

**ROSIVETE COAN NIEHEUS**

**AUTOCLAVES VERTICAIS: UMA PROPOSTA DE  
SISTEMA PARA GARANTIA DO PROCESSO DE  
ESTERILIZAÇÃO**

**FLORIANÓPOLIS**

**2004**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
EM ENGENHARIA ELÉTRICA**

**AUTOCLAVES VERTICAIS: UMA PROPOSTA DE  
SISTEMA PARA GARANTIA DO PROCESSO DE  
ESTERILIZAÇÃO**

Dissertação submetida à  
Universidade Federal de Santa Catarina  
como parte dos requisitos para a  
obtenção do grau de Mestre em Engenharia Elétrica.

**ROSIVETE COAN NIEHEUS**

Florianópolis, agosto de 2004.

# **AUTOCLAVES VERTICAIS: UMA PROPOSTA DE SISTEMA PARA GARANTIA DO PROCESSO DE ESTERILIZAÇÃO**

**ROSIVETE COAN NIEHEUS**

‘Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Engenharia Elétrica, Área de Concentração em *Engenharia Biomédica*, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica da Universidade Federal de Santa Catarina.’

---

Prof. Fernando Mendes de Azevedo, DSc.  
Orientador

---

Prof. Denizar Cruz Martins, DSc.  
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica

Banca Examinadora:

---

Prof. Fernando Mendes de Azevedo, DSc.  
Presidente

---

Prof. Ana Paula Soares Fernandes, DSc.

---

Prof. Fernanda Isabel Marques Argoud, DSc.

---

Prof. Jefferson Luiz Brum Marques, PhD.

---

Prof. Raimes Moraes, PhD.

## **Agradecimentos**

Um dos gestos mais nobres do ser humano é a gratidão.

A Deus o dom da vida.

Aos meus pais pelo testemunho de persistência diante dos desafios da vida.

Aos colegas pelo companheirismo.

Aos amigos pelo incentivo.

Aos professores da banca examinadora por terem aceitado o convite.

Aos professores do mestrado por partilharem o conhecimento.

Ao professor Fernando Mendes de Azevedo pela maestria dispensada na orientação deste trabalho.

Resumo da Dissertação apresentada à UFSC como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia Elétrica.

## **AUTOCLAVES VERTICAIS: UMA PROPOSTA DE SISTEMA PARA GARANTIA DO PROCESSO DE ESTERILIZAÇÃO**

**Rosivete Coan Nieheus**

Agosto / 2004

Orientador: Fernando Mendes de Azevedo, DSc.

Área de Concentração: Engenharia Biomédica.

Palavras-chave: bactéria, infecção, esterilização, autoclave vertical

Número de Páginas: 63

### RESUMO:

Os microrganismos podem ser agentes causadores de infecções. A fim de prevenir e diminuir os riscos de aquisição de infecções, a esterilização permite descontaminar equipamentos e materiais através da destruição de todas as formas de vida microbiana viáveis.

A esterilização a vapor é um dos processos de descontaminação mais utilizados, podendo ser efetuada através de autoclaves verticais e horizontais. Nestes equipamentos, os microrganismos são destruídos pela ação combinada da temperatura, pressão e umidade.

Um estudo comparativo entre as características de autoclaves verticais e horizontais indica que, nas autoclaves verticais, alguns requisitos mínimos exigíveis para esterilização não são completamente atendidos, sendo estas susceptíveis à recontaminação dos materiais esterilizados, pois não efetuam a secagem dos mesmos após o ciclo de esterilização. Embora as autoclaves horizontais sejam mais eficientes, estas apresentam custos elevados quando comparadas às autoclaves verticais.

Este trabalho apresenta a proposta de um sistema eletro-mecânico de baixo custo adaptável à autoclaves verticais, permitindo garantir o controle da temperatura e pressão necessárias ao ciclo de esterilização, e na secagem dos materiais, sem a intervenção do operador em todas as etapas do processo.

Para assegurar a eficácia da esterilização da autoclave com o sistema eletro-mecânico implementado, testes biológicos foram aplicados antes e posteriormente a adaptação do sistema proposto, indicando que os requisitos necessários a uma esterilização eficiente foram atendidos.

Abstract of Dissertation presented to UFSC as a partial fulfillment of the  
Requirements for the degree of Master in Electrical Engineering.

## **VERTICAL AUTOCLAVES: A SYSTEM PROPOSAL TO ASSURE THE STERILIZATION PROCESS**

**Rosivete Coan Nieheus**

August / 2004

Advisor: Fernando Mendes de Azevedo, DSc.  
Area of Concentration: Biomedical Engineering.  
Keywords: bacteria, infection, sterilization, vertical autoclave.  
Number of Pages: 63

### **ABSTRACT:**

Microorganisms are agents that can cause infections. In case to prevent and reduce the risks of acquisition of infections the sterilization allows to decontaminate equipments and materials through the destruction of all forms of microbial life.

Steam sterilization is the most used decontamination process and can be made through vertical and horizontal autoclaves. In these equipments, microorganisms are destroyed by the combined action of temperature, pressure and humidity.

A comparative study among the characteristics of vertical and horizontal autoclaves indicates that in vertical autoclaves some demandable minimum requirements for sterilization are not completely assisted, making them susceptible to contaminate the materials after the sterilization process because they don't dry the same ones. Horizontal autoclaves are more efficient and more expensive when compared to the vertical autoclaves.

This work proposes a low cost eletro-mechanical system to be adapted to the vertical autoclaves, allowing the guarantee the control of the drying of the materials and necessaries temperature and pressure to the sterilization cycle without the intervention of the operator in all stages of the process.

Biological tests were applied before and after the adaptation of the eletro-mechanical system to the vertical autoclave indicating that the necessary requirements to an efficient sterilization were assisted.

# SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>ix</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>xi</b>
<b>ACRÔNIMOS.....</b>	<b>xii</b>
<b>CAPÍTULO 1.....</b>	<b>1</b>
<b>1 Introdução.....</b>	<b>1</b>
1.1 Esterilização.....	2
1.2 Morte Microbiana.....	4
1.3 Equipamentos para a Esterilização.....	6
1.3.1 Custos de autoclaves verticais e horizontais.....	7
1.4 Objetivo geral.....	7
1.5 Objetivos específicos.....	8
1.6 Justificativa.....	9
<b>CAPÍTULO 2.....</b>	<b>10</b>
<b>2 Esterilização.....</b>	<b>10</b>
2.1 Ciclo de vida da bactéria.....	10
2.1.1 Morte térmica da bactéria.....	10
2.1.2 Calor e umidade.....	11
2.2 Autoclaves.....	11
2.2.1 Autoclave Vertical.....	12
2.2.2 Autoclave Horizontal.....	12
2.2.3 Causas de Esterilização Ineficiente.....	13
2.3 Programa de monitorização para controle de qualidade de esterilização.....	14
<b>CAPÍTULO 3.....</b>	<b>17</b>
<b>3 Normas Técnicas Para Autoclaves.....</b>	<b>17</b>
3.1 Condições Gerais.....	17
3.2 Características de Funcionamento.....	18
3.3 Material e Manufatura.....	18
3.4 Local de Montagem.....	21

3.5 Condições de Operação .....	21
3.6 Aceitação e Rejeição.....	22
3.7 Comparação entre as Autoclaves Vertical e Horizontal .....	23
<b>CAPÍTULO 4 .....</b>	<b>25</b>
<b>4 Testes aplicáveis na validação da esterilização .....</b>	<b>25</b>
4.1 Indicadores biológicos .....	25
4.2 Tipos de indicadores biológicos .....	26
4.2.1 Testes de cultura .....	26
4.2.2 Indicador Biológico Sportest.....	27
4.2.3 Indicador Biológico Auto-Contido ATI-Test.....	27
4.3 Indicadores químicos .....	28
4.3.1 Indicadores de esterilização.....	28
4.3.2 Indicadores de processo.....	29
4.3.3 Fita Adesiva Tecil.....	29
4.3.4 Folhas de Teste Bowie & Dick Diatest-Tecil.....	29
4.4 Modelo semilogarítmico para curvas de sobreviventes.....	30
4.4.1 Crescimento microbiano.....	32
4.5 Técnicas microbiológicas .....	33
4.5.1 Isolamento .....	33
4.5.2 Semeadura em superfície.....	34
4.5.3 Contagem direta por microscopia.....	34
<b>CAPÍTULO 5 .....</b>	<b>35</b>
<b>5 Desenvolvimento .....</b>	<b>35</b>
5.1 Operação de autoclaves verticais.....	35
5.2 Sistema proposto.....	41
5.3 Diagrama elétrico.....	42
5.3.1 Acionamento e proteção .....	43
5.3.2 Temporização e controle .....	44
5.3.3 Pré-aquecimento e esterilização .....	45
5.3.4 Expurgo .....	46
5.3.5 Secagem.....	47
5.4 Teste de validação.....	48



5.4.1 Teste de cultura.....	48
5.5 Resultados do teste de cultura para a autoclave vertical e o sistema proposto.....	52
<b>CAPÍTULO 6 .....</b>	<b>54</b>
<b>6 Conclusões e Discussões .....</b>	<b>54</b>
6.1 Discussões.....	54
6.2 Conclusões.....	55
6.3 Trabalhos Futuros .....	56
<b>7 GLOSSÁRIO .....</b>	<b>59</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>61</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 - Indivíduo contaminado por bactérias.....	3
Figura 1.2 - Bactérias do tipo <i>Escherichia coli</i> e <i>Pseudomonas aeruginosas</i> . ....	5
Figura 2.1 - Curva de morte térmica para microrganismos.....	11
Figura 2.2 - Autoclaves verticais.....	12
Figura 2.3 - Autoclaves horizontais.....	13
Figura 4.1 - Indicadores de esterilização.....	28
Figura 4.2 - Indicador de processo. ....	29
Figura 4.3 - Folhas de Teste Bowie & Dick Diatest-Tecil. ....	30
Figura 4.4 - Curva de sobrevivente. ....	31
Figura 5.1 - Autoclave vertical.....	36
Figura 5.2 - Câmara da autoclave vertical.....	36
Figura 5.3 - Cesto da autoclave vertical.....	37
Figura 5.4 - Manômetro e válvula de segurança da autoclave vertical. ....	38
Figura 5.5 - Resistências da autoclave vertical.....	38
Figura 5.6 - Registro de escoamento. ....	39
Figura 5.7 - Ciclo de esterilização de autoclaves verticais.....	39
Figura 5.8 - Operação da autoclave vertical.....	40
Figura 5.9 - Fluxo de execução do processo de esterilização do sistema proposto.....	41
Figura 5.9 - Interligação dos componentes do sistema desenvolvido.....	42
Figura 5.10 - Módulos do sistema desenvolvido.....	43
Figura 5.11 - Montagem do pressostato de segurança.....	44
Figura 5.12 - Timer.....	45
Figura 5.13 - Válvula de expurgo do sistema proposto.....	46
Figura 5.14 - Resistência externa. ....	47

Figura 5.15 - Colônia de bactérias de <i>Echerichia coli</i> . .....	49
Figura 5.16 - Cepas de bactérias em balões de vidro. ....	50
Figura 5.17 - Placas de Petri contendo bactérias semeadas. ....	50
Figura 5.18 - Placas de Petri contendo bactérias na geladeira. ....	51

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1.1 - Custos de autoclaves verticais para diferentes capacidades.....	7
Tabela 1.2 - Custos de autoclaves horizontais para diferentes capacidades.....	7
Tabela 3.1 - Requisitos mínimos para esterilização. ....	23
Tabela 5.1 - Teste de cultura para autoclave vertical .....	52
Tabela 5.2 - Teste de cultura para o sistema proposto.....	53

## ACRÔNIMOS

APECIH	Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar
AS	Ágar Sangue
BHI	Brain Heart Infusion (infusão de cérebro e coração)
CME	Centro de Materiais Estéreis
EPI	Equipamento de Proteção Individual
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial da Saúde

# CAPÍTULO 1

## 1 Introdução

Nas últimas décadas, tem-se vivenciado avanços científicos e tecnológicos na assistência à saúde. Paralelamente, são atendidos nos hospitais indivíduos com patologias cada vez mais graves que requerem terapêutica altamente agressiva e invasiva. Ao mesmo tempo que se têm obtido excelentes resultados terapêuticos, também tem-se observado um aumento dos riscos reais de aquisição de infecções.

A infecção hospitalar é qualquer infecção adquirida após a internação do paciente e que se manifesta durante a internação ou mesmo após a alta. As infecções hospitalares podem ser classificadas como endógenas, isto é, quando os agentes causadores de infecção estão presentes no próprio indivíduo, ou exógenas, quando os microrganismos são provenientes de equipamentos, artigos hospitalares, pessoal de saúde e, eventualmente, alimentos, água ou outras fontes ambientais. As infecções hospitalares no Brasil são a quarta causa de mortalidade, sendo um dos principais problemas encontrados a nível hospitalar que provoca graves repercussões econômicas e sociais (Costa, et al., 1990).

As infecções de origem exógena merecem atenção dos profissionais da área da saúde. A não observância das boas práticas de prevenção de infecção hospitalar e falhas no processamento de artigos hospitalares são os principais responsáveis pelas infecções de origem exógenas. Os artigos inadequadamente limpos, desinfetados ou esterilizados podem se tornar uma fonte de contaminação aumentando o risco de aquisição de seres patogênicos, tanto para o paciente como para o profissional da área de saúde (Stanier et al., 1969).

A OMS aponta as principais razões pelas quais algumas doenças infecciosas não são controladas/erradicadas, como sendo:

- Disseminação da pobreza;
- Crescimento populacional desordenado;
- Aumento das concentrações urbanas;

- Degradação ambiental (desmatamento desenfreado, mudanças ecológicas, expondo o ser humano a um contato mais freqüente com os agentes transmissores);
- Globalização das economias;
- Aumento das viagens internacionais;
- Resistência a antibióticos.

A esterilização é a completa eliminação ou destruição de todas as formas de vida microbiana viáveis, podendo ser realizada por meio de processos físicos ou químicos (Rutala, 1997). As formas microbianas de vida consideradas mais resistentes a processos físicos e químicos e que podem ser manuseadas laboratorialmente são os esporos bacterianos. Portanto, os esporos são utilizados para estabelecer parâmetros para os processos de esterilização.

Um dos processos físicos de esterilização mais utilizados é a esterilização a vapor, sendo considerado eficiente na morte térmica das bactérias (NBR 9804), podendo ser efetuada por autoclave vertical ou horizontal. As autoclaves horizontais possuem custo elevado em relação as autoclaves verticais, contudo seu ciclo de esterilização dispensa a intervenção do operador, atendendo os requisitos mínimos para esterilização eficiente de materiais.

Assim, este capítulo contextualiza o uso das autoclaves no processo de esterilização, apresentando também o objetivo e as justificativas para o desenvolvimento deste trabalho. No final do capítulo é mostrada a organização do trabalho para os capítulos subseqüentes.

## **1.1 Esterilização**

Com a introdução da anestesia em 1842 por Long e em 1846 por Morton, as cirurgias eletivas começaram a surgir, pois até esta época os procedimentos cirúrgicos realizados eram principalmente os executados em período de guerras. Assim, ocorreu um aprimoramento nas técnicas e procedimentos cirúrgicos, porém a mortalidade por infecção de ferida era muito alta. A descoberta das bactérias como causadoras de doenças foi uma das principais descobertas da clínica médica (De Carli, 2001). A Figura 1.1 mostra o corpo de um indivíduo contaminado por bactérias.



Figura 1.1 - Indivíduo contaminado por bactérias.

