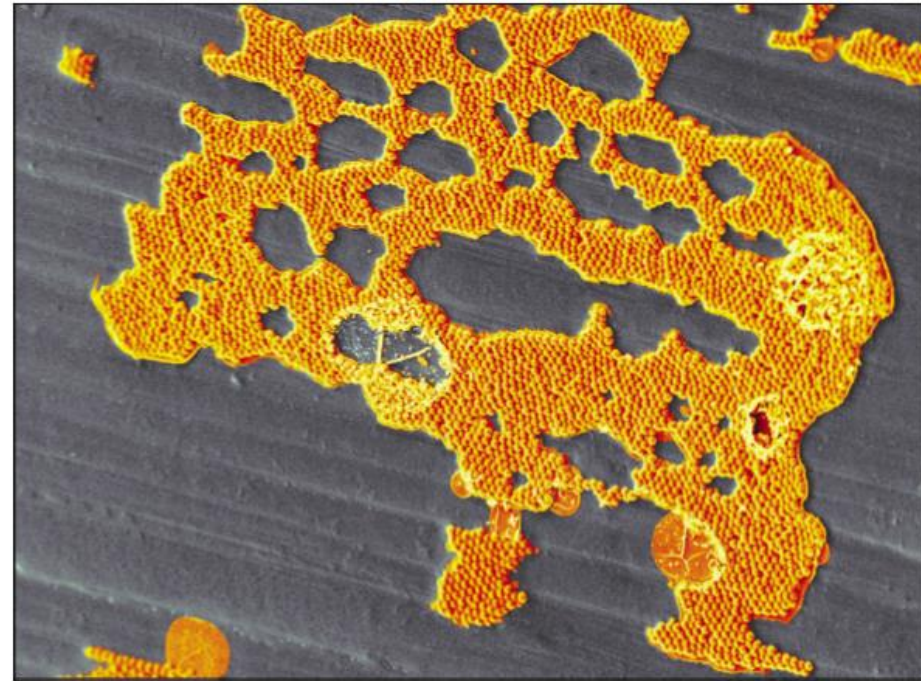
Estruturas diversas:

-Idade do biofilme

-Quantidade e tipo de
matéria orgânica
disponível no meio
ambiente

-Biodiversidade do
biofilme

-Substrato



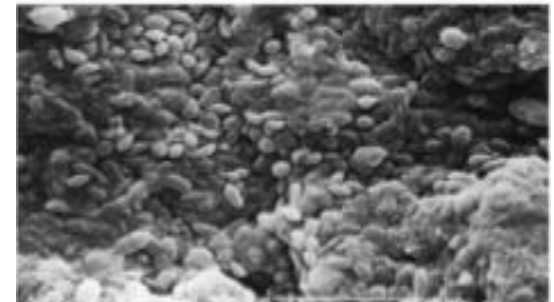
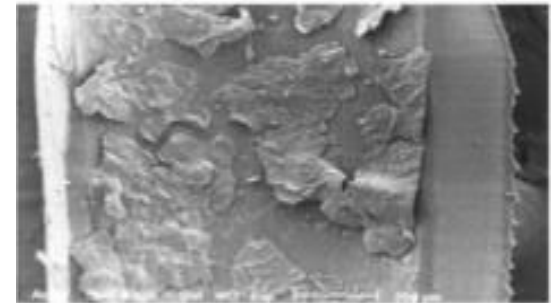
Bacterial biofilms, such as this *Staphylococcus aureus* biofilm on a plastic surface, can be significant problems in clinical settings. Researchers are finding ways to disrupt their formation by using ultrasonic vibrations as well as by chemical means. (Image copyright SciMAT/Photo Researchers, Inc.)

BIOFILME

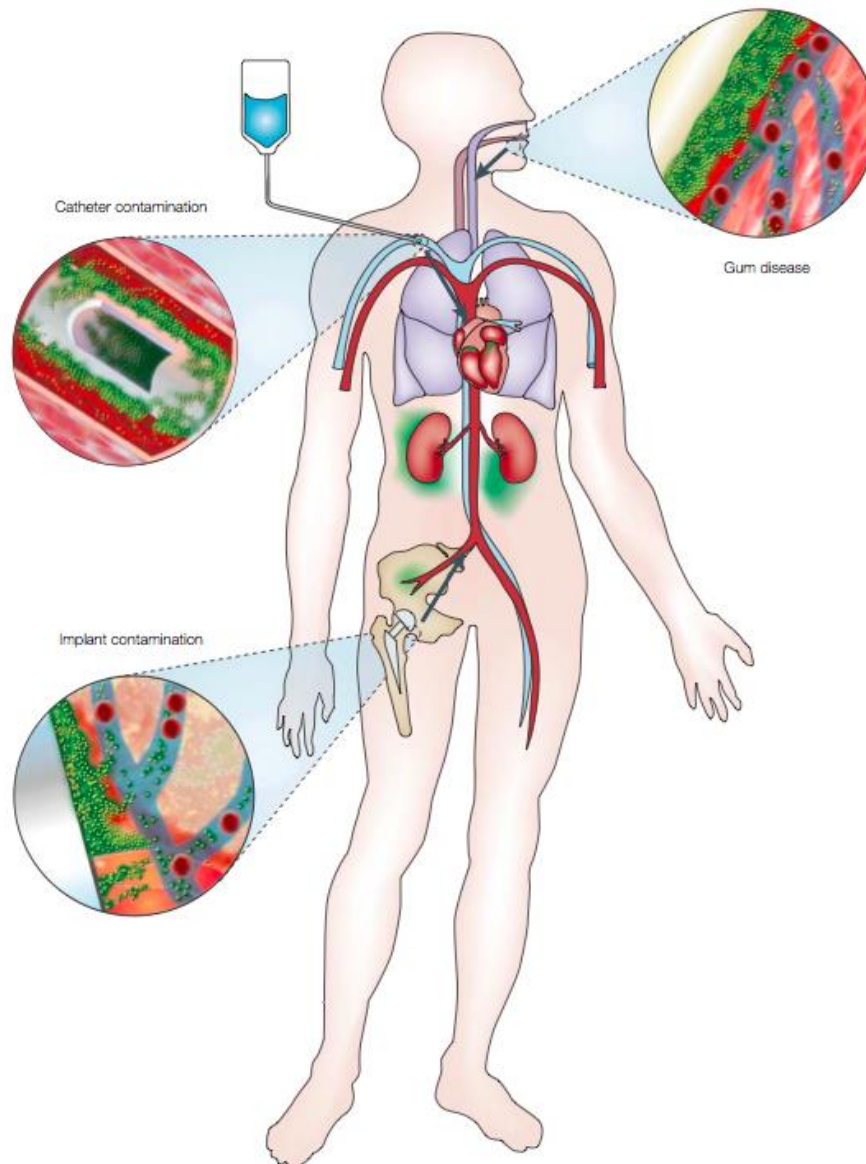
- Aumento do número de artigos: década de 90

