

INDICADORES BIOLÓGICOS NA ESTERILIZAÇÃO POR FORMALDEÍDO

BORINI J.C.¹, MACHADO V.²

^{1,2} Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, Programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica - PPGEB, Curitiba, Brasil.

e-mail: julio@borini.com.br

Resumo: A esterilização de materiais hospitalares tem hoje uma atenção especial, devido às exigências da ANVISA com a publicação da RDC 15, para os materiais termo sensíveis, requerem-se tecnologias de esterilização, tais como a esterilização a formaldeído. Este estudo apresenta as principais normas relativas à esterilização a formaldeído, focando no controle microbiológico do processo. O controle microbiológico no processo de esterilização de produtos médicos visa garantir a inativação dos microrganismos. O objetivo desse estudo foi testar três tipos de indicadores biológicos e suas performances no processo de esterilização por formaldeído, sendo cada modelo de biondicador com uma população mínima de 10^6 UFC de esporos bacterianos de *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953. Um desses indicadores recomendado para uso somente em ciclos de vapor a alta temperatura. Foram efetuados cinco ciclos para comprovação da repetibilidade, sendo que um dos ciclos foi abortado para comprovação da eficácia dos indicadores testados, que apresentaram resultados totalmente iguais. Concluiu-se que são necessários mais ensaios para comprovação da eficiência dos indicadores biológicos testados, uma vez que todos apresentaram resultados similares. Com a confirmação dos resultados, laboratórios, indústrias e hospitais podem optar por indicadores com menor custo, na confirmação da esterilidade dos ciclos.

Palavras-chave: Indicadores Biológicos, Esterilização por Formaldeído, Segurança biológica, Esterilização de produtos médicos, Esterilização.

Abstract: *The sterilization of hospital materials today have a special attention, due to the requirements of ANVISA with the publication of the 15 RDC. For termal sensitive materials, it is required sterilizations technologies such as formaldehyde sterilization. This study presents the main conditions on formaldehyde sterilization, focusing on microbiological process control. The microbiological control in the sterilization of medical devices aims to ensure the inactivation of microorganisms. The aim of this study was to test three*

*types of biological indicators and their performances for formaldehyde sterilization process, each model indicator with a minimum population of 10^6 UFC of *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 bacterial spores. As a one of those indicators recommended for use only in steam cycles at high temperature. Five cycles were performed to prove the repeatability, and one cycle was aborted for proving the efficacy of the tested indicators that show equal results. It is concluded that further tests are needed to prove the efficiency of biological indicators tested, since all showed similar results. With the confirmation of the results, laboratories, industries and hospitals may choose indicators at lower cost, in confirming the sterility of cycles.*

Keywords: *Biological indicators, Sterilization Formaldehyde, Biosafety, Sterilization of medical devices, Sterilization.*

Introdução

A esterilização por autoclave é um processo que tem como objetivo destruir todas as formas de vida microbiana existentes nos artigos a serem processados. A esterilização a baixa temperatura por vapor de formaldeído é um dos processos físico ou químico que tem esse objetivo de destruir todas as formas de vida presentes, especialmente microrganismos, bactérias, fungos em forma vegetativa ou esporulada e a diversidade de vírus hoje existentes.

Para fundamentação teórica-científica, a qual se menciona muito o monitoramento biológico como fator preponderante para liberação das cargas esterilizadas e nos processos de validação do equipamento, foi utilizado as seguintes revisões bibliográficas: [1] Norma Técnica Internacional ISO 11138-5 – Esterilização de produtos sanitários – Parte 5: Indicadores biológicos para processos de esterilização a vapor e formaldeído a baixa temperatura. Genebra; 2006; [2] Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 15659: Esterilização de produtos para saúde – Esterilizadores de vapor a baixa temperatura e formaldeído – Requisitos e métodos de ensaio. Rio de Janeiro; 2009; [3] Práticas

Recomendadas SOBECC – Central de Material e Esterilização, Centro Cirúrgico e Recuperação Pós-Anestésica - 6ª edição. São Paulo; 2013; [4] Ramaley R et al. Performance Comparison for Three Types of Biological Indicators Used in Steam Sterilization Processes: Spore Strips, Crushable Self-contained, and Sealed Glass Ampoule. USA, 2003. Disponível: mesalabs.com; [5] Salmon VRA, Gewehr PM. 21º Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica – Validação da Esterilização a vapor de baixa temperatura e formaldeído de acordo com a Norma EN 14180. Curitiba; 2008.