As observações realizadas antes do século XIX verificavam que pessoas sadias ficavam doentes se entravam em contato mais íntimo com uma pessoa doente, especialmente em ambiente hospitalar.

Na metade do século XVI, Girolamo Fracastoro publicou "De Contagione", delineando a transmissão de doenças através do contato direto, da manipulação de pertences de pessoas infetadas ou através de transmissão a distância. A importância de limpeza, particularmente a lavagem das mãos, começou a ser especulada.

No final do século XVII, no Hospital Manchester Lying, os médicos Charles White e Thomas Kirkland tentaram implantar controles de engenharia, limpeza e ventilação adequados para os pacientes. Vários anos depois, no Hospital de Rotunda em Dublin, Robert Collins introduziu o tratamento com calor para as roupas de cama, o que resultou em uma diminuição das infecções.

A influência de microbiologia começou a ser sentida em meados do século XVII quando foram descritos organismos muito pequenos para serem vistos a olho nu.

Em 1861, quando Louis Pasteur demonstrou que a putrefação é uma fermentação causada pelo crescimento de microrganismos, que a doutrina de geração espontânea foi finalmente contestada. Os cientistas perceberam que havia uma analogia entre a fermentação dos experimentos de Pasteur e o processo de putrefação que se dava após amputação dos membros.



Em 1877, John Tyndall, um físico inglês, reconheceu a forma calor-resistente das bactérias, o esporo, e desenvolveu métodos de esterilização para lidar com isto. O bacteriologista francês e colaborador de Louis Pasteur, Charles Chamberland, construiu o primeiro esterilizador a vapor em 1880. Semelhante a um "fogão de pressão", ficou conhecido como a "Autoclave de Chamberland". Em 1880, Robert Koch descobriu o uso de culturas sólidas, as bactérias isoladas em colônias puras e as associou com doenças específicas.

A esterilização fundamentada com base científica é uma tecnologia recente (Vessoni, 1997), datando de 1993, tendo como marco a construção de uma autoclave com temperatura e pressão controladas durante o processamento. Até então, as máquinas esterilizadoras eram operadas tendo a pressão como único indicador de controle, sem considerar os outros parâmetros do processo.

## 1.2 Morte Microbiana

Os microrganismos podem ser classificados de acordo com sua patogenicidade, podendo assim serem considerados patogênicos ou não patogênicos.

Os organismos unicelulares podem ter algumas ou todas suas atividades biológicas suspensas por um longo período de tempo, o que impossibilita a avaliação por alteração das atividades fisiológicas, da morte destes organismos. Esta suspensão nas atividades dos microrganismos pode ocorrer quando as bactérias formam esporos ou ainda quando a célula bacteriana é seca ou congelada, assim elas perdem suas atividades biológicas mas mantêm a capacidade de reprodução em ambiente adequado (Trabulsi et al., 2004).

O esporo bacteriano é a forma microbiana mais resistente aos agentes esterilizantes, sendo utilizado como parâmetro para o estudo microbiológico da esterilização. Um microrganismo é considerado morto se não formar colônia em nenhum meio de cultura (Costa, 1980).

A Figura 1.2a mostra bactérias do tipo *Escherichia coli* e a Figura 1.2b apresenta bactérias do tipo *Pseudomonas aeruginosa*.

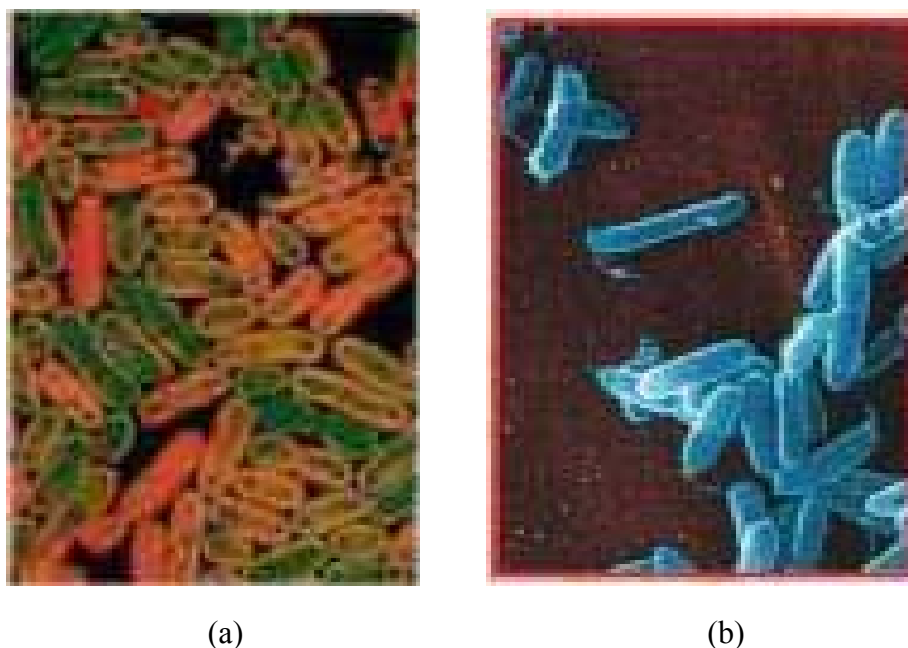


Figura 1.2 - Bactérias do tipo *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*s.

A prática da esterilização visa a incapacidade de reprodução de todos os organismos presentes no material a ser esterilizado, causando a morte microbiana até que a probabilidade de sobrevivência do agente contaminante seja menor que 1:1.000.000, quando um objeto pode então ser considerado estéril (Costa, 1990). Um dos avanços na prática da esterilização é a compreensão de que os microrganismos submetidos a maioria dos processos de esterilização não morrem todos ao mesmo tempo, mas de uma forma progressiva.

A esterilidade ou nível de segurança é a incapacidade de desenvolvimento das formas sobreviventes ao processo de esterilização, durante a conservação e utilização de um produto. A manutenção do nível de esterilidade conferido a um produto garante o prolongamento da sua vida útil de prateleira e depende das operações de pré-esterilização, da esterilização e pós-esterilização.

Os métodos de esterilização permitem assegurar níveis de esterilidade compatíveis às características exigidas em produtos farmacêuticos (United, 1990), médico-hospitalares e alimentícios, sendo o método escolhido dependente da natureza e da carga microbiana inicialmente presente no item considerado.

### 1.3 Equipamentos para a Esterilização

O projeto e fabricação de esterilizadores a vapor tem sido desenvolvido consideravelmente nos últimos 40 anos. Existem dois modelos básicos, sendo as autoclaves verticais e as autoclaves horizontais. Estas constituem-se basicamente de uma câmara em aço inox, com uma ou duas portas, possui válvula de segurança, manômetros de pressão e um indicador de temperatura.

Nas autoclaves verticais o ar é removido por gravidade, assim quando o vapor é admitido na câmara, o ar no interior desta, que é mais frio (mais denso), sai por uma válvula na superfície inferior da câmara. Pode ocorrer a permanência de ar residual neste processo, sendo a esterilização comprometida principalmente para materiais densos ou porosos. Estas autoclaves não são adequadas pois dificultam a circulação do vapor, a drenagem do ar e a penetração do vapor devido à distribuição dos pacotes a serem esterilizados, que ficam sobrepostos.

Nas autoclaves horizontais o ar é removido pela formação de vácuo, antes da entrada do vapor, assim quando este é admitido, penetra instantaneamente nos pacotes a serem esterilizados. Este tipo de autoclave possui paredes duplas, separadas por um espaço onde o vapor circula para manter o calor na câmara interna durante a esterilização (Costa, 1990).

A eficácia da esterilização pode ser afetada pela capacidade de penetração do agente esterilizante por meio, tanto da embalagem, quanto das estruturas dos artigos, bem como pelo desempenho do equipamento. Além disto, não basta garantir a eficácia do processo, são necessárias medidas que evitem a recontaminação do artigo após o processamento, seja no armazenamento e transporte ou durante a manipulação.

Para a esterilização o tipo de vapor utilizado é o vapor saturado seco, uma vez que o vapor úmido tem um excesso de água que torna úmidos os materiais dentro da esterilizadora; já o vapor super aquecido é deficiente de umidade necessária para a esterilização. O vapor saturado seco é capaz de circular por convecção permitindo sua penetração em materiais porosos.

A produção do vapor utilizado na esterilização também requer alguns cuidados com a água utilizada para a produção do vapor, pois esta deve estar livre de contaminantes em concentração que possa interferir no processo de esterilização, danificar o aparelho ou os produtos a serem esterilizados.

### 1.3.1 Custos de autoclaves verticais e horizontais

Esta seção apresenta um levantamento de custos referente aos tipos de autoclaves encontrados no mercado para diferentes capacidades. A Tabela 1.1 e a Tabela 1.2 mostram os custos para as autoclaves do tipo vertical e horizontal, respectivamente.

Tabela 1.1 - Custos de autoclaves verticais para diferentes capacidades.

<b>Capacidade (em litros)</b>	<b>Custo (em Reais)</b>
18 L	R\$ 1.900,00
30 L	R\$ 2.200,00
50 L	R\$ 2.800,00
75 L	R\$ 3.450,00
225 L	R\$ 7.500,00

Tabela 1.2 - Custos de autoclaves horizontais para diferentes capacidades.

<b>Capacidade (em litros)</b>	<b>Custo (em Reais)</b>
21 L	R\$ 4.100,00
42 L	R\$ 5.800,00
54 L	R\$ 9.345,00
76 L	R\$ 11.655,00
200 L	R\$ 40.000,00

Fonte: [www.fanem.com.br](http://www.fanem.com.br).

### 1.4 Objetivo geral

Implementar um novo sistema de baixo custo, que melhore o desempenho dos equipamentos (autoclaves verticais), fazendo com que realmente este equipamento esterilize e seque o material de forma a atender os requisitos mínimos exigíveis no processo de esterilização.

## 1.5 Objetivos específicos

Este trabalho tem por objetivos específicos:

- Estudar as autoclaves verticais e horizontais, propondo um sistema que modifique as características da autoclave vertical.
- Revisar as normas técnicas brasileiras com o intuito de propor uma adaptação dos requisitos mínimos exigíveis normatizados aplicáveis à esterilização das autoclaves horizontais nas autoclaves verticais.
- Revisar os tipos de testes que podem ser utilizados para avaliar a eficiência da esterilização.
- Propor um sistema eletro-mecânico que modifique as características da autoclave vertical, executando as etapas do processo de esterilização sem a intervenção do operador.
- Aplicar testes bacteriológicos na autoclave vertical e também no sistema proposto de forma a validar a eficiência do mesmo, comprovando a hipótese que a autoclave vertical não atende totalmente os requisitos exigíveis para a esterilização de materiais.

A estrutura desta dissertação segue praticamente o delineamento dos objetivos específicos apresentados acima, no que se constitui o Capítulo 1.

No Capítulo 2 será apresentado o problema da esterilização, ou seja, conceito, tipos, modelos de equipamentos. O Capítulo 3 abordará uma revisão das normas técnicas que regem os problemas da esterilização das autoclaves. Ainda neste capítulo, como uma primeira contribuição deste trabalho, serão propostas possíveis adaptações de normas técnicas das autoclaves horizontais, para as verticais.

O Capítulo 4 apresenta os testes que podem ser aplicados na verificação da eficiência da esterilização por meio das autoclaves verticais e horizontais.

O Capítulo 5 apresenta uma proposta de modificação de autoclaves verticais, através da utilização de um sistema eletro-mecânico que, conforme será mostrado posteriormente, deverá executar as etapas do processo de esterilização dispensando a intervenção do operador, garantindo a secagem dos materiais. Também será mostrado em detalhes o sistema eletro-mecânico de baixo custo que consiste na terceira contribuição

deste trabalho, juntamente com os testes biológicos realizados na autoclave vertical sem o sistema proposto e após a implementação do sistema.

Finalizando o trabalho, no capítulo 6 apresentam-se as principais conclusões e sugestões de futuros trabalhos.

## **1.6 Justificativa**

A efetividade das modernas unidades de saúde dependem, em parte, da monitoração e segurança dos processos de esterilização. Para tal é imprescindível que os equipamentos de esterilização utilizados atendam as exigências da norma NBR 9804.

Visando construir um sistema versátil, a implementação do sistema eletromecânico se justifica por apresentar baixo custo otimizando o uso de autoclaves verticais. O ciclo de operação do sistema implementado dispensa a intervenção do operador, atendendo os requisitos mínimos para esterilização eficiente de materiais. Estes requisitos são contemplados somente nas autoclaves horizontais, contudo estas apresentam custo elevado (seção 1.3.1) quando comparadas as autoclaves verticais.

Pretende-se desta forma contribuir para uma melhor prestação de serviços em saúde no Brasil.

# CAPÍTULO 2

## 2 Esterilização

O objetivo da esterilização é destruir completamente todos os organismos vivos, incluindo esporos e vírus, os quais podem estar presentes nos materiais a serem esterilizados. O processo deve destruir ou matar todos os microrganismos, pois não existem materiais quase estéreis ou parcialmente estéreis. Todos os microrganismos e seus esporos devem ser destruídos para assegurar a esterilização (NBR-ISO 11134 - Esterilização de produtos hospitalares).

Existem atualmente em uso uma série de métodos de esterilização, sendo o mais comum a esterilização à vapor, pois ainda é considerado o método mais eficiente (NBR – ISO 11134 - Esterilização de produtos hospitalares).

### 2.1 Ciclo de vida da bactéria

As bactérias no seu estado ativo podem ser facilmente destruídas por um método correto de esterilização. A forma esporulada é um mecanismo protetor através do qual a bactéria é capaz de permanecer latente por um grande período de tempo. Neste estado ela pode sobreviver às condições nas quais morreria rapidamente em seu estado ativo. Entretanto, quando estes esporos são colocados novamente em uma condição favorável para seu desenvolvimento, eles tornam-se bactérias ativas. Para que a esterilização seja um processo absoluto é necessário conhecer o ciclo de vida das bactérias e as condições necessárias à sua destruição, bem como de seus esporos.

#### 2.1.1 Morte térmica da bactéria

Os dois fatores principais de esterilização que devem ser medidos quando do uso de vapor saturado são a temperatura do vapor e o tempo de exposição.

A Figura 2.1 mostra a curva de morte térmica para a destruição de microrganismos. Acréscimos na temperatura de exposição implicam na redução do tempo do ciclo de esterilização. De acordo com a Norma NBR 9804 a temperatura do vapor na

câmara de esterilização das autoclaves deve corresponder de 121°C para 110 kPa a 127°C para 150 kPa.



Figura 2.1 - Curva de morte térmica para microrganismos.

Para o caso da esterilização cirúrgica, é recomendado um mínimo de 12 minutos de exposição direta ao vapor à 121°C, sendo na prática utilizados padrões maiores de exposição direta, de forma a garantir a esterilização (Russel, 1982).

### 2.1.2 Calor e umidade

Para que a destruição dos microrganismos seja absoluta, o processo de esterilização a vapor deve permitir o controle do calor, umidade e temperatura. O calor pode matar prontamente as bactérias mas, além disso, é necessário que o vapor circule por convecção, de forma a penetrar nos objetos porosos (Rutala, 1997).

## 2.2 Autoclaves

Autoclaves são aparelho que mediante a aplicação do vapor, sob pressão superior a atmosférica, tem por finalidade obter a esterilização (NBR 9804).