IRAS

Engenharia



BIOFILME



BIOFILME

Formação de biofilme na superfície de produtos para a saúde



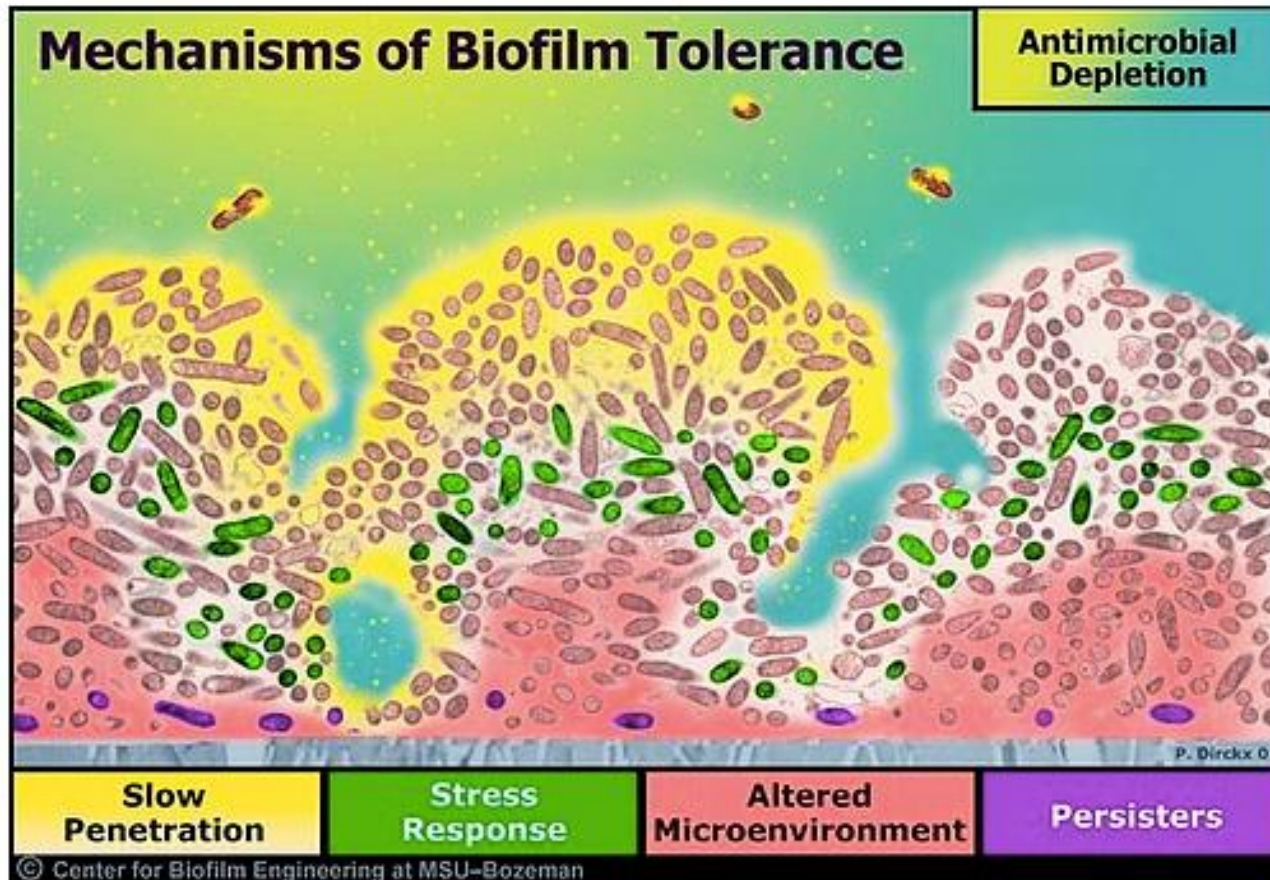
Dificuldade ou impossibilidade de difusão de **biocidas** e antimicrobianos



Transmissão de microrganismos

BIOFILME

Mecanismos de tolerância aos antimicrobianos:



Mecanismos de tolerância do biofilme aos antimicrobianos: baixa penetração, resposta de estresse, microambiente alterado e células *persisters*.

Fonte: Courtesy, Montana State University Center for Biofilm Engineering, 2001. (Ilustração adaptada: tradução do inglês para o português). Autorizada pelo autor.

BIOFILME

Principais métodos para controle da formação de biofilmes:

- 1) Constituição do substrato
- 2) Limpeza mecânica e química

(VICKERY; PAJKOS; COSSART, 2004);

- 3) Redução do aporte de nutrientes;
- 4) Aplicação de biocidas;
- 5) Emprego de substâncias como prata, antissépticos e antimicrobianos - superfície dos dispositivos médicos
(SCHIERHOLZ; BEUTH, 2001).

REMOÇÃO DO BIOFILME



Medical Device Reprocessing: How to "Ban the Biofilm"
Michelle Alfa PhD FCCM, St. Boniface General Hospital, Winnipeg

Stop Dirty Instruments at the Cleaning stage!!