O uso de indicadores biológicos para validação microbiológica e monitoração da rotina dos processos de esterilização são os indicados conforme NORMA ISO 11138-5 e ABNT NBR 15659. A fabricação dos indicadores biológicos ocorre na forma esporulada (Figura 1), isto se deve ao fato dos esporos serem bem resistentes ao efeito letal do agente calor, mais o processo físico químico, à capa proteica e de grandes quantidades de dipicolinato de cálcio. Deve-se levar em consideração uma cepa de qualidade e a produção deve obedecer a padrões rígidos e serem realizadas em laboratórios qualificados.

Uma população mínima de microrganismo de um milhão de esporos, é recomendado para que apresentem um desafio maior ao processo e conseqüentemente um nível de segurança de esterilidade, segundo o *Food and Drug Administration* (FDA), nos Estados Unidos, é exigido o SAL (*sterility assurance level*), que é um número de margem de segurança nos processos de esterilização. Portanto para uma população inicial de 1.000.000 e para obter um SAL de 10(-6), deverá ocorrer uma redução de 12 ciclos logarítmicos, ou seja, uma probabilidade de um item não estéril em 1.000.000 de itens. [2]

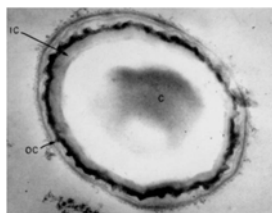


Figura 1: Corte de célula de *Geobacillus Stearothermophilus* em processo de esporulação. C-Cerne. IC- Capa interna. OC- Capa externa. Micrografia Eletrônica com aumento de 88.000X. Fonte: WALKER E BAILLIE, 1968.

Na produção do indicador biológico é fundamental a definição dos valores (valores esses sempre estão descritos na bula do produto, e com um lote para rastreabilidade):

* **D**: (tempo de redução decimal), que é o tempo necessário para reduzir a população microbiana a um ciclo logarítmico em uma determinada temperatura (Figura 2).

* **Z**: é definido como a elevação da temperatura necessária para reduzir em 90% a duração do tempo de esterilização.

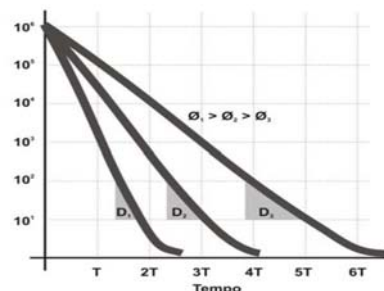


Figura 2: Valor D.

Fonte: Conceitos Básicos de Esterilização e Desinfecção e Qualificação – Baumer S/A – 2006.

Levando em conta todos os aspectos e metodologias de concepção do indicador biológico, o objetivo desse trabalho é avaliar os três modelos de indicadores que usam o mesmo *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953, nas mesmas condições de uso no processo de esterilização, porém com sistemas de leituras e incubação diferenciadas (10 horas, 48 horas e 5 dias). E testando principalmente o de 10 horas que é recomendado para uso em processos de esterilização a vapor a altas temperaturas.

Métodos

A Metodologia de avaliação da eficiência do processo de esterilização a formaldeído constituiu no uso de três modelos de indicadores biológicos. Sendo os indicadores biológicos diferentes em relação à quantidade de população de microrganismos e valores D, que são fatores determinantes para avaliação do indicador a ser utilizado na metodologia de análise. O estudo foi realizado no Hospital Costa Cavalcanti na cidade de Foz do Iguaçu, no setor de Central de Materiais, onde é processado todo material a ser esterilizado nas cirurgias.

Todos os testes foram realizados em um mesmo ambiente, com temperatura controlada e com ciclo de esterilização a uma temperatura de 60°C por 60 minutos de esterilização. Os três modelos de indicadores foram sempre colocados em uma mesma embalagem, considerando que foram usados 12 testes de cada modelo por ciclo, totalizando um total de 6 ciclos, e usados um total de 72 indicadores biológicos de cada marca para avaliação da análise microbiológica. Onde os resultados com a sigla P (Positivo) e N (Negativo).