### 2.2.1 Autoclave Vertical

Na autoclave vertical (Figura 2.2) o ar dentro dos pacotes e da câmara interna é removido por gravidade. A colocação de água na câmara é feita de forma manual. Ao injetar vapor na câmara de esterilização, o ar sendo mais denso é removido para baixo pelo próprio vapor e, através de uma válvula de drenagem, é deslocado para fora (NBR 9804). É um processo lento e que favorece a presença e permanência do ar residual (NBR ISO 11.134), (Norma ISO 11.134 –1).

Os modelos convencionais de autoclaves verticais operam com temperaturas de 121°C para 1 kPa e 127°C para 1,5 kPa. A principal limitação para seu uso é o longo tempo necessário para esterilização e a não secagem do material após o ciclo de esterilização.



Figura 2.2 - Autoclaves verticais

### 2.2.2 Autoclave Horizontal

Na autoclave horizontal o ar é removido previamente, com formação de vácuo por meio de uma bomba de vácuo que deve ter uma capacidade suficiente e adequada, dependendo do tamanho da câmara. O vácuo pode ser obtido por meio de formação de um único pulso (alto-vácuo) ou por meio de seguidas entradas e saídas de vapor em

temperaturas mais baixas que a temperatura do processo. Em média são dados de 3 a 5 pulsos de pressurização, sendo que esta variação depende da potência da bomba de vácuo e da qualidade do vapor.

As autoclaves horizontais operam com temperaturas de 121°C para 1 kPa e 127°C para 1,5 kPa. O alto-vácuo reduz o tempo necessário para processamento e penetração mais rápida do vapor nos materiais a esterilizar. Os materiais são aquecidos por tempo menor e, conseqüentemente, os danos aos materiais e tempo de secagem são reduzidos. Uma desvantagem neste modelo é a possibilidade de mau funcionamento na bomba de vácuo, o que pode causar a existência de bolsas de ar nos pacotes. O vapor não penetra nas regiões do pacote aonde haja bolsas de ar.



Figura 2.3 - Autoclaves horizontais.

### 2.2.3 Causas de Esterilização Ineficiente

As causas de falhas na esterilização são decorrentes de eventuais problemas no funcionamento do esterilizador ou erro na técnica de esterilização. A análise das falhas requer um exame minucioso em todas as partes do esterilizador, dos procedimentos de

empacotamento, carga ou técnicas utilizadas (International Federation of the pharmaceutical industries, 1989). Alguns dos problemas mais comuns seguem listados abaixo:

- **Carga Incorreta do Esterilizador:** os pacotes nunca devem ser empilhados um sobre o outro, nem tocar quaisquer das paredes da câmara e as prateleiras devem ser vazadas. Como regra geral, colocar todos os potes no esterilizador de maneira que caso contenham água, ela escorra para fora e que o vapor possa circular entre os pacotes.
- **Ar no esterilizador:** a presença de ar na câmara interna retarda a penetração do vapor nos pacotes, sendo a mistura resultante de ar e vapor menos efetiva como agente esterilizante. Como o ar é um mal condutor de calor, uma pequena porção de ar presente no esterilizador aumentará substancialmente o tempo necessário para a penetração do calor no pacote a esterilizar. As autoclaves horizontais são equipadas com válvula de expurgo de ar e condensado, enquanto as autoclaves verticais não possuem tal válvula.
- **Vapor úmido:** ocorre normalmente no começo do ciclo de esterilização reduzindo a efetividade do vapor. A não secagem do material favorece a contaminação pelos microrganismos transportados pelo ar.

### 2.3 Programa de monitorização para controle de qualidade de esterilização

As técnicas corretas de esterilização são essenciais para a destruição de microrganismos e esporos bacterianos. A normalização das técnicas de esterilização são um aspecto importante no controle de infecções, sendo uma responsabilidade do centro de materiais esterilizados (CME). Os técnicos bem treinados são essenciais para o sucesso de qualquer programa de controle de infecções, porque eles têm a responsabilidade diária no empacotamento, processamento e monitorização das cargas.

A padronização de rotinas técnicas é necessária para permitir a uniformização das atividades do CME. A existência de rotinas e procedimentos escritos para a prática de descontaminação e esterilização, e relatórios de performance das atividades do CME, devem atender os principais requisitos de controle (APECIH, 1998), como segue:

- Cada item ou pacote a ser utilizado como um produto estéril deve ter uma etiqueta/identificação para o controle do lote de esterilização.
- Para cada ciclo deve-se manter um registro com as seguintes informações:
  - a) Número de lote;
  - b) Conteúdo geral do lote ou carga (pacote, tecido, instrumentos, etc.);
  - c) Tempo de exposição;
  - d) Temperatura de exposição;
  - e) Nome/inicial do operador;
  - f) Resultados do teste biológico, caso tenha sido feito;
  - g) Resultados do indicador químico colocado no pacote de teste, caso tenha sido feito;
  - h) Quaisquer relatórios não concluídos ou com falhas de respostas de indicadores químicos encontrados posteriormente na carga.
- Cada item a ser utilizado como estéril deve ter uma etiqueta com o prazo de expiração da validade da esterilização.
- Instrumentos mecânicos como registradores de tempo, temperatura ou pressão bem como os manômetros e termômetros devem ser monitorados durante os ciclos, e os registros dos dados devem ser mantidos.
- Indicadores internos podem ser posicionados no interior de cada pacote a ser esterilizado, na região de mais difícil acesso de agente esterilizante.
- Indicadores externos, como fitas adesivas indicadoras ou etiquetas devem estar em todos os pacotes de produtos estéreis distribuídos pelo hospital.
- Pacotes de testes contendo indicadores biológicos devem ser utilizados durante os testes após a instalação dos esterilizadores e sempre que grandes consertos/reformas tenham sido feitos nos equipamentos.
- Pacotes contendo indicadores biológicos devem ser utilizados rotineiramente nas cargas dos esterilizadores no mínimo semanalmente.
- Cada carga contendo implantáveis deve ser monitorada; sempre que possível, os implantáveis devem ser mantidos em quarentena até o resultado final do teste biológico.
- Indicadores biológicos devem também ser utilizados para garantia periódica da qualidade dos ciclos de esterilização aplicados aos produtos.

- Todos os esterilizadores a vapor devem ser biologicamente testados por ocasião da instalação e rotineiramente.
- Teste de ar residual deve ser feito a cada dia que o esterilizador for utilizado, antes do primeiro ciclo para determinar a eficiência do sistema de pré-vácuo do esterilizador.

# CAPÍTULO 3

## 3 Normas Técnicas Para Autoclaves

O objetivo deste capítulo é revisar as normas técnicas que fixam condições mínimas exigíveis para a secagem e a esterilização eficiente de materiais sem a recontaminação microbiana.

Vale salientar que nas normas técnicas NBR 9804 - Autoclave hospitalar, EB-2115 - Esterilização-Esterilizadores a vapor-Esterilizadores grandes - Requisitos, NBR 11817 - Esterilização-Esterilizador a vapor-Esterilizadores pequenos - Requisitos, NBR ISO 11134 - Esterilização de produtos hospitalares - Requisitos para validação e controle de rotina - Esterilização por calor úmido, encontradas na pesquisa bibliográfica, a norma NBR 9804 refere-se apenas às autoclaves horizontais.

Há também uma descrição dos requisitos mínimos desta norma, visando sua adaptação ao processo de esterilização e secagem para autoclaves verticais. Para tal, ao final deste capítulo, um estudo comparativo aponta as diferenças entre as autoclaves vertical e horizontal.

### 3.1 Condições Gerais

A seguir são especificadas as condições gerais para autoclaves:

- As autoclaves de funcionamento com gerador de vapor próprio, acoplado ou não ao corpo principal, devem ter aquecimento elétrico, ou outras fontes de geração de vapor, como combustível líquido, gasoso, ou conforme especificações do usuário.
- A instrumentação relativa a comandos e controles devem ficar em lugar visível e de fácil manuseio.
- A autoclave deve ser fornecida acompanhada de instruções impressas para seu uso, devendo trazer em lugar visível e indelével uma placa identificativa contendo, pelo menos, as seguintes indicações:

- a) nome e endereço do fabricante;
- b) ano do fim da construção da autoclave;
- c) número de ordem, dado pelo fabricante da autoclave;
- d) temperatura máxima admissível do vapor, quando superaquecido.

### **3.2 Características de Funcionamento**

As características de operação para autoclaves de acordo com a norma NBR 9804 devem ser:

- As autoclaves convencionais devem funcionar sob pressão efetiva de vapor saturado de 110 kPa a 150 kPa na câmara de esterilização correspondendo de 121°C a 127°C de temperatura. As autoclaves rápidas com sistema mecânico ou remoção de ar, de 200 kPa a 220 kPa correspondendo de 133°C a 135°C.
- Tempo de exposição pode ser contado automaticamente ou manualmente, dependendo do material e da temperatura escolhida para esterilização, após a câmara de esterilização atingir tal valor na parte mais fria.
- Na autoclave, a saída de vapor condensado e de ar, da câmara interna, ou seja a drenagem, deve ser pela parte inferior oposta ao lado que é injetado o vapor.
- As autoclaves podem ser construídas com comandos automáticos ou manuais.

### **3.3 Material e Manufatura**

Quanto aos seus aspectos construtivos, as autoclaves devem apresentar as seguintes características:

- A câmara interna e a câmara externa que a envolve, devem ser soldadas entre si de tal forma que o bloco compacto resista, no mínimo, ao dobro da pressão máxima de trabalho permitida da autoclave.

- O corpo principal da autoclave, ou seja, a câmara interna e externa, deve ser construída com material resistente à pressão de vapor saturado, ensaiado a uma pressão hidrostática igual ao dobro da pressão de trabalho, e processos que dificultem o desgaste através da corrosão. Comumente são utilizadas chapas de aço inoxidável classe 300 (NBR 5601 ou aço 1010/1020, NBR 6006), eventualmente protegidas com material resistente ao processo.
- A câmara interna e externa que a envolve, devem ser soldadas entre si de tal forma que o bloco compacto resista, no mínimo, ao dobro da pressão máxima de trabalho permitida da autoclave.
- As paredes da câmara interna da autoclave em aço inoxidável devem possuir acabamento polido, utilizando-se para polimento material compatível ao da câmara, para que resista melhor a corrosão.
- A abertura da porta deve ser em dois estágios correspondendo primeiro ao desaperto, e o segundo à sua abertura, evitando assim a possibilidade de jatos de vapor sobre o operador.
- A porta da câmara de esterilização hermeticamente fechada e resistente, deve possuir no volante, maçanetas ou dispositivos destinados ao manejo que entram em contato com a mão do operador, material de baixa condutibilidade térmica, resultando numa isolação que não permita temperaturas superiores às do ambiente.
- A autoclave deve possuir isolação térmica no corpo principal que permita não ultrapassar, nas paredes externas, temperaturas superiores a 45°C, quando em funcionamento, exceção feita a porta.
- As autoclaves devem possuir os seguintes requisitos:
  - a) manômetro para a câmara externa para registro ou indicação da pressão, com escala mínima do dobro da pressão de trabalho;
  - b) válvulas de segurança de alívio com o mínimo do dobro da vazão de entrada, nas câmaras externa e interna;
  - c) purgadores automáticos, termostáticos, eliminadores de ar e condensados ligado ao dreno das câmaras externa e interna para eliminação de ar e condensados;
  - d) termômetro com escala para temperaturas de, no mínimo, 150°C calibrado para operar na faixa de 100°C e 138°C de fácil leitura, com graduações de grau em grau;



e) válvulas de retenção na linha de saída da câmara de esterilização para evitar contaminação provocada pelo retorno do ponto de drenagem;

f) pressostatos ou termoreguladores para controle da pressão ou temperatura, ajustáveis, com diferencial máximo de  $\pm 10 \text{ kPa} \pm 2^\circ\text{C}$ ;

g) quando a secagem for com vácuo, deve ter dispositivo para colocação de filtro esterilizante na admissão do ar;

h) a descarga das canalizações da linha de drenagem deve estar colocada em um funil que evite a contaminação provocada pelo retorno do ponto de drenagem.

- Gerador de vapor das autoclaves, deve possuir os seguintes requisitos:

a) aquecimento elétrico ou aquecimento por combustível líquido ou gasoso (NBR 9804);

b) eliminador de ar e descarga de limpeza;

c) capacidade de gerar vapor para, no mínimo, duas esterilizações completas na autoclave sem reposição de água;

d) quando o aquecimento for elétrico os elementos aquecedores devem ser do tipo de imersão, apropriados a voltagem específica e com potência adequada para atingir a temperatura no tempo máximo de 45 minutos sem carga. Os elementos aquecedores devem ser facilmente substituíveis.

- A autoclave deve ser montada sobre armação de tubos ou cantoneiras de aço, formando uma estrutura rígida que permita o manuseio da mesma, com toda a segurança.

- As tubulações da autoclave devem suportar a saída do vapor e da água.

- As autoclaves devem ser revestidas nas partes visíveis após a montagem, e este revestimento deve permitir o acesso para fins de manutenção.

- Chapas de aço para revestimento não precisam ter mais de 1,25 mm de espessura (NBR 9804).

- Podem ser colocadas, no revestimento, aberturas para ventilação das partes críticas.

- Os elementos de manejo e instrumentos de indicação colocados no revestimento, devem ser identificados de acordo com sua serventia e serem facilmente acessíveis e manejáveis. As escalas devem ser montadas de modo a permitir leitura cômoda.

- A porta deve possuir nos dispositivos de manejo que entram em contato com a mão do operador, material de baixa condutibilidade térmica resultando numa isolação que não permita temperaturas superiores às do ambiente.
- Quando não forem feitas exigências especiais, quanto ao revestimento das partes externas de autoclave, deve ser feita pintura de esmalte sintético.

### **3.4 Local de Montagem**

Em relação ao local de montagem, para assegurar a correta operação e manuseio, as autoclaves devem:

- Para assegurar manejo e manutenção corretos, deve ser observada a distância mínima de 100 cm entre equipamentos e paredes em função da necessidade de manutenção.
- Calor irradiado pela autoclave, despressurização ou pelo calor de reevaporação de vapor condensado, devem ser evitados ou dissipados para não proporcionar aumento sensível de temperatura no ambiente de trabalho.
- No local da instalação da autoclave deve ser previsto um ponto de descarga de vapor para a atmosfera, resultante da despressurização da câmara interna de autoclaves que necessitam desse processo.
- Os controles da fonte de risco, como registros de vapor, chaves elétricas, descargas de vapor, emergência, etc., devem estar posicionados em local de fácil acesso, permitindo imediata ação dos operadores da autoclave.

### **3.5 Condições de Operação**

Para a correta operação e segurança no manuseio das autoclaves deve-se cumprir os seguintes requisitos:

- Considerando que o vapor age diretamente sobre o material a ser esterilizado, o vapor disponível deve ser saturado seco, isento de ar, óleo ou outras impurezas (como: areia, ferrugem, produtos químicos, etc.).

- A tubulação de vapor deve ser drenada com purgadores no mínimo à cada 25 m, e também na entrada para a autoclave, além da sangria e do purgador, separador de umidade para obtenção do vapor saturado em condições normais de utilização.
- Para refrigeração direta ou indireta da autoclave, abastecimento de gerador de vapor ou outra finalidade de transferência de calor, pode ser usada a água livre de impurezas e inócua. Qualidade de água potável é suficiente.
- Para cada autoclave deve ser instalado um interruptor capaz de ligar e desligar todas as fases necessárias.
- Interruptor deve ser colocado em local de fácil acesso e próximo da autoclave. Deve ser sinalizado e de fácil operação.
- Quanto aos fusíveis e condutores, devem estar apropriados à potência do equipamento.