- Once disinfected or sterilized residues are fixed → hard to extract and analyze
- Need to do routine monitoring of cleaning to **prevent build up** of fixed material on instruments.



Suction tip



Arthroscopic shaver



REMOÇÃO DO BIOFILME

- Ação mecânica – padrão ouro

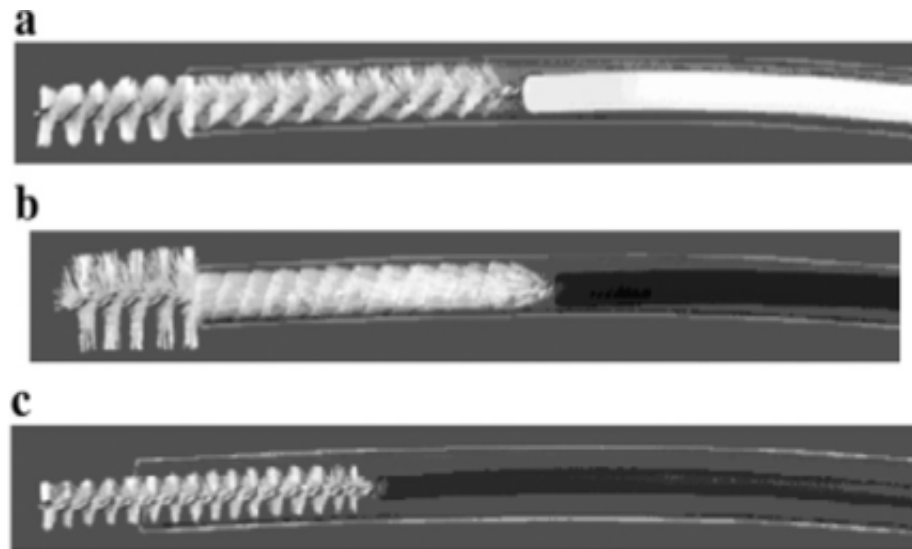
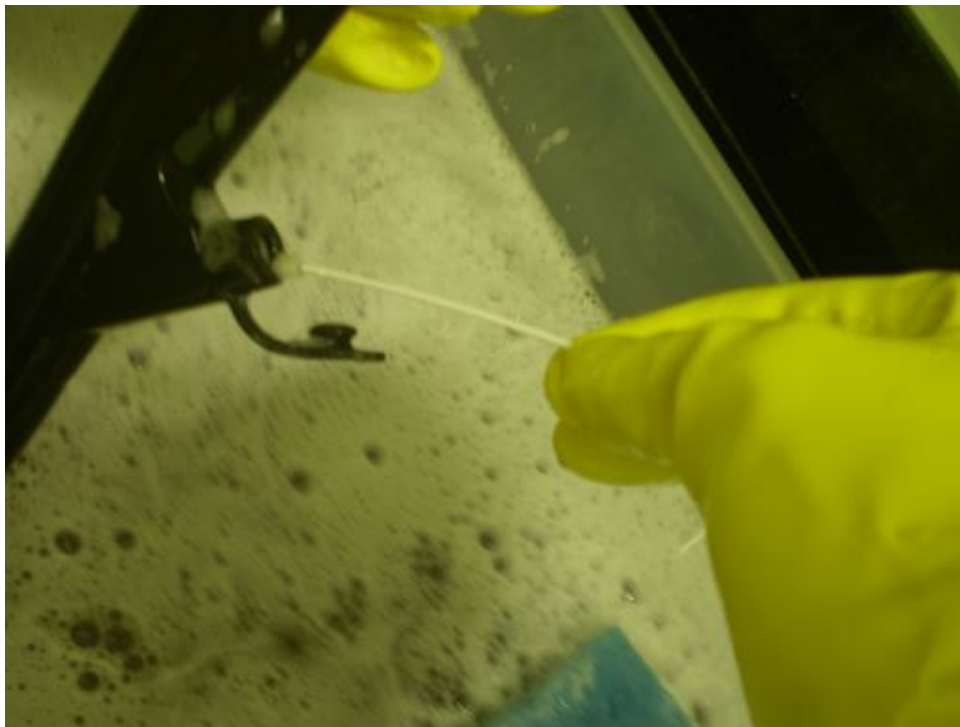