Indicador Biológico em tiras – 05 dias - São tiras de papel, impregnadas com esporos viáveis, envelopadas individualmente (Figura 3), com as seguintes características listadas abaixo:

*População de esporos: $2,3 \times 10^6$;

*Valor D: 10,4 minutos.

A técnica de manipulação desse indicador após ter passado pelo processo de esterilização, tem que ser realizada em uma sala limpa livre de poeira em uma capela de fluxo laminar para que não ocorra na manipulação o risco de ocorrerem falsos positivos ou negativos com as amostras enviadas.

O procedimento é retirar a tira de esporos com uma pinça estéril e transferir para tubos individuais contendo de 10 a 15 ml de solução caseína de soja estéril. É necessário um choque térmico durante 60 minutos a 90°C. Após esse procedimento incuba-se a tira de esporos por cinco dias em uma incubadora que mantenha a temperatura entre 55°C a 60°C e acompanhar visualmente se ocorrerá ou não o crescimento bacteriano, que é detectado com a mudança de cor no meio de cultura. No caso de resultado positivo. [6].



Figura 3 – Indicador Biológico em Tiras
Fonte: Mesalabs, 2014

Indicador Biológico em tiras autocontido 48 – horas - São tiras de papel impregnadas com esporos viáveis, acondicionadas em um tubo de plástico (Figura 4) com as seguintes características listadas abaixo:

*População de esporos: $2,8 \times 10^6$;

*Valor D: 10,9 minutos.

Acondicionada em tubo de plástico (ampola), juntamente com uma ampola de vidro, com meio de cultura com 10 ml de caseína de soja com um agente neutralizante que realiza um pré-tratamento com Na₂SO₃ (Sulfato de Sódio). Ao término do ciclo pressiona-se ampola, a qual é quebrada a ampola de vidro interna e o líquido é misturado com a tira impregnada com esporos. Após esse procedimento é necessário colocar essa ampola para ser incubada e juntamente colocar uma ampola teste (que não passou pelo processo) e fazer o mesmo procedimento de quebrar a ampola de vidro para mistura do meio com a tira impregnada, para usar como parâmetro de teste positivo.

Utiliza-se uma incubadora (conforme mostrado na Figura 5) com controle de temperatura entre 55°C a 60°C por 48 horas e acompanhar visualmente se ocorrerá ou não o crescimento bacteriano, que é detectado com a mudança de cor no meio de cultura para o caso de resultado positivo. [8]



Figura 4 – Indicador Biológico Autocontido
Fonte: GKE, 2014



Figura 5 – Incubadora para Indicador Biológico Autocontido
Fonte: GKE, 2014

Indicador Biológico em tiras autocontido – 10 horas - São tiras de papel impregnadas com esporos viáveis, acondicionadas em um tubo de plástico (Confirme mostra a Figura 6) com as seguintes características listadas abaixo:

*População de esporos: $1,8 \times 10^6$;

*Valor D: 10,1 minutos.

Acondicionada em tubo de plástico tipo ampola, juntamente com uma ampola de vidro, com meio de cultura com 10 ml de caseína de soja com um filtro para retenção de umidade. Este indicador é recomendado para uso em ciclos de esterilização a vapor a alta temperatura – acima de 121°C. Ao término do ciclo pressiona-se a ampola de forma a quebrar a ampola de vidro interna e o líquido é misturado com a tira impregnada com esporos. Após efetuado esse processo é necessário colocar essa ampola para ser incubada e juntamente colocar uma ampola teste, que não passou pelo processo, e fazer o mesmo procedimento de quebrar a ampola de vidro para mistura do meio com a tira impregnada, para usar como parâmetro de Teste Positivo.

Utiliza-se uma incubadora (conforme Figura 7) com uma tecnologia com controle de temperatura entre 55°C a 60°C por 10 horas, sistema de impressão, alarme sonoro que, avisa se ocorrerá ou não o crescimento bacteriano, que é detectado com a mudança de cor no meio de cultura (Se der resultado positivo). [7]



Figura 6 – Indicador Biológico Autocontido
Fonte: Stericontrol, 2014



Figura 7 – Incubadora para Indicador Biológico Autocontido
Fonte: Stericontrol, 2014

Resultados

As tabelas 1, 2 e 3 apresentam os testes realizados no Hospital Costa Cavalcanti, na Cidade de Foz do Iguaçu – PR. Em um equipamento de esterilização da Marca BAUMER, MOD. HI VAC MX B542P, devidamente validado e calibrado.