### 3.6 Aceitação e Rejeição

As autoclaves devem estar em conformidade com os seguintes critérios de aceitação e rejeição:

- A temperatura em qualquer ponto da câmara de esterilização não pode ser inferior a 121°C - 110 kPa para autoclaves convencionais e 133°C - 200 kPa para autoclaves rápidas.
- Tempo requerido para atingir a temperatura de esterilização nas autoclaves elétricas, sem carga, é de, no máximo, 45 minutos.
- A temperatura em qualquer ponto das paredes externas não deve exceder a 45°C, com exceção feita à porta.
- Quando a autoclave atingir a temperatura mínima de operação, a diferença de temperatura entre diferentes pontos da câmara de esterilização não deve exceder a  $\pm 2^{\circ}\text{C}$ .
- Verificação da secagem do material esterilizado, com tempo e acondicionamento do material na autoclave.
- Devem ser feitos testes bacteriológicos com cultura de *Bacillus subtilis*, prévia e propriamente preparadas e colocadas no núcleo dos materiais a

serem esterilizados, com um ou mais testes por prateleira, para comprovação de esterilização, com tempo e temperatura de exposição.

### 3.7 Comparação entre as Autoclaves Vertical e Horizontal

A Tabela 3.1 apresenta as diferenças entre as autoclaves vertical e horizontal quanto ao atendimento aos principais requisitos mínimos exigíveis para a esterilização e secagem de materiais, conforme a norma NBR 9804.

Tabela 3.1 - Requisitos mínimos para esterilização.

<b>Principais requisitos para autoclaves conforme a norma NBR 9804</b>	<b>Autoclave Horizontal</b>	<b>Autoclave Vertical</b>
Câmara externa com resistência externa (camisa)	X	
Purgador automático	X	
Válvulas de retenção de água e vapor	X	
Secagem do material após o ciclo de esterilização	X	
Geração de vapor para no mínimo duas esterilizações completas sem reposição de água	X	
Entrada de água automaticamente na câmara interna	X	
Filtro na passagem de água na entrada da câmara interna	X	
Válvulas interruptoras de fluxo de vapor e água	X	
Monovacuômetro	X	X
Termômetro	X	X
Câmara interna	X	X
Resistência elétrica interna	X	X
Material da câmara interna - aço inoxidável	X	X

Conforme a Tabela 3.1, as autoclaves horizontais efetuam a secagem do material, não colocando em risco o processo de esterilização.

Neste sentido a câmara externa da autoclave horizontal contém uma resistência externa (camisa) tendo por finalidade o pré-aquecimento, a manutenção da temperatura das paredes da câmara interna e também a secagem do material esterilizado. Além disso, um purgador automático conectado ao dreno das câmaras externa e interna da autoclave permite eliminar ar e condensados existentes na câmara interna e válvulas de retenção na linha de saída da câmara de esterilização evitam a contaminação provocada pelo retorno

\* X = contém

do ponto de drenagem efetuada pelo purgador. Aliada a estas características, a autoclave horizontal permite a geração de vapor para, no mínimo, duas esterilizações completas sem reposição de água.

As autoclaves verticais não efetuam a secagem do material esterilizado, sendo que estes ficam molhados após o ciclo de esterilização, necessitando de uma estufa para efetuar a secagem. Isto implica em transporte do material da autoclave para a estufa, o que pode colocar em risco o processo de esterilização pois o ambiente úmido favorece a contaminação por bactérias (NBR ISO 11134).

A implementação do sistema proposto implica na inclusão de um sistema eletro-mecânico à uma autoclave vertical de forma a atender os requisitos mínimos no processo de esterilização descritos na Tabela 3.1.

# CAPÍTULO 4

## 4 Testes aplicáveis na validação da esterilização

Este capítulo aborda os diferentes tipos de testes aplicáveis na verificação da eficiência do processo de esterilização.

Recomenda-se que esterilizadores à vapor e ar quente devem ser testados com indicadores biológicos semanalmente e devem ser usados indicadores químicos em cada pacote a ser esterilizado (NBR 9804).

### 4.1 Indicadores biológicos

O indicador biológico consiste de um preparado de um microrganismo específico, resistente a um determinado processo de esterilização. É usado para qualificação de uma operação física de um aparelho de esterilização, no desenvolvimento e estabelecimento de processo de esterilização validado para um artigo específico, e na esterilização de equipamento, material e embalagens para processamento asséptico. É usado também para monitorar um ciclo de esterilização uma vez estabelecido (Pinto, 2000).

O indicador biológico apresenta-se em duas formas principais, cada uma das quais incorpora uma cultura viável de uma espécie conhecida de microrganismo. Em uma, os esporos são adicionados a um veículo (disco ou tira de papel de filtro, vidro ou plástico) e embalado de modo que mantenha a integridade da carga inoculada e que o agente esterilizante exerça seu efeito quando necessário. Em outra, os esporos de bactérias são adicionados a unidades representativas do lote a ser esterilizado (produto inoculado), ou a unidades similares (produto similar inoculado).

O indicador biológico ou bioindicador pode ser definido como preparação caracterizada de microrganismos específicos, e portadores de grande resistência a um particular processo de esterilização. Bioindicadores de conhecidos níveis de população microbiana são utilizados com o propósito de dar segurança ao processo de esterilização executado (Brasil, 2000).

Um produto inoculado não deve afetar adversamente as características de performance dos esporos viáveis. Se o material a ser esterilizado é um líquido, e se for impraticável adicionar um indicador biológico a unidades selecionadas do lote, esporos viáveis podem ser adicionados a um produto similar, mas com a condição de que a resistência do produto ao processo de esterilização seja a mesma do produto original a ser esterilizado.

Um indicador biológico usado para monitoramento de um processo de esterilização pode ser inadequado, e pode também ser insatisfatório para validação de ciclos de esterilização que podem diferir em suas necessidades para aplicações específicas.

O uso eficiente dos indicadores biológicos para o monitoramento de um processo de esterilização requer profundo conhecimento do produto a ser esterilizado e suas partes componentes (material e embalagens) e no mínimo uma idéia geral dos prováveis tipos e número de microrganismos constituintes da carga microbiana do produto antes da esterilização.

As principais vantagens dos bioindicadores em fitas de papel de filtro são: baixo custo, pequeno tamanho e facilidade no manuseio.

## **4.2 Tipos de indicadores biológicos**

O indicador biológico é o parâmetro escolhido para certificar-se de que o nível de esterilidade estabelecido para o produto é alcançado, conferindo a certeza de esterilidade frente à margem de segurança mínima definida de apenas 1 unidade contaminada em  $10^6$  unidades do produto processado (Vessoni, 1994).

### **4.2.1 Testes de cultura**

Os testes de cultura semanais são recomendados pelas normas NBR ISO 11134 e NBR 9804. A principal vantagem é seu alto nível de confiabilidade. Estes testes são realizados através da escolha de microrganismos em função de sua resistência às condições de esterilização a serem verificadas, pois estas devem ser suficientes para matar os esporos específicos selecionados.

Os esporos de *Bacillus stearothermophilus* são os indicadores mais comumente usados para o teste de esterilizadores à vapor. O tempo de morte térmica pode ser obtido

para os diferentes esporos testados e representa o tempo necessário para matar todos os esporos na temperatura obtida. Embora tiras de esporos sejam parte integrante do controle de qualidade, elas têm limitações práticas que incluem:

- **Resultados demorados:** o resultado dos testes normalmente não é disponível antes de 24 horas (ou até 7 dias). É impraticável manter em quarentena todos os materiais neste período.
- **Problemas de amostragem:** o número e a frequência requeridos de testes para assegurar a detecção de falhas no esterilizador não é economicamente viável pois é necessário uma grande quantidade de testes para se obter confiabilidade.
- **Falso positivo:** a técnica de cultura é importante para evitar a contaminação de tiras de esporos esterilizadas, as quais pode causar o crescimento de organismos estranhos, o que pode resultar em falso positivo.

#### 4.2.2 Indicador Biológico Sportest

As tiras de esporos Sportest contem *Bacillus stearothermophilus* para ciclos de esterilização à vapor e *Bacillus subtilis* para ciclos de esterilização de óxido de etileno e ar quente. Seu uso dentro das rotinas de monitoração do ciclo é indicado para:

- Validar os equipamentos de esterilização;
- Comprovar periodicamente a validade dos ciclos de esterilização;
- Determinar novos tempos de esterilização sempre que houver mudança no processo de esterilização, de conteúdo, de indicativo de pressão e temperatura, ou substituição de equipamento de monitoração física dos esterilizadores.

#### 4.2.3 Indicador Biológico Auto-Contido ATI-Test

Os indicadores biológicos auto-contidos ATI-Test, além da tira de esporos, incluem o material próprio para incubação e indicação colorida para leitura negativa ou positiva. Para ciclos de esterilização à vapor este indicador contém *Bacillus*



*stearotherophilus* e para a esterilização de óxido etileno *Bacillus subtilis*. As suas principais vantagens são:

- A leitura preliminar em 12 horas e incubação completa em 48 horas;
- A sua forma construtiva impede a recontaminação, pois evita o crescimento do micro organismo estranho, conseqüentemente eliminando a possibilidade de leitura falso-positiva.

### 4.3 Indicadores químicos

Estes tipos de indicadores são um sistema químico aplicado à um substrato, sendo normalmente tiras de papel, cuja coloração ou estado físico mudam quando submetidos às condições de esterilização à vapor. Sua função é indicar que as condições corretas de esterilização foram atingidas durante o ciclo de esterilização.

#### 4.3.1 Indicadores de esterilização

Os indicadores de esterilização (Figura 4.1) são sensíveis à cada um dos três parâmetros necessários para a esterilização à vapor (tempo, temperatura e presença de vapor). A Figura 4.1 mostra a ocorrência da esterilização através da mudança de cor do indicador.



Figura 4.1 - Indicadores de esterilização.

### 4.3.2 Indicadores de processo

Os indicadores de processo (Figura 4.2) são sensíveis somente à um ou dois destes três parâmetros, sendo usado para evidenciar a passagem do material pelo esterilizador, porém não assegurando que este foi exposto a todos os três parâmetros necessários para a esterilização. A Figura 4.2 mostra a ocorrência da esterilização através da mudança de cor do indicador.

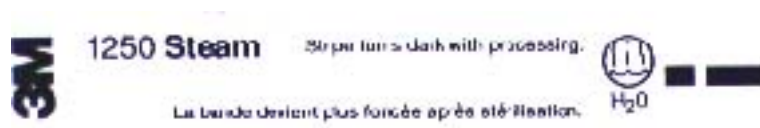


Figura 4.2 - Indicador de processo.

### 4.3.3 Fita Adesiva Tecil

As fitas auto-aderentes Tecil, simplificam e auxiliam o fechamento de todos os tipos de pacotes que serão colocados no esterilizador. Possuem tratamento químico com uma tinta que muda de cor ao ser submetida à ação dos agentes esterilizantes.

### 4.3.4 Folhas de Teste Bowie & Dick Diatest-Tecil

O teste Bowie & Dick foi desenvolvido para verificar a eficiência na remoção do ar em esterilização com alto-vácuo. Este requer um pacote contendo uma folha indicadora (Figura 4.3a), a ser colocada sobre o dreno com a câmara vazia. Processa-se então um ciclo à 132° C por 3 a 4 minutos. Caso o esterilizador não esteja funcionando adequadamente e a remoção do ar não seja efetiva, obtêm-se a indicação na folha de teste, observada por uma mudança incompleta de cor (Figura 4.3b), evidenciando a falha no equipamento. Caso a autoclave esteja funcionando corretamente, a mudança de cor das folhas Diatest será uniforme (Figura 4.3c). Este teste deverá ser feito no primeiro ciclo de esterilização do dia.

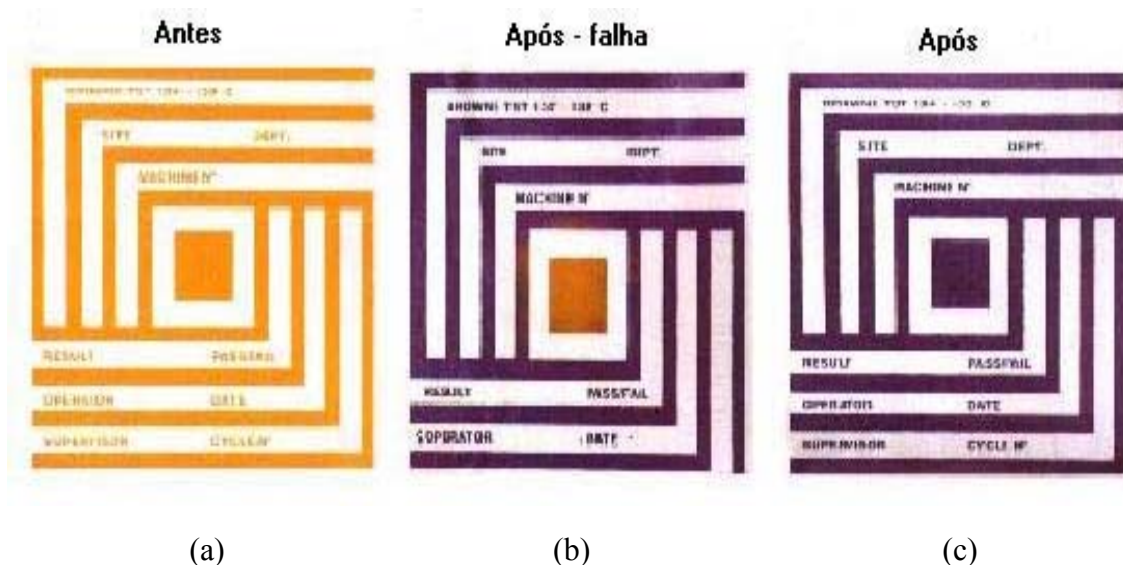


Figura 4.3 - Folhas de Teste Bowie & Dick Diatest-Tecil.

#### 4.4 Modelo semilogarítmico para curvas de sobreviventes

O produto se mantém conservado se não houver a manifestação dos microrganismos presentes; isto significa dizer que, após a exposição ao calor úmido, poderá haver microrganismos dormentes ou em estado latente de sobrevivência, que não se multiplicarão durante a vida útil de prateleira, porque o produto não oferece condições favoráveis de germinação e reprodução (Trabulsi et al., 2004).

Os procedimentos de esterilização, de pasteurização e de higienização utilizam o calor úmido no controle da carga microbiana presente no produto.

O número final de microrganismos sobreviventes expostos ao calor úmido representa o efeito do processo. A destruição térmica de uma população homogênea de microrganismos é considerada logarítmica. O fenômeno de destruição térmica pode ser representado pelo modelo de curva linearizada, semi-logarítmica de sobreviventes. A representação gráfica do logaritmo decimal de sobreviventes, em relação ao tempo de exposição à temperatura constante resulta em curva linearizada decrescente (Figura 4.4).