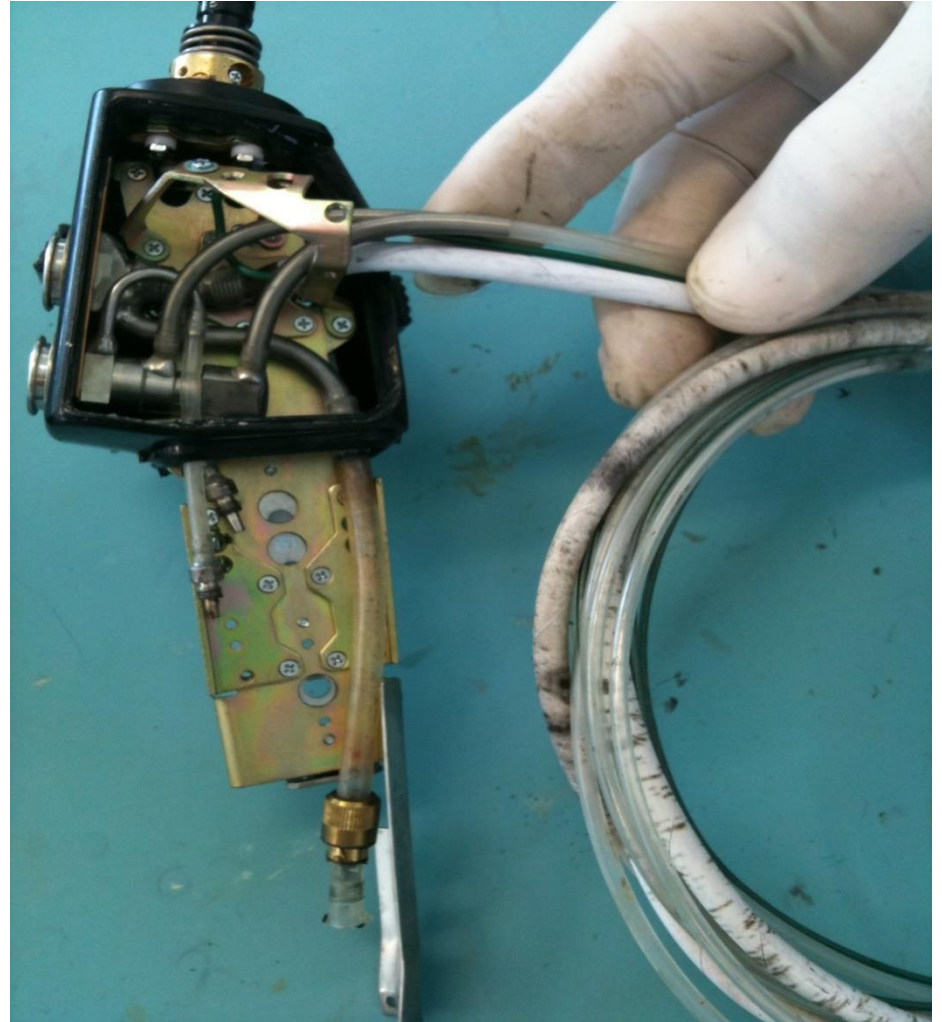
Figure 2. Importance of brush diameter for effective cleaning of endoscope channel (photograph provided by LTA Medical, Montreuil, France). (a) Diameter of the brush is correct for the channel size, and effective cleaning is ensured. (b) Diameter of the brush is too big, so brush fibres are compacted in the channel and are not effective. (c) Diameter of the brush is too small, so brush fibres do not touch the channel.

(BAJOLET *et al.*, 2013)

REMOÇÃO DO BIOFILME

- Ação mecânica

?



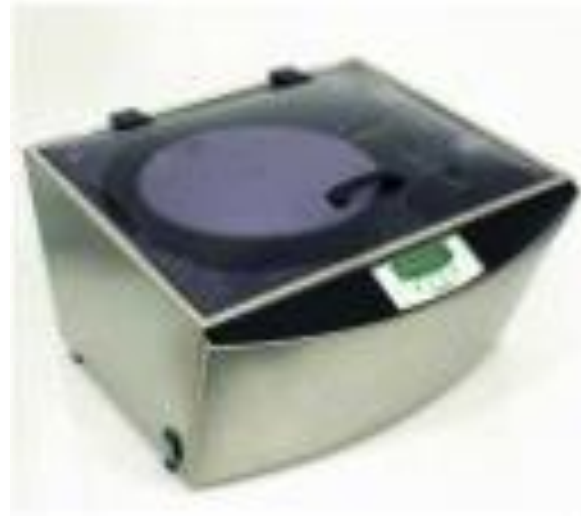
REMOÇÃO DO BIOFILME

- Ação mecânica



REMOÇÃO DO BIOFILME

- Ação mecânica



REMOÇÃO DO BIOFILME - Soluções de limpeza

American Journal of Infection Control 41 (2013) e89-e92



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

American Journal of Infection Control

journal homepage: www.ajicjournal.org



Major article

Evaluation of detergents and contact time on biofilm removal from flexible endoscopes

Wei Ren MD^{a,b}, Xiaoyan Sheng MD^{a,c}, Xi Huang MD^a, Fachao Zhi PhD^c, Wenzhi Cai PhD^{a,c,*}

^aSchool of Nursing, Southern Medical University, Guangzhou, China

^bZhengzhou Children's Hospital, Zhengzhou, China

^cNanfang Hospital, Guangzhou, China

- Experimental – *Escherichia coli*
- Microscopia eletrônica de varredura
- 2 detergentes com enzimas e 1 detergente sem enzimas
- 3, 5 e 7 minutos

REMOÇÃO DO BIOFILME - Soluções de limpeza

Residual biofilm bacteria colony counts after exposure to various detergents for contact time of 3, 5, and 7 minutes and biofilm bacteria colony counts for the control group (lgCFU/cm²)

Group	3 Min (n = 5)	5 Min (n = 5)	7 Min (n = 5)	Sum
Rapid Multi-Enzyme	4.59 ± 0.51 ^{*,†}	4.60 ± 0.52 ^{*,†}	4.63 ± 0.57 ^{*,†}	4.61 ± 0.52
Scopezime	4.70 ± 0.52 ^{*,†}	4.68 ± 0.50 ^{*,†}	4.63 ± 0.49 ^{*,†}	4.67 ± 0.49
Intercept	1.31 ± 0.14 [*]	1.28 ± 0.11 [*]	1.30 ± 0.13 [*]	1.29 ± 0.13
Sterilized water injection	5.44 ± 0.19	5.44 ± 0.19	5.44 ± 0.19	5.44 ± 0.19
Sum	3.53 ± 1.65	3.52 ± 1.65	3.52 ± 1.65	3.52 ± 1.64
F test	342.906	363.068	327.360	1031.647 [‡]
P value	<.001	<.001	<.001	<.001 [‡]