Tabela 1 – Resultados Indicadores Biológicos 05 dias

Indicador	23/04	23/04	24/04	24/04	25/04	25/04
Controle	P	P	P	P	P	P
11 Tiras	N	P	N	N	N	N

Tabela 2 – Resultados Indicadores Biológicos 48 horas

Indicador	23/04	23/04	24/04	24/04	25/04	25/04
Controle	P	P	P	P	P	P
11 ind.	N	P	N	N	N	N

Tabela 3 – Resultados Indicadores Biológicos 10 horas

Indicador	23/04	23/04	24/04	24/04	25/04	25/04
Controle	P	P	P	P	P	P
11 ind.	N	P	N	N	N	N

A partir dos resultados apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3, observa-se que todos os resultados do segundo ciclo realizado no dia 23/04, apresentaram resultados positivos, pois foi simulada uma falha no ciclo para avaliação dos indicadores no processo de esterilização. Sabendo-se que o indicador descrito como “C”, é o indicador controle, ou seja, aquele que não passou pelo processo e consequentemente teve seu resultado positivo.

Conclusões

A partir dos resultados obtidos foi possível concluir que todos os indicadores tiveram resultados semelhantes, atendendo todos os requisitos que fizeram a inativação dos microrganismos *Geobacillus stearothermophilus*, inclusive obtendo-se resultado satisfatório mesmo com a simulação da falha de ciclo que resultou no positivamente de todos os indicadores. Ficando assim para um estudo posterior da avaliação do resíduo de formol no indicador biológico de 10 horas, que é recomendado para a esterilização a vapor por alta temperatura.

O teste comparativo dos três indicadores biológicos foi um primeiro passo para validar o processo de esterilização por formaldeído, reduzindo o de tempo de leitura, liberação mais rápida do material a ser processado e custos para hospitais que utilizam a esterilização a formaldeído. Observa-se que indicadores testados possuem os mesmos microrganismos na cepa, porém com tecnologias diferentes, tanto no tempo de resposta de leitura como no preço. Quanto ao indicador de leitura de 05 dias tem seu custo avaliado (indicador + laboratório) em torno de R\$ 90,00, o indicador de 48 horas com o custo estimado em R\$ 70,00 e o indicador de 10 horas com o custo em torno de R\$ 25,00, este apesar de ser recomendado para altas temperaturas teve o mesmo desempenho e resultados dos outros testes como mostra a análise feita.

Referências

- [1]. GRAZIANO, K.U.; SILVA, A.; PSALTIKIDIS, E.M. Enfermagem em Centro de Material e Esterilização. São Paulo: Editora Manole, 2011.
- [2]. POSSARI, J.F. Esterilização por Vapor de Baixa Temperatura e Formaldeído. São Paulo: Editora Iátria,

2003.

[3]. Russel, Hugo and Ayliffe's. Principles and Practices of Disinfection, Preservation and Sterilization 5th Edition / edited by Fraiser, A.P.; Lambert, P.A; Yves, J. Published for Blackwell Publishing, 2013.

[4]. ABNT NBR 15659 – Esterilização de produtos para saúde – Esterilizadores de vapor a baixa temperatura e formaldeído – Requisitos e métodos de ensaio. Rio de Janeiro, 2009.

[5]. ISO 11138-5 – Esterilização de produtos sanitários – Indicadores biológicos – Parte 5, 2006.

[6] Indicadores biológicos [citado em abril 2014]. Disponível em [internet] em <http://www.mesalabs.com/biologicalindicators>.

[7] Indicadores biológicos [citado em abril 2014]. Disponível em [internet] em <http://www.gke.eu/gke/eng/index.htm>.

[8]. Graham, G. S. and Boris, C. A. “Chemical and biological indicators”. In: R. F. Morrissey and G. B. Phillips eds. “Sterilization Technology: a practical guide for manufacturers and users of health care products”. Van Nostrand Reinhold, New York, 1993. p. 36-69.

[9] Esterilizadores a vapor e Indicadores biológicos [citado em abril 2014]. Disponível em [internet] www.baumer.com.br.

[10] Indicadores biológicos [citado em abril 2014]. Disponível [internet] em www.stericon.com.br.