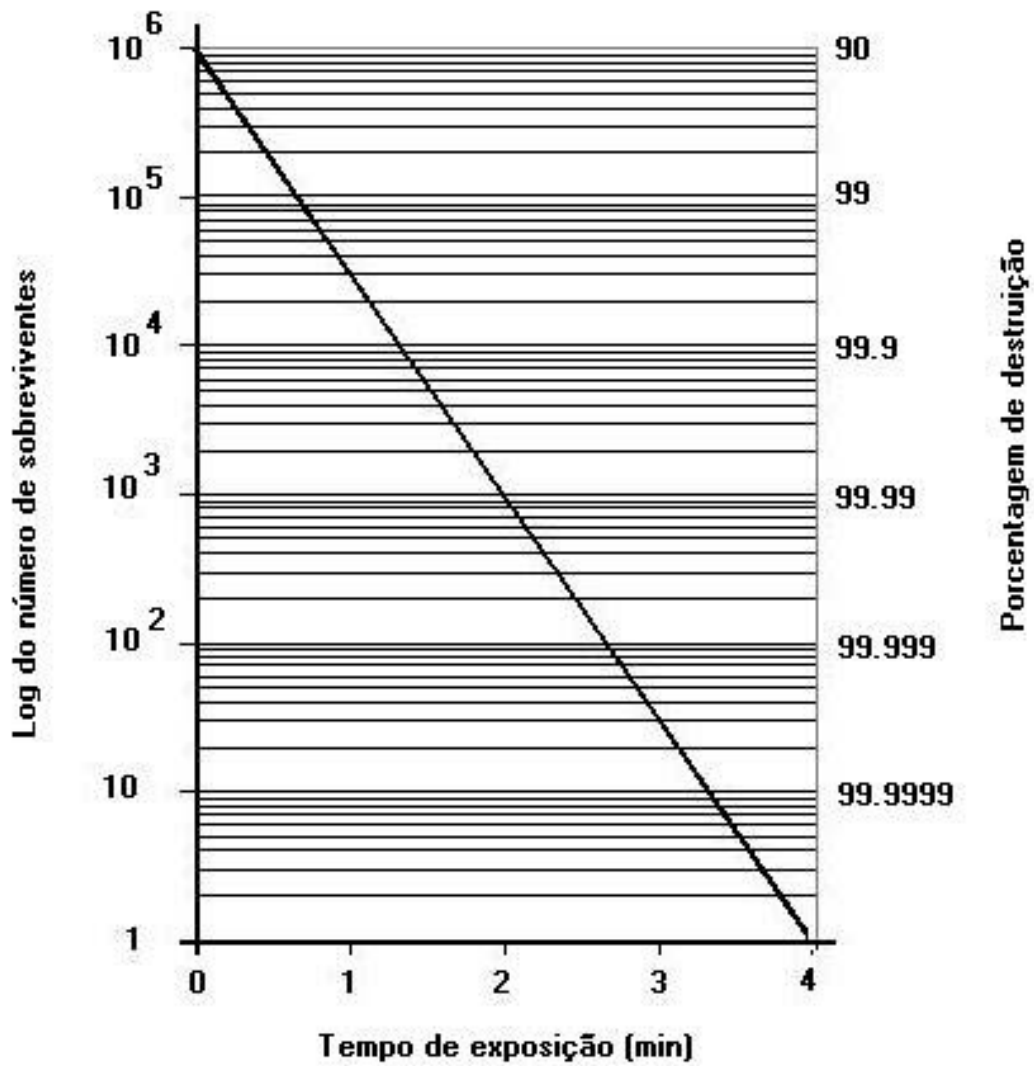


Figura 4.4 - Curva de sobrevivente.

A variação do número de sobreviventes, com o tempo de exposição, é função do número de microrganismos inicialmente presentes, e é representada pela Equação 5.1:

$$\text{Log } N_f = \text{Log } N_0 - \frac{k.t}{2.303} \tag{5.1}$$

Onde:

$\text{Log } N_f$  = logaritmo decimal da população sobrevivente após um tempo (t) de exposição;

$\text{Log } N_0$  = logaritmo decimal da população no tempo inicial ( $t=0$ );

$k$  = constante de velocidade específica de destruição por unidade de tempo ( $t$ ).

Para um mesmo microrganismo todos os parâmetros de tratamento devem ser mantidos constantes durante o tempo de exposição estabelecido; pois a resistência térmica é função da concentração de vapor úmido presente.

O valor  $D$  ou Tempo de Redução Decimal é o intervalo de tempo à temperatura constante de tratamento para uma redução de 90% da população microbiana, inicialmente presente no produto. O valor  $D$  é o inverso negativo do coeficiente angular da equação da reta calculada utilizando-se do método da regressão linear, através dos mínimos quadrados, aplicado à região linear da curva de sobrevivência. O valor  $D$  relaciona-se à constante específica de reação através da Equação 5.2:

$$D = \frac{2.303}{k} \quad 5.2$$

Substituindo o valor  $D$  na Equação 5.1, resulta na Equação 5.3, sendo:

$$\text{Log } N_f = \text{Log } N_0 - \frac{t}{D} \quad 5.3$$

A Equação 5.3 representa o número total de bactérias sobreviventes em função do tempo de exposição ao ciclo de esterilização.

O bioindicador adequado deve apresentar uma população de esporos e uma termoresistência ao processo de esterilização superiores àquelas dos microrganismos originalmente presentes no produto a ser esterilizado.

#### 4.4.1 Crescimento microbiano

Às condições favoráveis de crescimento, os microrganismos presentes nos produtos, iniciam sua multiplicação. Se forem realizadas contagens microbianas periódicas, estas podem ser representadas graficamente colocando o logaritmo decimal do número de microrganismos viáveis por mililitro de diluição do produto em questão no eixo das ordenadas e a unidade de tempo de crescimento no eixo das abcissas. Obtém-se assim a

curva de crescimento, que é caracterizada por quatro fases distintas, denominadas de fase de latência, exponencial ou logarítmica, estacionária e de declínio ou morte (Vessoni et al., 1997).

A fase de latência caracteriza o tempo necessário ao ajuste dos microrganismos ao novo ambiente físico-químico. O prolongamento máximo dessa fase aumenta a vida útil de prateleira do produto.

Durante a fase logarítmica ou exponencial, as células se dividem em ritmo constante, e o incremento do número de células é diretamente proporcional ao tempo de geração.

Durante a fase de morte ou inibição do crescimento o número de células viáveis decresce em ritmo constante, e logaritmicamente, frente às condições desfavoráveis do meio ambiente, embora o processo de esporulação continue.

## **4.5 Técnicas microbiológicas**

A base do trabalho microbiológico é principalmente o isolamento, quantificação e estocagem de microrganismos. Não existe um único processo que possa ser recomendado em todas as situações. A escolha da técnica mais adequada para cada caso só pode ser feita após consideração cuidadosa de todos os fatores positivos e negativos que envolvem o processo em questão. Na seqüência, serão apresentadas as técnicas utilizadas neste trabalho.

### **4.5.1 Isolamento**

Geralmente, a obtenção de uma espécie particular de microrganismo exige seu prévio isolamento laboratorial a partir de uma cultura mista, de modo a formar uma cultura pura. A cultura pura é formada por uma população derivada de uma única célula original, e apresenta colônias aparentemente semelhantes e células com a mesma aparência e mesma coloração de Gram quando observadas ao microscópio. Algumas culturas puras exibem colônias lisas e rugosas na mesma superfície de crescimento em meio sólido; cistos e esporos podem ocorrer junto com outras formas em culturas de vários organismos e algumas podem apresentar variações na coloração de Gram.

Não é sempre que a obtenção de uma colônia isolada assegura a pureza da cultura, pois as colônias podem se desenvolver a partir de agregados celulares, tanto quanto a partir de uma única célula (Veronesi et al., 2002).

Entre as várias técnicas de isolamento, uma das mais utilizadas é a semeadura em superfície.

#### **4.5.2 Semeadura em superfície**

Primeiramente preparam-se placas de Petri com Agar nutritivo apropriado ao microrganismo a ser isolado. O meio de cultura esterilizado, resfriado até à temperatura de aproximadamente 50° C e acrescido dos ingredientes termolábeis necessários, é distribuído em placas de Petri esterilizadas (Trabulsi et al., 2004).

A secagem das placas deve ser feita à temperatura ambiente durante 24 horas. Recomenda-se executar todo o procedimento em câmara de fluxo laminar. O armazenamento das placas deve ser feito a 4°C, porém no momento do uso estas devem estar à temperatura ambiente. Com uma alça de níquel cromo, coloca-se uma porção reduzida da amostra bacteriana na superfície do agar e arrasta-se a alça por toda a extensão do agar, cuidadosamente, para não imergi-la dentro do meio, distribuindo desta forma a amostra.

Este procedimento separa as células umas das outras e, após incubação, em algumas áreas da placa haverá a formação de colônias isoladas, cada uma delas provavelmente descendente de uma única célula, e sendo portanto uma cultura pura. A alça deve ser flambada corretamente e esfriada antes do uso, encostando-a no interior da placa de Petri. O crescimento de cada cultura deve ser examinado, microscópica e culturalmente, a fim de confirmar sua pureza.

#### **4.5.3 Contagem direta por microscopia**

É uma técnica rápida e barata e utiliza equipamento facilmente disponível em laboratórios microbiológicos. As suspensões muito concentradas devem ser diluídas em água destilada, de forma que se observem as células isoladamente. A principal desvantagem destes métodos é que não permitem a contagem de células viáveis, apenas do total de células presentes na amostra.

# CAPÍTULO 5

## 5 Desenvolvimento

O presente capítulo descreve um sistema eletro-mecânico desenvolvido para executar seqüencialmente todos os ciclos do processo de esterilização à vapor de uma autoclave vertical. O sistema implementado dispensa a intervenção de um operador para controlar todas as etapas do processo, eliminando também a necessidade de uma estufa para a secagem dos materiais esterilizados. Para tal, é necessário descrever os princípios de operação de autoclaves verticais, permitindo assim o entendimento das adequações que se fazem necessárias à implementação do novo sistema. Este capítulo também abordará os testes biológicos realizados nas autoclaves verticais e no sistema proposto, de forma a verificar a eficiência no processo de esterilização.

### 5.1 Operação de autoclaves verticais

Esta seção apresenta uma descrição das peças que compõem as autoclaves verticais, sendo:

- **Painel:** possui lâmpada liga/desliga e chave seletora de calor para os níveis mínimo, médio e máximo.
- **Manípulos:** permite a abertura e o fechamento com segurança da tampa da câmara.
- **Tampa:** permite o fechamento da câmara de esterilização.
- **Gabinete:** compartimento que aloja todas as peças do equipamento.

A Figura 5.1 mostra o gabinete de uma autoclave, onde é possível visualizar painel, a tampa e os manípulos.





Figura 5.1 - Autoclave vertical

- **Câmara:** compartimento cuja secção transversal, de formato cilíndrico ou retangular, destina-se a receber o material a ser esterilizado (Figura 5.2).



Figura 5.2 - Câmara da autoclave vertical

- **Cesto:** conterà o material a ser esterilizado, sendo feito em aço inox, conforme Figura 5.3.

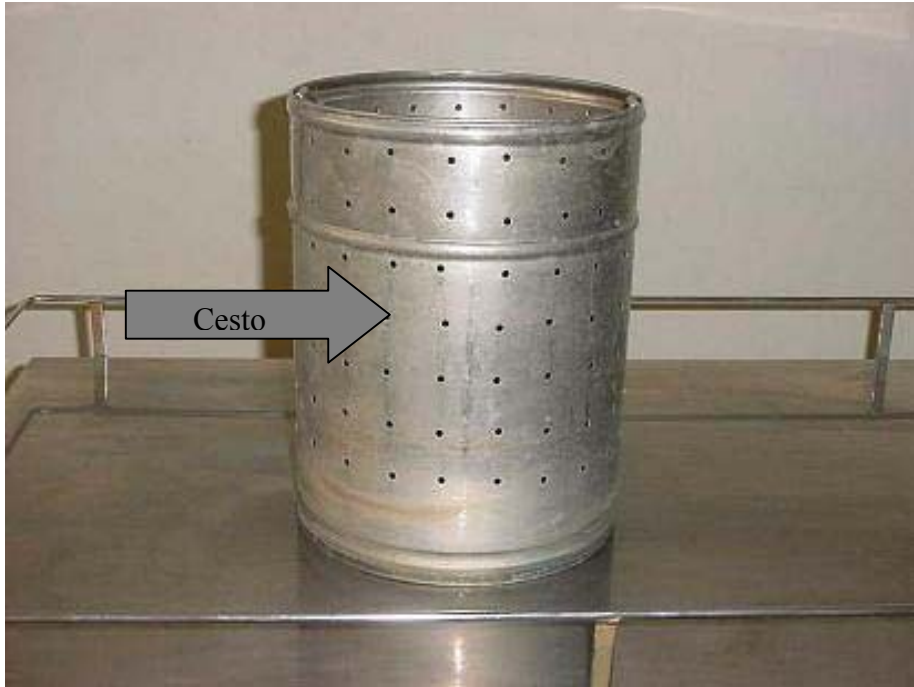


Figura 5.3 - Cesto da autoclave vertical

- **Válvula de segurança:** apresenta sistema de peso e contra-peso para regulagem da pressão da câmara interna.
- **Manômetro:** apresenta duas escalas, sendo uma para temperatura (100°C a 143°C) e outra para pressão (0 a 3 kgf/cm<sup>2</sup>).

A Figura 5.4 mostra a válvula de segurança e o manômetro da autoclave vertical.

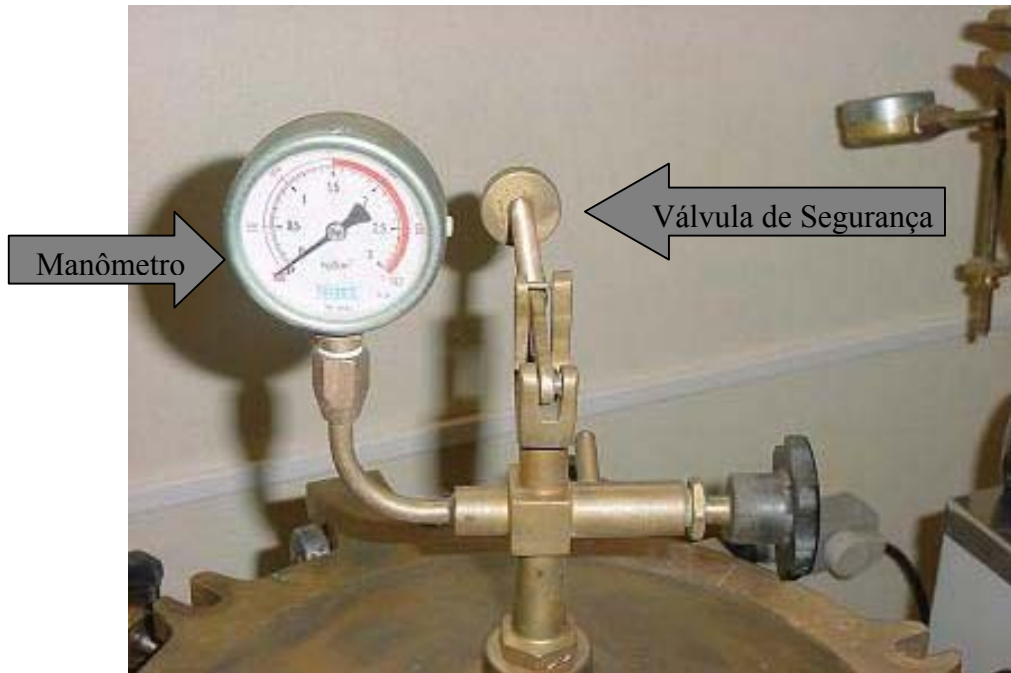


Figura 5.4 - Manômetro e válvula de segurança da autoclave vertical.

- **Resistências:** permitem o aquecimento da água dentro da câmara (Figura 5.5).



Figura 5.5 - Resistências da autoclave vertical.

- **Registro de escoamento:** permite a drenagem da água após o término do ciclo de esterilização (Figura 5.6).