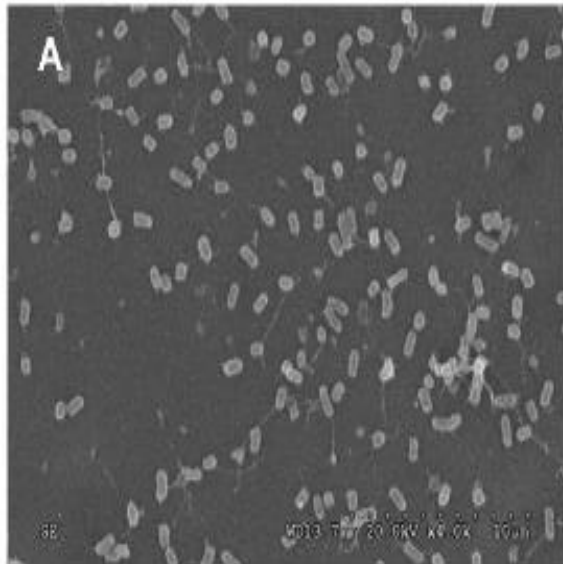
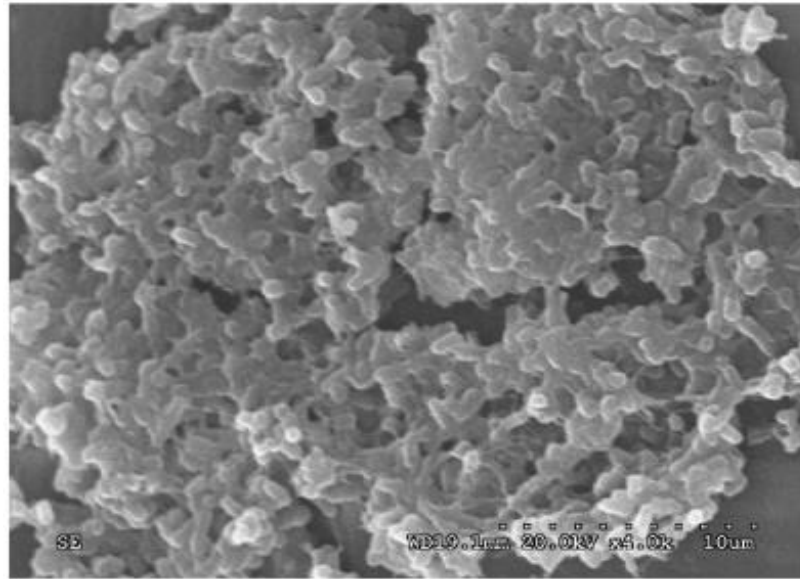
NOTE. n, Sample size; $\bar{x} \pm s$, mean \pm standard deviation.

^{*}P < .001 vs sterilized water injection.

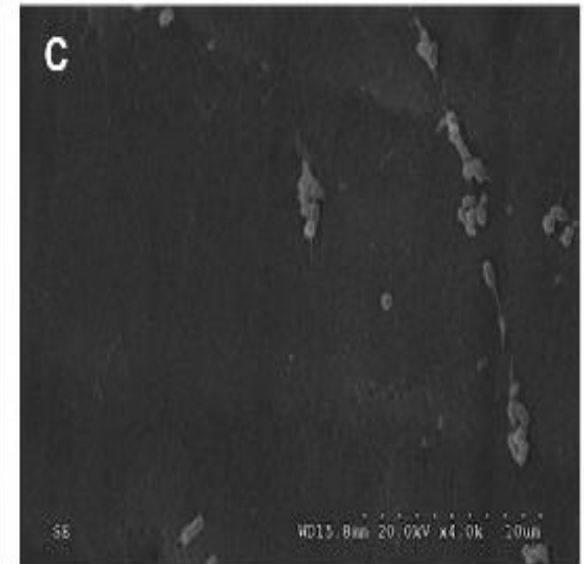
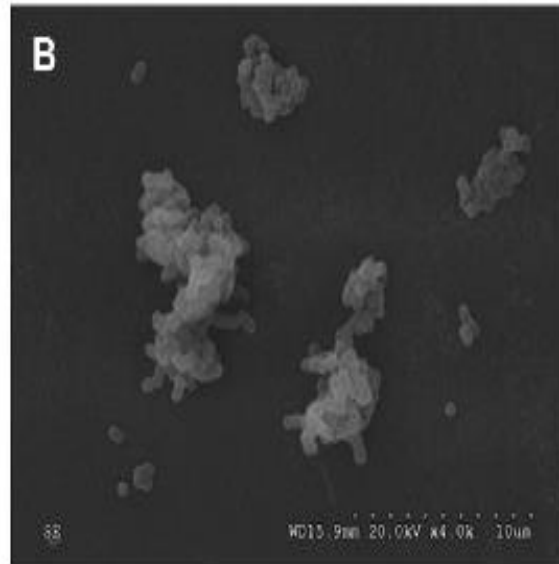
[†]P < .001 vs Intercept.

[‡]F statistic and P value of main effect.

REMOÇÃO DO BIOFILME - Soluções de limpeza



Com enzima



Sem enzima

REMOÇÃO DO BIOFILME - Soluções de limpeza



*World Journal of
Gastroenterology*

Online Submissions: <http://www.wjgnet.com/1007-9327office>
wjg@wjgnet.com
doi:10.3748/wjg.v16.i8.1019

World J Gastroenterol 2010 February 28; 16(8): 1019-1024
ISSN 1007-9327 (print)
© 2010 Baishideng. All rights reserved.

BRIEF ARTICLE

A study of the efficacy of bacterial biofilm cleanout for gastrointestinal endoscopes

Table 1 Wall residue biofilm colony count after bacterium and detergent suspension soaked

Detergents	Average actual colony count (CFU/ piece, \pm SD)	Average standard colony count (lgCFU/ piece, \pm SD)
Enzymatic detergent	$(1.15 \pm 0.86) \times 10^4$	3.96 ± 0.35^a
Non-enzymatic detergent	$(6.85 \pm 2.90) \times 10$	1.80 ± 0.21^b
Control	$(1.69 \pm 0.65) \times 10^4$	4.19 ± 0.22

^a $P = 0.00$ vs the control group, ^b $P = 0.25$ vs the control group.

