

CONTROLE DA ESTERILIZAÇÃO EM AUTOCLAVE POR MEIO DE MÉTODOS QUÍMICOS E BIOLÓGICOS

CONTROL OF STERILIZATION IN THE AUTOCLAVE BY CHEMICAL AND BIOLOGICAL METHODS

José Laufer Neto^{1*}, Ricardo Kern¹, Elizabete Brasil dos Santos¹

^{1*} Autor para contato: Universidade Estadual de Ponta Grossa - UEPG, Departamento de Odontologia, Campus em Uvaranas, Ponta Grossa, PR, Brasil; (42) 3220-3104; e-mail: bete.brasil@terra.com.br

Recebido para publicação em 08/10/2004

Aceito para publicação em 18/03/2005

RESUMO

O controle dos processos de esterilização em autoclave em clínicas e consultórios odontológicos é muitas vezes negligenciado. O objetivo deste estudo foi comparar a eficácia de métodos químicos e biológicos no controle da esterilização em autoclave. Foram simuladas condições inadequadas de acondicionamento de materiais odontológicos, extrapolação do tamanho recomendado dos pacotes e utilização de marmitas de aço inoxidável fechadas e não perfuradas. A eficácia da esterilização foi acompanhada por controle biológico, utilizando-se *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus subtilis*; e químico, por meio de fitas de autoclave, que foram depositados no interior de pacotes de tamanho grande, médio e pequeno, feitos com campos de algodão e também no interior de caixas de aço inoxidável fechadas, perfuradas e não perfuradas. Após o ciclo de esterilização, os controles biológicos foram incubados em estufa a 60°C e 37°C/24-48h e classificados como positivo quando houve o crescimento dos microrganismos, e negativo quando este não ocorreu. O controle químico foi avaliado visualmente pela presença de marcações nas fitas de autoclave, sendo marcação ausente classificada como esterilização falha; marcação fraca como dúvida quanto à esterilização e marcação total como esterilização eficaz. Os resultados mostraram eficácia de 100% nos processos de esterilização da central de esterilização da UEPG em ambos os métodos de controle utilizado, mesmo em condições impróprias de acondicionamento dos materiais.

Palavras-chave: *Bacillus stearothermophilus*, esterilização, autoclave

ABSTRACT

The control of the sterilization processes in the autoclave in dental clinics and offices is sometimes neglected. The aim of this study was to compare the efficiency of chemical and biological methods used to control sterilization processes in the autoclave. Different situations were simulated with the autoclave, including inadequate packing conditions of dental materials, extrapolation in the size of the packages and use of closed non-perforated stainless steel boxes. The efficacy of the sterilization was controlled by the biological method, through the use of strips containing spores of *Bacillus stearothermophilus* and *B. subtilis*; and by the chemical method, through the use of autoclave strips that were put inside packages of different sizes, made of cotton fields, and also inside stainless steel boxes. The control group consisted of packages containing only the biological and chemical sterilization controls. After the sterilization cycles, the biological controls were plated on culture media and incubated at 60°C and 37°C/24-48h, and classified as positive (failure in sterilization) when the growth of the microorganisms was observed, and negative (efficacy of the process of sterilization) in the absence of bacterial growth. The chemical sterilization was considered efficient when the marks were visible, less efficient when the marks were faint and a failure in the absence of marks on the strips. The results showed 100% efficacy in the processes of sterilization at the Sterilization Center of the Ponta Grossa State University for both methods, even in inadequate conditions of preparation of the materials.

Key words: *Bacillus stearothermophilus*, sterilization, autoclave

Introdução

O cirurgião-dentista tem a obrigação moral, ética e legal, não só de proporcionar atendimento odontológico, mas também de impedir a infecção cruzada. De acordo com o art.4º, III do Código de Ética Odontológica de 1992, constitui um dos deveres do profissional “zelar pela saúde e dignidade do paciente” (Conselho Federal de Odontologia, 1992).

Durante o atendimento, inúmeras doenças podem ser transmitidas, como a Hepatite B, que apresenta o maior risco de contaminação, o Herpes, que apresenta maior frequência e a AIDS, que amedronta profissionais e pacientes. Essa transmissão de um paciente para outro, de pacientes para profissionais e vice-versa, durante a atividade clínica é denominada infecção cruzada (Grecco, 1998).

O protocolo do processo de esterilização em autoclave, bem como sua eficácia, encontram-se bem estabelecidos na literatura. A autoclave é um dos meios

mais comuns e seguros para a realização da esterilização de materiais visando prevenção de infecções cruzadas em consultórios odontológicos (Guandalini, 1999; Fonzi *et al.*, 1999).

Dentre as medidas adotadas nas universidades e clínicas privadas, esse processo é o que apresenta maior segurança. Sabe-se, contudo, que ele está submetido a alguns fatores que determinam o seu sucesso, ou seja, a eliminação completa de microorganismos de um dado material, a manutenção de boas condições de funcionamento da autoclave (temperatura e pressão adequadas), a embalagem e acondicionamento dos instrumentais, a disposição dentro da autoclave, e o tamanho e a adequação dos pacotes.

As principais causas de insucesso na esterilização em autoclave são: uso de carga maior que 80% da capacidade da autoclave; volume de água em excesso, provocando umidade nas embalagens, ou escassez de água, que causa danos (queima) nas embalagens; abertura das autoclaves antes da eliminação da pressão,

favorecendo a condensação de vapor d'água umedeando as embalagens; depressurização da autoclave pelo acionamento da válvula de escape, favorecendo a condensação de vapor; rompimento das embalagens durante o acondicionamento ou retirada da autoclave; queda da energia durante o ciclo de esterilização; falta de limpeza e manutenção do aparelho; não realização quinzenal de testes biológicos de monitoração com *Bacillus Stearothermophylus* para verificar a efetividade da esterilização; embalagens inadequadas para a esterilização em autoclave (Odontobrás, 2004).