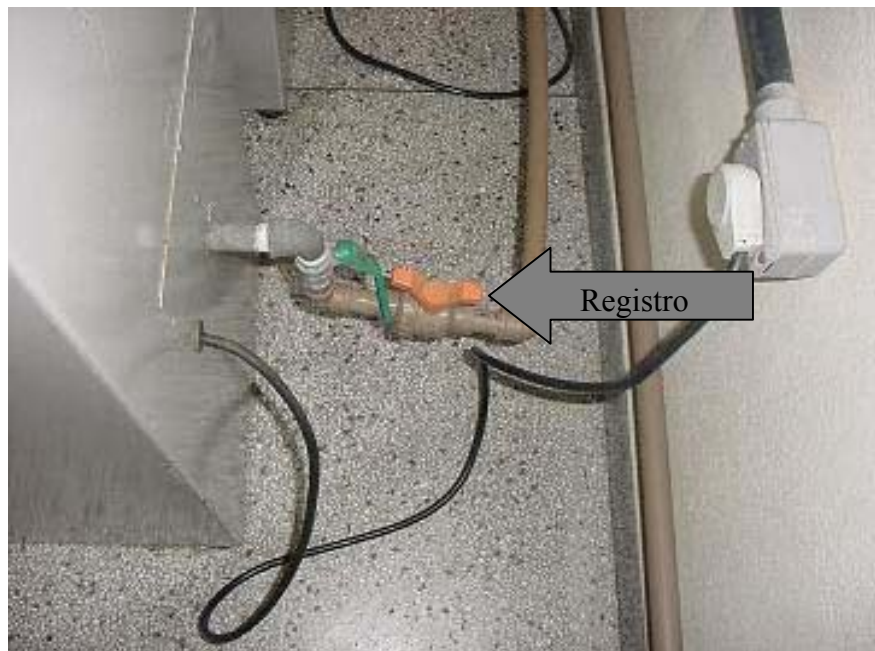


Figura 5.6 - Registro de escoamento.

A Figura 5.7 apresenta as etapas para o processo de esterilização através de autoclaves verticais.

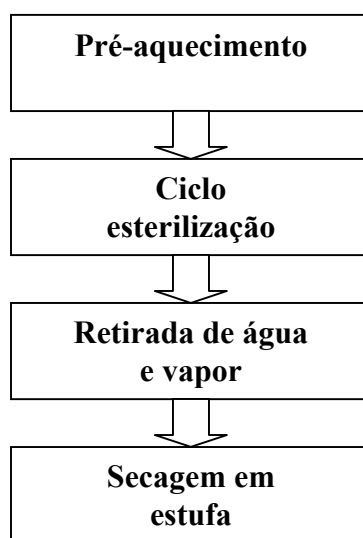


Figura 5.7 - Ciclo de esterilização de autoclaves verticais.

Para dar início a etapa do pré-aquecimento é necessário que o operador posicione a chave de seleção de temperatura na posição máxima, implicando no aquecimento da água dentro câmara devido a atuação de uma resistência (Figura 5.8). O controle da temperatura e pressão na câmara é feito manualmente pelo operador, em função dos níveis indicados por um manômetro. Quando a temperatura e pressão atingirem os níveis necessários à esterilização, o operador deve posicionar a chave de seleção de temperatura para o nível mínimo fazendo com que duas resistências fiquem ligadas em série no circuito (Figura 5.8), de forma a manter as condições de temperatura e pressão durante o tempo necessário ao ciclo de esterilização. A duração do ciclo de esterilização é estipulada e controlada pelo operador dependendo do tipo de material a ser esterilizado. Ao término deste ciclo o operador deve desligar o equipamento, abrir a válvula de segurança para a saída do vapor e abrir o registro para o escoamento da água presente no interior da câmara. Em seguida o material deve ser retirado da autoclave e encaminhado para a estufa, devendo a temperatura e o tempo de secagem serem estipulados pelo operador dependendo do tipo de material.

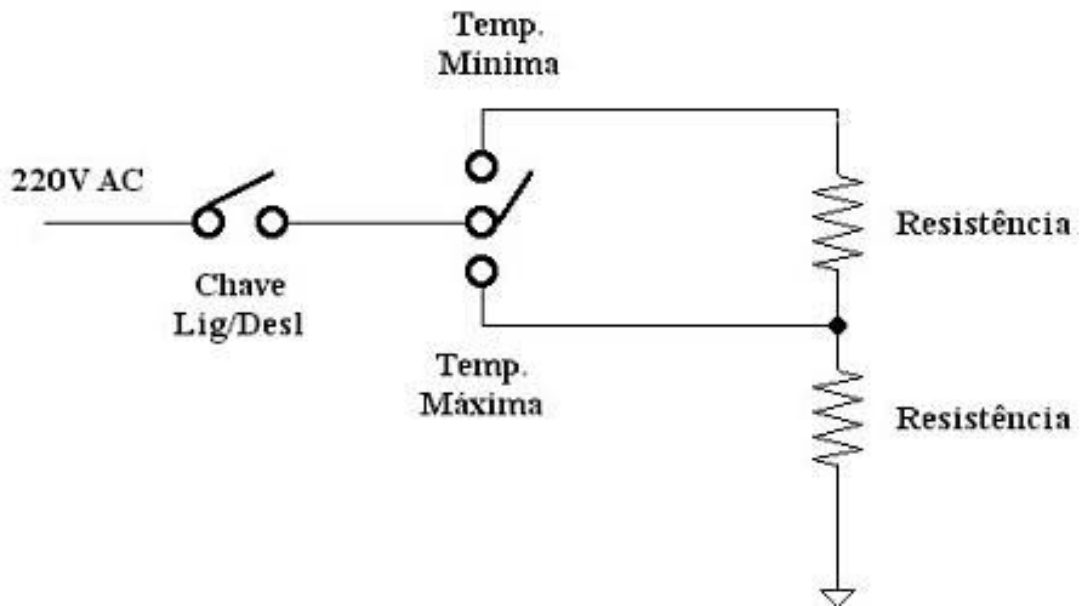


Figura 5.8 - Operação da autoclave vertical.

## 5.2 Sistema proposto

A implementação do sistema proposto implica na inclusão de um sistema eletro-mecânico à uma autoclave vertical de forma a atender os requisitos mínimos no processo de esterilização. A Figura 5.9 representa as etapas de execução para o processo de esterilização, usando o novo sistema adaptado.

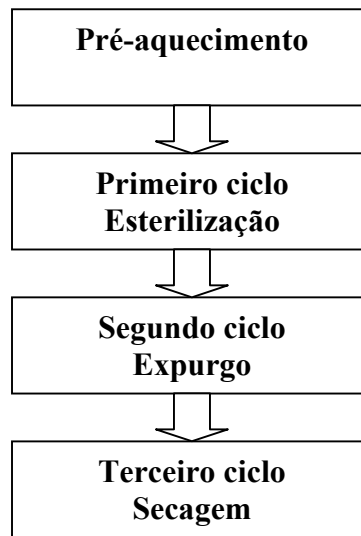


Figura 5.9 - Fluxo de execução do processo de esterilização do sistema proposto.

A adaptação do novo sistema à autoclave vertical deve permitir:

- Ligar o equipamento e controlar automaticamente o aquecimento da câmara até atingir a temperatura de início do ciclo de esterilização.
- Manter automaticamente a temperatura e pressão na câmara durante o ciclo de esterilização.
- Desligar automaticamente a resistência interna e iniciar o ciclo de expurgo do vapor e da água contido na câmara.
- Ligar automaticamente a resistência externa, terminado o ciclo de expurgo, permitindo o início do ciclo de secagem dos materiais esterilizados e do próprio equipamento.
- Desligar a resistência externa e todo o equipamento, fechando o ciclo completo de esterilização.

### 5.3 Diagrama elétrico

A Figura 5.10 mostra o diagrama de blocos do hardware do sistema eletromecânico desenvolvido bem como os componentes utilizados.

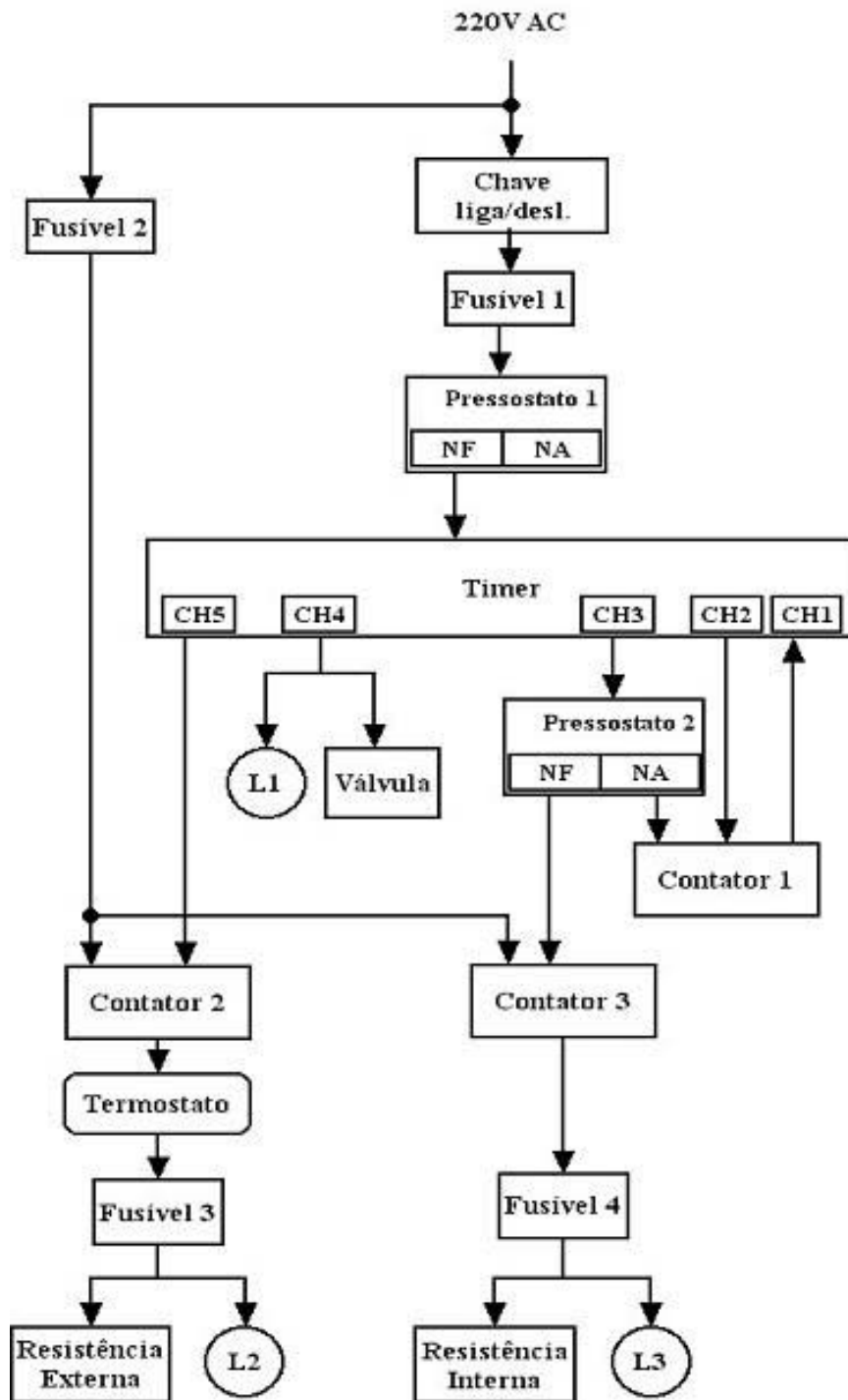


Figura 5.9 - Interligação dos componentes do sistema desenvolvido



Para melhor compreensão do sistema desenvolvido, a Figura 5.10 apresenta os módulos que compõem o hardware, sendo estes: acionamento e proteção, temporização e controle, pré-aquecimento e esterilização, expurgo e secagem.

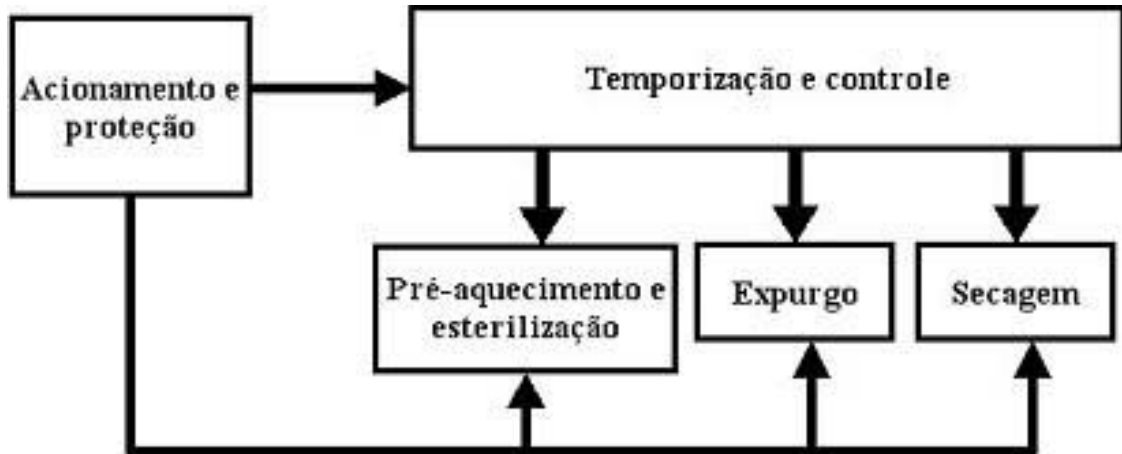


Figura 5.10 - Módulos do sistema desenvolvido

### 5.3.1 Acionamento e proteção

É composto por uma chave que permite ligar e desligar o equipamento à tensão de alimentação de 220 V AC. A proteção contra a sobrecorrente é feita por fusíveis. O Fusível 2 (de 20 A), atua na proteção das resistências externa e interna interrompendo o circuito que leva alimentação às resistências através dos Contatores 2 e 3. O Fusível 3 (de 10 A), atua exclusivamente na proteção do circuito da resistência externa e lâmpada piloto L2 e o Fusível 4 (de 10 A) protege o circuito da resistência interna e lâmpada piloto L3. A proteção do Timer e Contatores 1,2 e 3 é implementada através do Fusível 1, sendo este de 2 A.

O Pressostato 1 atua no desligamento do equipamento caso o nível de pressão no interior da câmara ultrapasse o dobro da pressão de operação do ciclo de esterilização. A Figura 5.11 apresenta a montagem deste pressostato na autoclave vertical.





Figura 5.11 - Montagem do pressostato de segurança.

### 5.3.2 Temporização e controle

O Timer controla o ciclo de operação do sistema (Figura 5.12). Em repouso, o contato das chaves CH2 e CH3 estarão fechados e os demais abertos. Após o equipamento ser ligado, a chave CH3 alimenta o Pressostato 2, acionando o Contator 3 de forma a alimentar a resistência interna. Quando atingir a temperatura e pressão desejadas no pré-aquecimento, o Pressostato 2 comanda o Contator 1, que fica auto-alimentado energizando o Timer e dando início à temporização do ciclo de esterilização. Durante este ciclo, o Pressostato 2 comanda o Contator 3 para ligar e desligar a resistência interna à câmara de esterilização de forma a manter a temperatura e pressão necessárias. Após o término do ciclo de esterilização, o Timer abre os contatos da chave CH3 (desligando a resistência interna) e fecha os contatos da chave CH4 ligando a válvula de expurgo. Terminado o ciclo

de expurgo, o Timer abre os contatos da chave CH4 (desligando a válvula) e inicia o ciclo de secagem fechando os contatos da chave CH5, acionando o Contator 2 de forma a alimentar a resistência externa à câmara de esterilização. Ao fim do ciclo de secagem, o Timer volta ao estado de repouso, mantendo os contatos das chaves CH2 e CH3 fechados, e os demais abertos.