(Fang et al., 2010)

REMOÇÃO DO BIOFILME - Soluções de limpeza



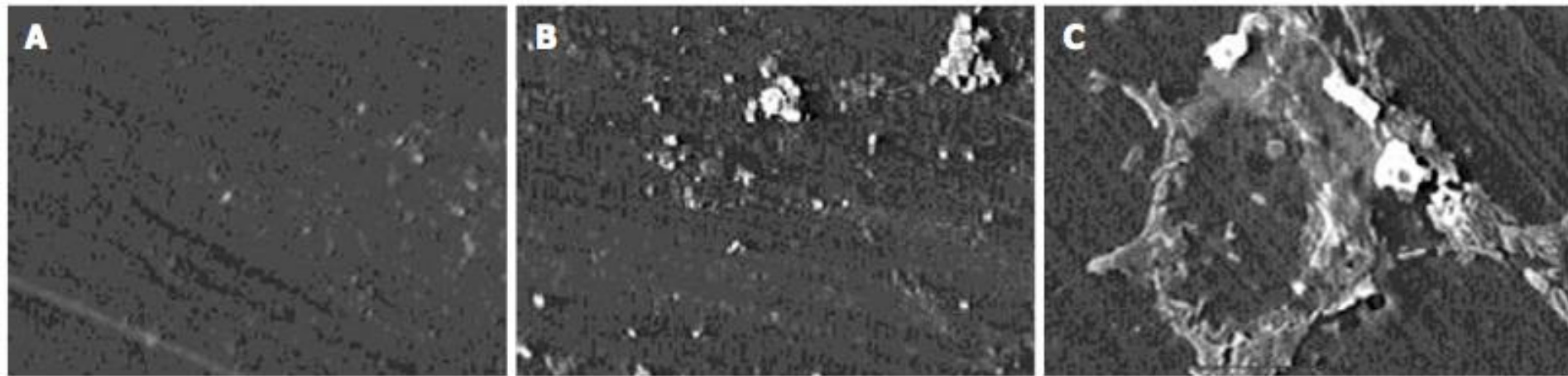
*World Journal of
Gastroenterology*

Online Submissions: <http://www.wjgnet.com/1007-9327office>
wjg@wjgnet.com
doi:10.3748/wjg.v16.i8.1019

World J Gastroenterol 2010 February 28; 16(8): 1019-1024
ISSN 1007-9327 (print)
© 2010 Baishideng. All rights reserved.

BRIEF ARTICLE

A study of the efficacy of bacterial biofilm cleanout for gastrointestinal endoscopes



Sem enzima

Com enzima

Água destilada estéril

(Fang et al., 2010)

Removal of biofilm from endoscopes: Evaluation of detergent efficiency

Karen Vickery, BVSc, MVSc, PhD, Aniko Pajkos, BSc, and Yvonne Cossart, MB BS, BSc (Med), FRCPA
Sydney, New South Wales, Australia

Table 2. Removal of experimentally generated 6-day biofilm from PVC and Teflon

Detergent	Teflon			PVC	
	Log reduction in <i>E coli</i> counts/cm ²			CFU Log reduction/cm ²	SEM Biofilm % reduction
	Viable CFU	Visual count	SEM Biofilm % reduction		
Matrix dilution					
1:5	4.70	ND	ND	7.21	55
1:12.5	4.70	0.4	60	7.21	60
1:25	4.70	0.33	65	7.21	75
1:50	4.70	0	55	7.21	50
1:100	4.70	ND	ND	7.21	40
Cidezyme	0.21	0.29	0	0.25	0
Medizyme	1.36*	ND	ND	0	0
EndoKleen	ND	ND	ND	0.8	0
3M Epizyme Rapid room temperature 35°C	1.13	0.70	55	0.8	55
	1.57	1.2	50	1.12	60

ND, Not done.

*Sixteen-hour biofilm.

(Vickery et al., 2004)

The effect of multiple cycles of contamination, detergent washing, and disinfection on the development of biofilm in endoscope tubing

Karen Vickery, BVSc, MVSc, PhD,^a Quan-D. Ngo, MB BS,^b Jean Zou, BM, MM, PhD,^b and Yvonne E. Cossart, MB BS, BSc (Med), FRCPA^b
Sydney, Australia

- Experimental – *Pseudomonas aeruginosa*
 - Microscopia eletrônica de varredura
 - 1 detergente com enzimas e 1 detergente sem enzimas
 - 10 minutos – 20o C
 - Desinfecção automatizada: glutaraldeído 2%, 20 minutos
 - 20 ciclos de limpeza e desinfecção
 - Amostras: 5, 10 e 20 ciclos
- (Vickery et al., 2009)