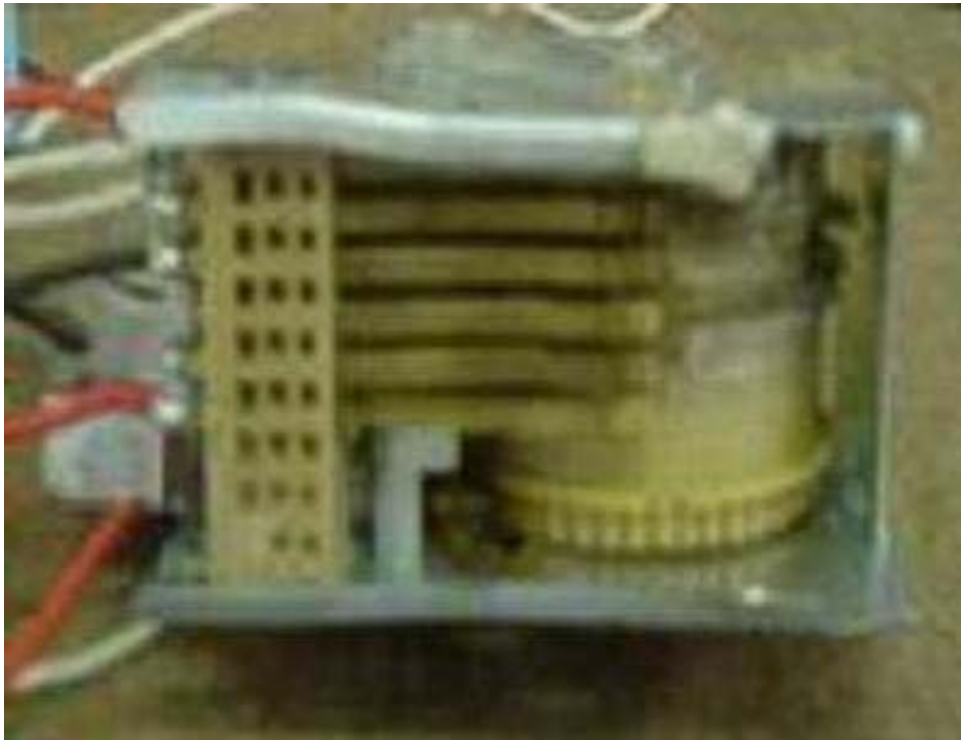


Figura 5.12 - Timer.

### 5.3.3 Pré-aquecimento e esterilização

Durante a fase de pré-aquecimento e esterilização o Contator 3 alimenta a resistência interna (Figura 5.5), sendo controlado pelo Pressostato 2. Durante o pré-aquecimento e a esterilização a lâmpada piloto L3 (Figura 5.9) fica acesa indicando que a resistência interna está ligada.

### 5.3.4 Expurgo

Na fase de expurgo a válvula (Figura 5.13) é acionada permitindo a eliminação da água e do vapor contidos na câmara interna de esterilização. Durante a fase de expurgo a lâmpada piloto L1 fica acesa, indicando que a Válvula está ligada. Para a eliminação da água e do vapor é necessário que as tubulações suportem altas temperaturas e pressões, devendo ser de cobre (NBR 9804).



Figura 5.13 - Válvula de expurgo do sistema proposto.

### 5.3.5 Secagem

Durante a fase de secagem o Contator 2 alimenta a resistência externa à câmara de esterilização (Figura 5.14). Nesta fase a lâmpada piloto L2 (Figura 5.9) fica acesa indicando que a resistência externa está ligada.



Figura 5.14 - Resistência externa.

## 5.4 Teste de validação

Para assegurar a confiabilidade no desempenho das autoclaves verticais no processo de esterilização a vapor são necessários testes de validação de forma a garantir os requisitos mínimos exigidos pela norma NBR 9804.

Testes de cultura são recomendados pelas normas NBR ISO 11134 e NBR 9804 pois apresentam alto nível de confiabilidade. Estes testes são realizados através da escolha de microrganismos em função de sua resistência (morte térmica) às condições de esterilização a serem verificadas. Primeiramente estes testes foram aplicados na avaliação da autoclave vertical, e, posteriormente no sistema proposto. Para a realização do teste de cultura são necessários:

- **Microscópio eletrônico:** observação das bactérias.
- **Microrganismos:** escolhidos em função de sua resistência às condições de esterilização a serem verificadas.
- **Incubadora (estufa):** mantém condições de temperatura para a verificação do crescimento dos microrganismos antes e após a esterilização.
- **Placas de Petri:** utilizadas para fazer as culturas de microrganismos.
- **Nutriente ágar-sangue:** ambiente propício para a reprodução bacteriana.
- **Autoclave vertical:** equipamento utilizado para destruir os microrganismos.

### 5.4.1 Teste de cultura

Para a realização do teste de cultura inicialmente escolheu-se quatro tipos de espécies de bactérias em função de sua resistência às condições de esterilização a vapor, sendo estas: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*. A Figura 5.15 mostra uma colônia de bactérias do tipo *Echerichia coli*.

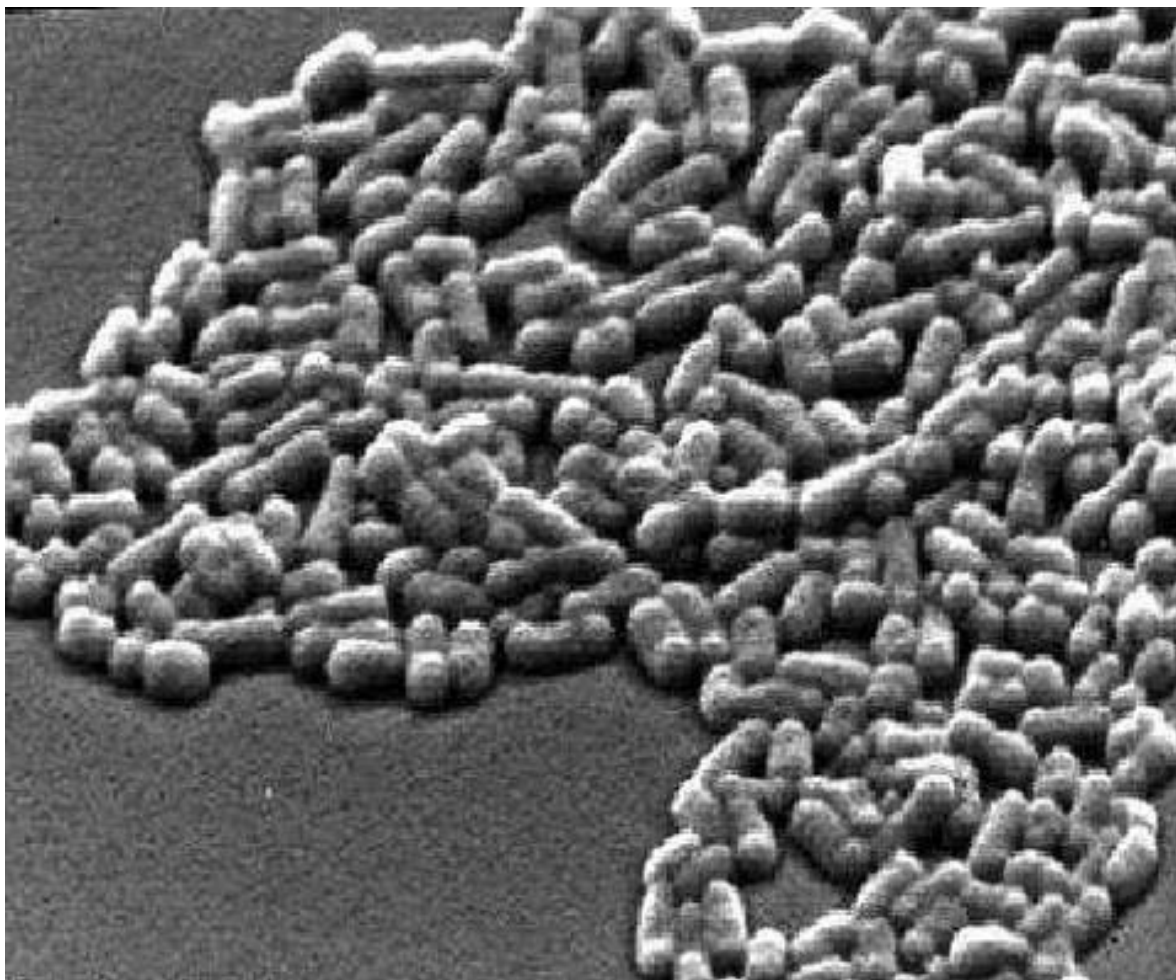


Figura 5.15 - Colônia de bactérias de *Echerichia coli*.

As cepas de bactérias contidas em balões de vidro imersas em caldo nutritivo (BHI) (Figura 5.16) primeiramente foram semeadas (com auxílio de uma alça de níquel-cromo) em placas de Petri (Figura 5.17) contendo o meio de cultura AS previamente preparadas. A semeadura foi realizada em uma sala específica para esta função, efetuando o processo sempre próximo a chama do bico de bunsen, flambando a alça de níquel-cromo antes de cada semeadura, além de utilizar os equipamentos de proteção necessários (EPI).



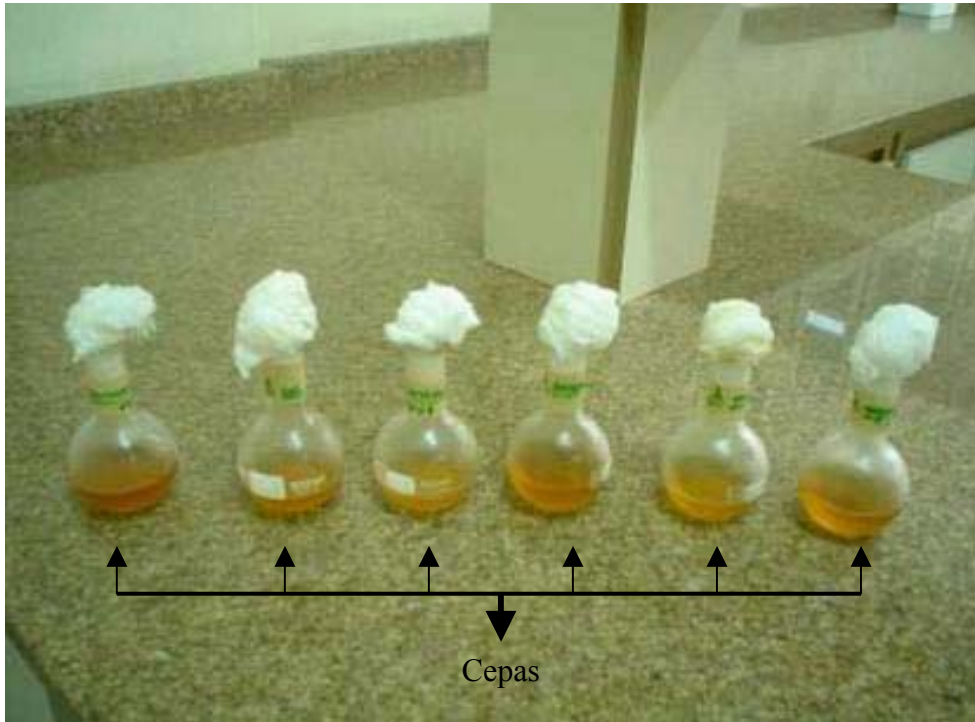


Figura 5.16 - Cepas de bactérias em balões de vidro.

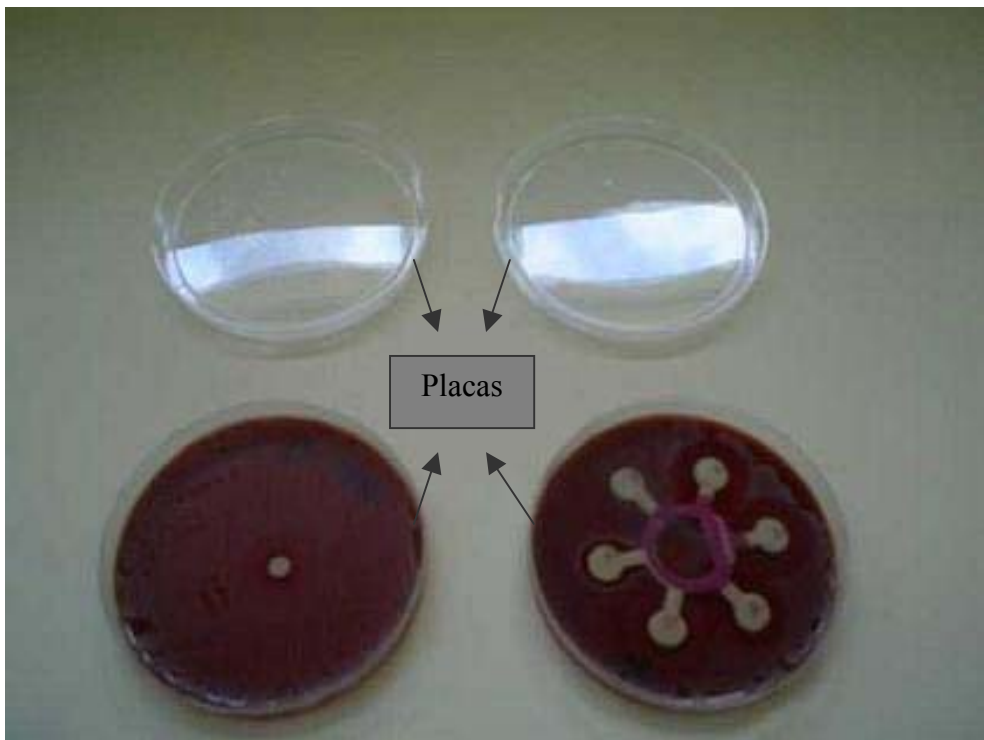


Figura 5.17 - Placas de Petri contendo bactérias semeadas.

Cada uma das espécies de bactérias foi semeada em quatro placas de Petri, resultando em 16 placas a serem testadas na autoclave vertical. Posteriormente as placas de Petri foram encaminhadas para a esterilização na autoclave. Terminado o ciclo de esterilização as placas são incubadas numa estufa de cultura microbiológica a 36°C, por um período de 24 horas (Costa et al., 1990).

Após o término do período de incubação retiram-se as placas da estufa para verificar se ocorreu o crescimento microbiológico. Caso seja necessário conservar as placas por um período maior do que 24 horas, pode-se colocá-las numa geladeira (Figura 5.18).



Figura 5.18 - Placas de Petri contendo bactérias na geladeira.



### 5.5 Resultados do teste de cultura para a autoclave vertical e o sistema proposto

Nesta seção são apresentados os resultados do teste de cultura realizado para a autoclave vertical e o sistema proposto (Tabela 5.1 e 5.2). O teste foi realizado com quatro espécies de bactérias em função de sua resistência às condições de esterilização a vapor, sendo estas: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*.

A Tabela 5.1 mostra o resultado do teste realizado com a autoclave vertical.