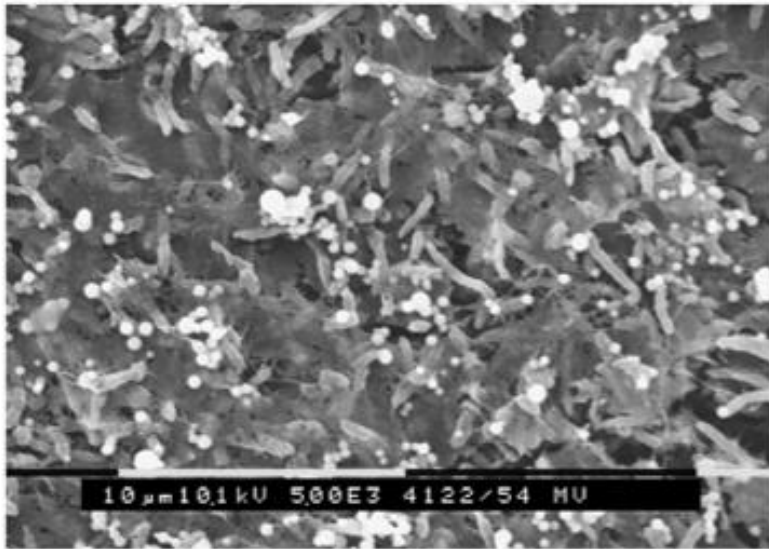
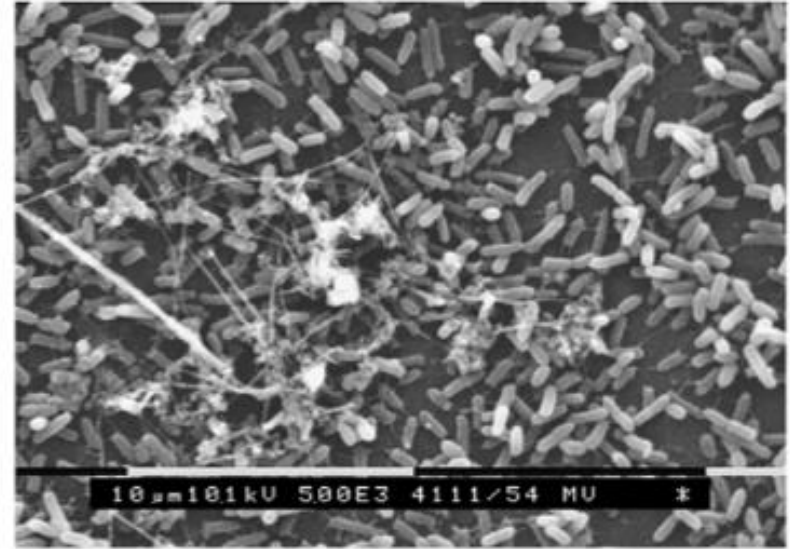
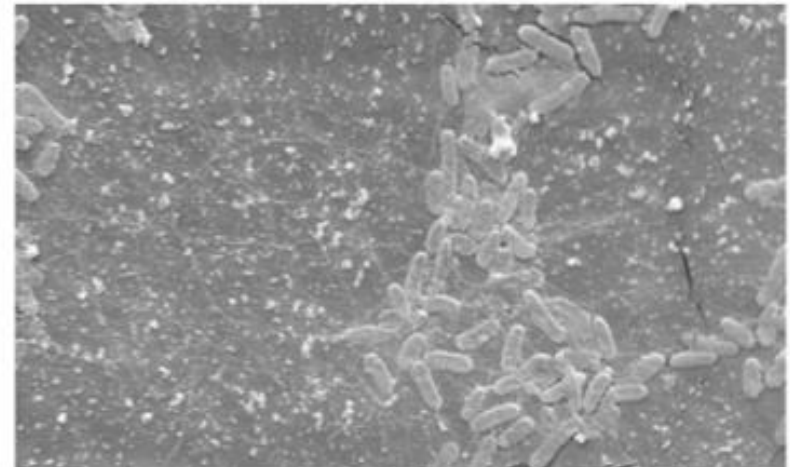
A**B****C****D**

Fig 1. SEM of *P. aeruginosa* biofilm on endoscope tubing after 20 contamination/wash/disinfectant cycles. (A) An example of large patch of multilayered biofilm with lots of cementing EPS, present on all control samples. (B) Multilayered biofilm on control tubing after 20 cycles. (C) Single cells and small patches of 1- or 2-cell-layered biofilm on Medizyme-washed tubing after 20 cycles. (D) Patch of biofilm showing flattened cells on Matrix washed tubing after 20 cycles. Bars = 10 μ m. (Vickery et al., 2009)

Mimicking disinfection and drying of biofilms in contaminated endoscopes

Kovaleva, Degener, Mei, 2010 – Journal of Hospital Infection

- Ácido peracético 1% - 10 minutos
- Biofilme *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *P. aeruginosa* e *S. maltophilia* (1 e 2 espécies)
- Remoção do biofilme
- Se não secar – formação de biofilme

Is bacteriologic surveillance in endoscope reprocessing stringent enough?

Authors

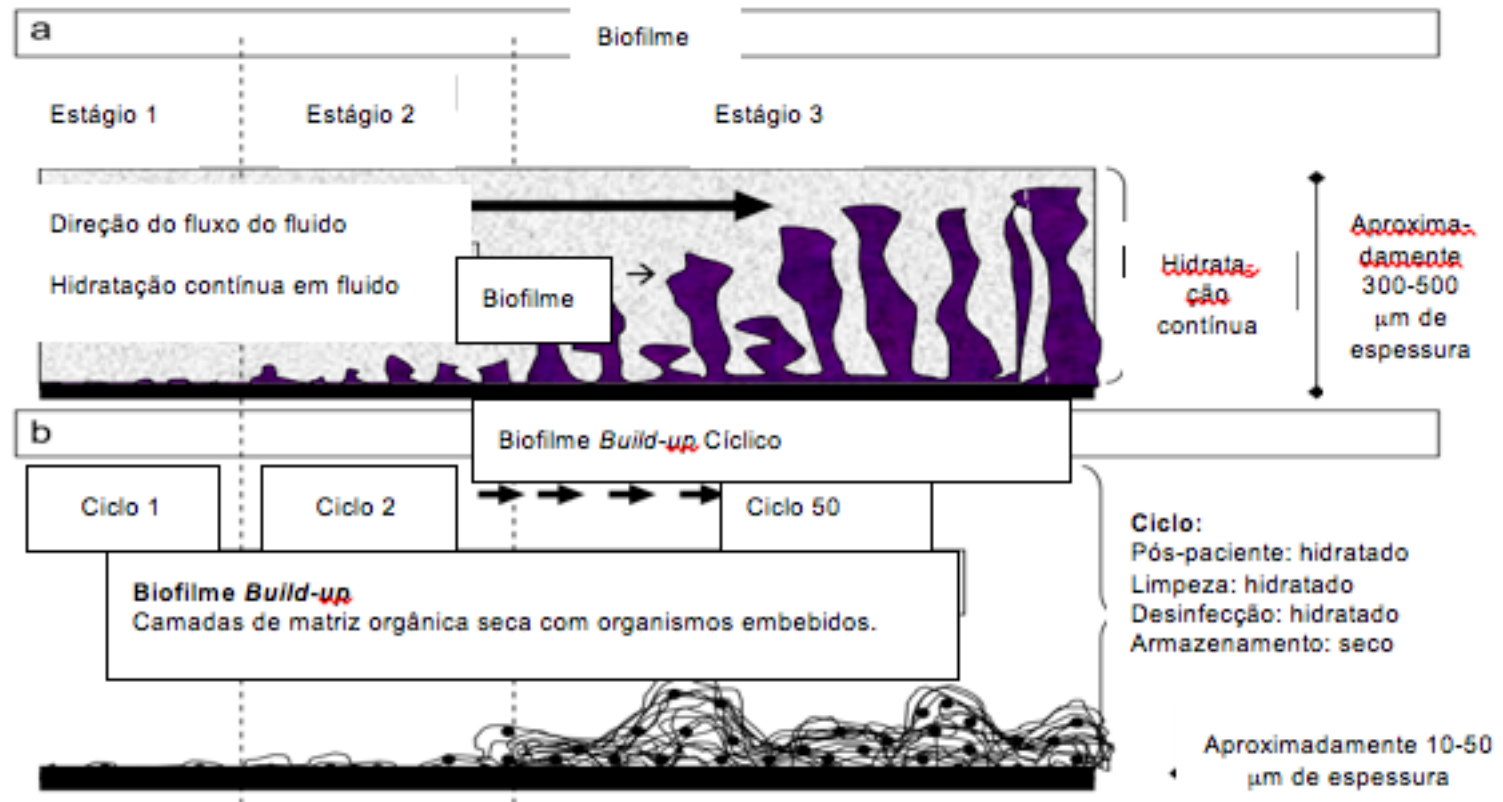
J. Kovaleva¹, N. E. L. Meessen¹, F. T. M. Peters², M. H. Been¹, J. P. Arends¹, R. P. Borgers², J. E. Degener¹

Institutions

¹ Department of Medical Microbiology, University Medical Centre Groningen, University of Groningen, Groningen, The Netherlands

² Endoscopy Centre, University Medical Centre Groningen, University of Groningen, Groningen, The Netherlands

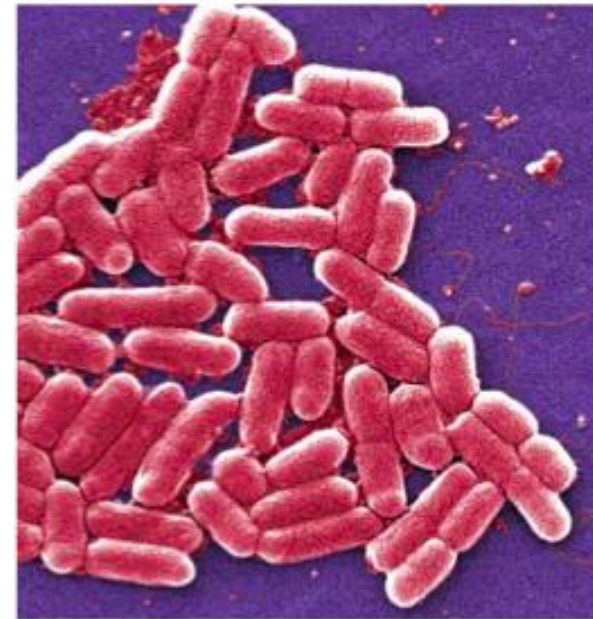
BIOFILME



Fonte: ZHONG *et al.*, 2009 (Ilustração adaptada: tradução do inglês para o português).

Endoscope Implicated in Illinois Infection Outbreak

- Duodenoscópio - ERCP
- 4 meses/2013
- Registro de 9 pacientes
- *Escherichia coli* produtora de New Delhi metallo- β -lactamase (NDM)
- 8/9 do mesmo hospital
- 6/8 realizaram ERCP
- Detecção de NDM e KPC – 1 endoscópio utilizado em 5 pacientes
- Adesão ao protocolo



BIOFILME



OBRIGADA!

mairamarquesribeiro@yahoo.com.br

REFERÊNCIAS

Balsamo AC. Avaliação da eficácia da limpeza e desinfecção de alto nível na remoção do biofilme em canais de endoscópios [tese]. São Paulo (SP): Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2009. Disponível em: <
<http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/7/7139/tde-14052009-102812/pt-br.php>>.
Acesso em: 17 Fev. 2014.

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

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

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

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

Pajkos A, Vickery K, Cossart EY. Is biofilm accumulation on endoscope tubing a contributor to the failure of cleaning and contamination?. *J. Hosp. Infect.* 2004 Nov;58(3):224-9.

REFERÊNCIAS

- Bajolet O, Ciocan D, Vallet C, De Champs C, Vernet-Garnier V, Guillard T. *et al.* Gastroscope-associated transmission of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Hospital Infection*. 2013 Apr;83(4):341-3.
- Vickery K, Pajkos A, Cossart Y. Removal of biofilm from endoscopes: evaluation of detergent efficiency. *Am. J. Infect. Control*. 2004 May;32(3):170-6.
- Zhong W; Alfa MJ, Zelenitsky S; Howie R. Simulation of cyclic reprocessing buildup on reused medical devices. *Computer in Biology and Medicine*. 2009 Jun;39(6):568-77.
- Vickery K, Ngo, Quan-D, Zou J, Cossart YE. The effect of multiple cycles of contamination, detergent washing, and disinfection on the development of biofilm in endoscope tubing. *Am J Infect Control*. 2009 Aug;37(6):470-5
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial Biofilms: A Common Cause of Persistent Infections. *Science*. 1999 May;284(5418):1318-22.
- Stewart,PS. Diffusion in Biofilms. *Journal of Bacteriology*. 2003 Mar; 185(5):1485-91.
- Schierholz JM, Beuth J. Implant infections: a haven for opportunistic bacteria. *Journal of Hospital Infection*. 2001 Oct;49(2):87-93.

REFERÊNCIAS

Wei R, Xiaoyan S, Xi H, Fachae Z, Wenzhi C. *et al.* Evaluation of detergents and contact time on biofilm removal from flexible endoscopes. Am. J. Infect. Control. 2013 Apr;41:e89-e92.