Tabela 5.1 - Teste de cultura para autoclave vertical

<b>Bactérias</b>	<b>Doenças Provocadas</b>	<b>Colônias de bactérias antes da Autoclavação</b>	<b>Colônias de bactérias após a Autoclavação</b>
<i>Escherichia coli</i>	Diarréia, infecção urinária, septicemia e meningite.	1. >10 <sup>6</sup>	1. 1
		2. >10 <sup>6</sup>	2. 0
		3. >10 <sup>6</sup>	3. 0
		4. >10 <sup>6</sup>	4. 1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Infecções severas nas córneas, urinárias e em queimaduras graves.	5. >10 <sup>6</sup>	5. 0
		6. >10 <sup>6</sup>	6. 0
		7. >10 <sup>6</sup>	7. 1
		8. >10 <sup>6</sup>	8. 1
<i>Staphylococcus aureus</i>	Infecções em feridas cirúrgicas e em ferimentos. Contaminação com alimentos, poeira e água.	9. >10 <sup>6</sup>	9. 1
		10. >10 <sup>6</sup>	10. 1
		11. >10 <sup>6</sup>	11. 1
		12. >10 <sup>6</sup>	12. 0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Secreções purulentas da boca e trato respiratório.	13. >10 <sup>6</sup>	13. 1
		14. >10 <sup>6</sup>	14. 0
		15. >10 <sup>6</sup>	15. 1
		16. >10 <sup>6</sup>	16. 1

A Tabela 5.2 mostra o resultado do teste realizado para o sistema proposto.

Tabela 5.2 - Teste de cultura para o sistema proposto

<b>Bactérias</b>	<b>Doenças Provocadas</b>	<b>Colônias de bactérias antes da Autoclavação</b>	<b>Colônias de bactérias após a Autoclavação</b>
<i>Escherichia coli</i>	Diarréia, infecção urinária, septicemia e meningite.	1. >10 <sup>6</sup>	1. 0
		2. >10 <sup>6</sup>	2. 0
		3. >10 <sup>6</sup>	3. 0
		4. >10 <sup>6</sup>	4. 0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Infecções severas nas córneas, urinárias e em queimaduras graves.	5. >10 <sup>6</sup>	5. 0
		6. >10 <sup>6</sup>	6. 0
		7. >10 <sup>6</sup>	7. 0
		8. >10 <sup>6</sup>	8. 0
<i>Staphilococcus aureus</i>	Infecções em feridas cirúrgicas e em ferimentos. Contaminação com alimentos, poeira e água.	9. >10 <sup>6</sup>	9. 0
		10. >10 <sup>6</sup>	10. 0
		11. >10 <sup>6</sup>	11. 0
		12. >10 <sup>6</sup>	12. 0
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Secreções purulentas da boca e trato respiratório.	13. >10 <sup>6</sup>	13. 0
		14. >10 <sup>6</sup>	14. 0
		15. >10 <sup>6</sup>	15. 0
		16. >10 <sup>6</sup>	16. 0

Comparando-se a Tabela 5.1 com a Tabela 5.2, conclui-se que o processo de esterilização da autoclave vertical não foi totalmente eficiente pois constatou-se a existência de colônias de bactérias através dos testes de cultura, enquanto o sistema proposto apresentou eficiência no processo de esterilização, validando a implementação.

# CAPÍTULO 6

## 6 Conclusões e Discussões

Este trabalho propõe a implementação de um sistema eletro-mecânico de baixo custo, permitindo garantir o controle da temperatura e pressão necessárias ao ciclo de esterilização, e na secagem dos materiais para uma autoclave vertical.

A seguir, é feita uma discussão dos resultados obtidos sendo, por fim, apresentadas as conclusões e sugestões para a continuidade do projeto como linha de pesquisa.

### 6.1 Discussões

Os microrganismos podem ser transmitidos de pessoa para pessoa, através de superfícies de qualquer equipamento e de materiais de uso comum, a não ser que sejam submetidos a descontaminação ao fim de sua utilização.

A descontaminação de equipamentos e materiais médicos envolve a destruição ou remoção de qualquer microrganismo a fim de prevenir a infecção de pacientes ou das pessoas que trabalham no ambiente hospitalar. As infecções hospitalares no Brasil são a quarta causa de mortalidade (Rutala, 1997).

A esterilização permite a descontaminação de equipamentos e materiais através da completa eliminação ou destruição de todas as formas de vida microbiana viáveis, podendo ocorrer por meio de processos físicos ou químicos. Um dos processos físicos de esterilização mais utilizados e que fornece maior segurança é a esterilização a vapor e pode ser efetuada através de autoclaves verticais e horizontais. Nestes equipamentos, os microrganismos são destruídos pela ação combinada da temperatura, pressão e umidade que promovem a termocoagulação e a desnaturação das proteínas da estrutura genética celular.

O vapor possui características vantajosas e outras limitantes no processo de esterilização. As vantagens consistem no rápido aquecimento, rápida penetração nos materiais a serem esterilizados, destruição dos esporos microbianos em curto período de

exposição, fácil controle de qualidade e letalidade, não deixando resíduos tóxicos nos materiais submetidos a este processo (Vessoni et al., 2002).

Autoclaves verticais são susceptíveis à recontaminação dos materiais esterilizados pois tais equipamentos não efetuam a secagem do material após o ciclo de esterilização, mantendo-os molhados.

A Tabela 3.1 (seção 3.7) apresenta uma comparação entre as autoclaves verticais e horizontais, de acordo com a norma NBR 9804, indicando requisitos que não são atendidos pelas autoclaves verticais. Embora as autoclaves horizontais sejam mais eficientes, estas apresentam custos elevados quando comparadas a autoclaves verticais (seção 1.3.1).

Em função disto, este trabalho abordou a implementação de um sistema eletromecânico de baixo custo, eliminando a intervenção do operador em todas as etapas do processo de esterilização para autoclaves verticais, garantindo a secagem do material ao fim do processo.

Para assegurar a eficácia na esterilização através das autoclaves verticais, foram necessários testes de cultura (seção 5.4). Inicialmente estes testes foram aplicados na avaliação da autoclave vertical, e, posteriormente no sistema proposto.

## 6.2 Conclusões

A ação letal do calor é uma relação entre tempo e temperatura, sendo dependente de fatores que definem a intensidade do tratamento e do tempo de exposição ao calor para reduzir a população microbiana a níveis estabelecidos. Em autoclaves verticais, estes fatores são controlados pelo operador do equipamento, sendo portanto sujeitos à falhas humanas. Estas falhas podem acarretar principalmente o uso de temperatura e pressão inadequadas e tempo de esterilização incorreto. Assim, o controle da duração do processo de esterilização é um fator crítico, pois ciclos com duração abaixo do recomendado por normas técnicas implicam em uma esterilização ineficiente enquanto que, ciclos com duração acima podem danificar os materiais esterilizados.

Em autoclaves verticais, após o ciclo de esterilização os materiais permanecem úmidos, sendo necessário secá-los em uma estufa. Este procedimento também está sujeito a falhas, pois a retirada dos materiais úmidos, o transporte dos mesmos até a estufa, favorecem a recontaminação.

O sistema eletro-mecânico de baixo custo proposto neste trabalho, permitiu reduzir as falhas humanas discutidas anteriormente, pois todas as etapas do processo de esterilização passaram a ser executadas seqüencialmente sem o controle do operador. Com isto, a temperatura e pressão necessárias à esterilização são ajustadas automaticamente de forma a garantir a secagem do material ao fim do processo.

Os testes biológicos efetuados na autoclave vertical antes da implementação do sistema proposto (seção 5.5) indicaram que a esterilização não foi totalmente eficiente, pois comprovou-se a existência de colônias de bactérias após o ciclo de esterilização (Tabela 5.1). Os mesmos testes biológicos efetuados também na autoclave vertical com o sistema eletro-mecânico adaptado validaram a eficiência da esterilização, pois verificou-se a inexistência de colônias de bactérias após os testes (Tabela 5.2).

Em virtude do alto custo das autoclaves horizontais em relação as autoclaves verticais (seção 1.3.1), a aplicação do sistema desenvolvido vem a contribuir na melhoria dos processos de esterilização para autoclaves verticais de forma a atender as exigências da norma NBR 9804.

Embora o novo sistema tenha atingido seus objetivos cabe salientar que o desempenho e a eficácia do processo de esterilização também é decorrente da aplicação de rotinas e procedimentos (seção 2.3) inerentes aos profissionais que tem a responsabilidade diária no empacotamento, processamento e monitorização dos materiais esterilizados.

### 6.3 Trabalhos Futuros

O sistema desenvolvido atuou no controle da temperatura e pressão necessárias ao ciclo de esterilização, e na secagem dos materiais, desligando automaticamente o equipamento ao término do processo. Contudo, outras melhorias podem ser implementadas para a otimização do equipamento, sendo descritas a seguir:

- **Timer eletrônico:** a utilização de um timer eletrônico permitiria selecionar diferentes tempos de duração para os ciclos de esterilização;
- **Filtro na entrada da água:** permitiria a filtragem da água na entrada da câmara de esterilização evitando a entrada de impurezas;
- **Filtro na saída da água:** impediria o refluxo de água durante a etapa de secagem dos materiais esterilizados, evitando a recontaminação;

- **Entrada de água automática:** dispensaria a necessidade do operador para a colocação de água na câmara de esterilização;
- **Prateleiras dentro do cesto:** permitiria a organização e disposição dos pacotes de forma a evitar o empilhamento inadequado dos materiais a serem esterilizados.

## 7 GLOSSÁRIO

**Ágar:** substrato para culturas bacteriológicas.

**Bactérias:** organismo de menos de 1 até 10 micrômetros, microscópicos, com membrana celular tipicamente unicelulares, sem núcleo celular diferenciado e com pouca cromatina. O DNA se localiza em uma região nuclear distinta sem contudo haver envoltório nuclear que o separa do resto do citoplasma.

**Cepas:** tronco de células.

**Convecção:** transmissão do calor por correntes (ar frio desce e ar quente sobe).

**Endógenas:** qualificativo do que se forma interiormente num organismo.

**Esporos:** forma de alta resistência que as bactérias podem assumir, que permitem sua sobrevivência em condições ambientais extremamente secas, quentes ou frias.

**Esterilidade:** incapacidade total para a reprodução.

**Exógenas:** qualificativo de qualquer elemento que atue num organismo, e tenha procedência externa.

**Flambagem:** desinfetar por meio de chamas rápidas.

**Infecção:** penetração e multiplicação de microrganismos no organismo animal, e que podem resultar conseqüências variadas.

**Inócua:** inofensivo.

**Manômetro:** instrumento para medir pressões.

**Microrganismos:** organismos microscopicamente pequenos.

**Patologia:** ciência que estuda as doenças, suas causas, sintomas, desenvolvimento e efeitos.

**Putrefação:** decomposição de matérias orgânicas de animais ou plantas, provocada por bactérias e fungos. Implica na emissão de gases fétidos.

**Terapêutica:** parte da medicina que estuda e põe em prática os meios adequados para aliviar ou curar os doentes.

**Vírus:** diminutas formações arredondadas ou alongadas, visíveis com o auxílio de microscópio eletrônico, composto com núcleo de moléculas de ácido nucléico e um envoltório de proteína, que tem a propriedade de existir isolados ou associados em cristais compostos por milhões de células.



## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO PAULISTA DE ESTUDOS E CONTROLE DE INFECÇÃO HOSPITALAR (APECIH). *Esterilização de Artigos em Unidades de Saúde*. São Paulo, 1998.

BRASIL. Conselho Federal de Farmácia. *Infecção Hospitalar*. Pharmacia Brasileira. 2000.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Portarias*: nº 12342/Código Sanitário/ 1978, nº 15/MS/ANVISA/1988, nº 211/MS/ANVISA 1999, nº 196/MS/ANVISA 1983, nº 930/MS/ANVISA 1992, nº 113/MS/ANVISA 1993, nº 122/DTN 1993, nº 211/MS/ANVISA 1999.

COSTA, João Ribas da. *Dicionário de Biologia*. 1.ed. São Paulo. Melhoramentos,1980. 189 p.

COSTA, A. O.; CRUZ, M. S. S.; MASSA, N. G. *Esterilização e Desinfecção: Fundamentos Básicos, Processos e Controles*. São Paulo. Cortez,1990.

DE CARLI, Geraldo Attilio. *Parasitologia Clínica*. Editora Atheneu. 2001. São Paulo. 810 p.

EB 2115/1991 Esterilização. *Esterilizadores a Vapor*. Esterilizadores Grandes. Requisitos.

FARMACOPEIA brasileira. 4. Ed. São Paulo, Atheneu, 1988. Pt.1, cap.X. 1 – 2.

INTERNATIONAL FEDERATION OF THE PHARMAUCETICAL INDUSTRIES. Sterility Assurance Based on Validation of the Sterilization process Steam Under Pressure. *J. Parenter. Sci. Tecnol.*, Philadelphia, v. 43, n. 5, p. 226-230, 1989.

NBR 9804/1987 Autoclaves Hospitalares

NBR ISO 11134/2001 *Esterilização de Produtos Hospitalares*. Requisitos para Validação e Controle de Rotina. Esterilização por Calor Úmido.

NBR ISO 11817/2001 Esterilização. *Esterilizador a Vapor*. Esterilizadores pequenos. Requisitos.

PINTO, TJA. *Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos*. Livraria LMC. Editora Atheneu. São Paulo. 2000.

PORTARIA CONJUNTA n.º 01/MS/SVS de 16 de dezembro de 1997. DOU 17/12/97.

PORTARIA INTERMINISTERIAL n.º 482 de 16 de abril de 1999. DOU/1999.

RUSSEL, A.D. et al. Gaseous Sterilization. In: *Principles and Practice of Desinfection Preservation and Sterilization*. 1982. p. 548-568.

RUTALA, W. A. Desinfection, Sterilization and waste Disposal. In: *Wenzel RP ed. Prevention and Control of Nosocomial Infections*. Baltimore: williams & Wilkin, p. 539-594.1997.

STANIER, R. Y.; DOUDOROFF, M.; ADELBERG, E. A. *Mundo dos Micróbios*. São Paulo. Edgard Blücher Ltda, 1969.

TRABULSI, Luiz Rachid; ALTHERTUM, Flávio. *Microbiologia*. 4 ed. Editora Atheneu. 2004. São Paulo. 697 p.

UNITED States Pharmacopeia. 22 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convencion, 1990.

VERONESI, Ricardo; FOCACCIA, Roberto. *Tratado de infectologia*. 2 ed. Editora Atheneu. 2002. São Paulo. 984 p.

VESSONI, T.C. *Journal of the Parenteral Drug Association*. v. 50,n.4, p.1-111.1996.

VESSONI, T.C. et. al. Validação de Processos de Esterilização a Vapor Úmido. *Revista Controle de Contaminação*. Ano 5 n.38. Junho/2002.

VESSONI PENNA, T. C. *Validação de Processos de Esterilização I*. Conceitos Básicos Laes & Haes, São Paulo, v. 15, n. 88, p. 46-48, 1994.

VESSONI PENNA, TC. *Esterilização Térmica*. Conceitos Básicos da Cinética de Morte Microbiana. *Revista Farmácia Bioquímica Univ. São Paulo*. (Supl. 1): 1-5, 1997.

VESSONI PENNA, T. C., MACHOSVILI, I. A., BASTON, L. M. Importância da Autoclave em Lactário Hospitalar. *Laes & Haes*, São Paulo, v. 16, n. 91. P.68-74. 1994.

VESSONI PENNA, T.C., C. A. Ferraz e E. T. Ishisaki. *Presterilization Microbial Load on Reused Medical Devices and STERRADR 100 Effectiveness on Reduction of Inoculated Bacillus Subtilis Spores*. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. no prelo. 1997.

<http://www.baumer.com.br>, 10/12/2003.

<http://www.fanem.com.br>, 15/08/2004.

<http://www.saude.mt.gov.br/vigilancia.html>, 11/12/2002.

[http://www.sercon.com.br/autoclav\\_odont.htm](http://www.sercon.com.br/autoclav_odont.htm), 5/12/2000.