Segundo Miller e Sheldrake (1994), um dos poucos procedimentos reconhecidos capazes de avaliar a qualidade do controle de infecção cruzada em consultórios é a monitoração do uso e do funcionamento do processo de esterilização por meio de indicadores biológicos.

Os indicadores biológicos referenciados na literatura como os melhores a serem utilizados para o controle dos processos de esterilização são tiras de papel impregnadas com esporos de *Bacillus stearothermophylus*, que são destruídos pela exposição ao vapor por 12 minutos a 121°C. Esse microrganismo é frequentemente utilizado para testes em autoclave. Para esterilização em calor seco são usados *Bacillus subtilis* esporulados, que são destruídos após esterilização a 160°C/2h (Guandalini, 1997). O uso de microrganismos esporulados deve-se ao fato de que os esporos são muito resistentes ao efeito letal do calor, dessecação, congelamento, substâncias químicas e radiações, isso devido à capa protéica e de grandes quantidades de dipicolinato de cálcio (Jorge, 1997).

O presente estudo se propõe a simular diferentes situações possíveis de ocorrerem na central de esterilização da UEPG, que dizem respeito ao acondicionamento dos instrumentais, com o intuito de avaliar se dentre estas condições existem situações que podem prejudicar ou invalidar o processo de esterilização, bem como de comparar a eficácia de diferentes meios de controle destes processos.

Material e Métodos

Para a realização dos experimentos, foi utilizada

a central de esterilização da Universidade Estadual de Ponta Grossa, no setor de Odontologia, que possui autoclaves industriais tipo horizontal, modelo HA, para esterilização a vapor – Sercon – Indústria e Comércio de Aparelhos Médicos Hospitalares Ltda.

Foram montados corpos de prova compostos de pacotes feitos de campos cirúrgicos de algodão e marmitas de aço inoxidável, que foram divididos em 4 grupos:

A – Pacotes padrão: Foram confeccionados sete pacotes com dimensões de 20X10X5 cm, utilizando-se uma média de 12 campos de algodão de 60X40 cm, que foram lavados 5 dias antes de cada experimento, mas não passados. Os controles biológicos, fitas contendo esporos de *Bacillus stearothermophylus* (kit Cefar-Diagnóstica Ltda) e parafusos oxidados contendo *Bacillus subtilis*, foram posicionados no interior dos campos que a seguir foram enrolados e embalados em papel Kraft. Pacotes semelhantes foram preparados para teste com indicador químico (fita de autoclave 3M). As fitas também foram posicionadas no interior dos campos, de maneira a formar um desenho similar a um asterisco com cerca de 15cm de comprimento.

B – Pacotes teste: Foram confeccionados sete pacotes com dimensões de 35X20X10 cm, utilizando-se de uma média de 32 campos de algodão com dimensões de 90X60cm, lavados cinco dias antes de cada experimento, mas não passados. O posicionamento dos controles biológicos e químicos foi semelhante ao do item A.

C – Foram usadas sete caixas de aço inoxidável, perfuradas, fechadas e embaladas com papel Kraft, contendo fitas contaminadas com *B. stearothermophylus*, parafusos contaminados com *B. subtilis* e fitas de autoclave em seu interior.

D – Foram usadas sete caixas de aço inoxidável, não perfuradas, fechadas e embaladas com papel Kraft, contendo fitas contaminadas com *B. stearothermophylus*, parafusos contaminados com *B. subtilis* e fitas de autoclave.

Os pacotes e as caixas foram entregues à Central de Esterilização da UEPG, sendo esterilizados de acordo com os procedimentos padrões adotados pela Universidade, num total de sete ciclos completos para cada corpo de prova. Os corpos de prova dos

grupos A e C estavam dentro do padrão adotado pela central de esterilização; os do grupo B apresentavam dimensões que extrapolavam os limites aceitos e também em desacordo estava o grupo D, no qual as caixas de aço inoxidável não perfuradas estavam fechadas durante os processos de esterilização.

Após os ciclos de esterilização, os indicadores biológicos foram retirados assepticamente do interior dos pacotes e caixas metálicas e foram transferidos para meios de cultura. *B. stearothermophilus*, para meio de cultura fornecido pelo kit da Cefar – Diagnóstica Ltda, que apresenta um indicador de pH, ocorrendo mudança da cor do meio de lilás (negativo) para amarelo (crescimento bacteriano) e os parafusos contaminados com *B. subtilis* para caldo Brain Heart Infusion (BHI), onde o crescimento de microrganismos pode ser verificado pela turvação do meio. Os meios foram então incubados a 60°C e 37°C/24-48h respectivamente. Após esse período verificou-se a presença de microrganismos nos respectivos meios pela

confeção de esfregaços e coloração de Gram, através dos quais também seriam confirmadas as características morfológicas e tintoriais dos microrganismos testados.

Para a análise dos testes químicos, nos quais se utilizou fita de autoclave (1222 - 3M do Brasil), estabeleceu-se o seguinte padrão de classificação: a) marcações ausentes: esterilização falha; b) marcações parciais: dúvida quanto ao processo de esterilização; c) marcações totais: esterilização eficaz.

Resultados

Todos os testes realizados foram negativos para crescimento bacteriano, mostrando eficácia do processo de esterilização em todas as situações analisadas. Todas as fitas de autoclave apresentaram marcações totais, indicando esterilização eficaz (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultados obtidos com os testes químicos e biológicos após esterilização

	Controle Químico	Controle Biológico	
	Marcação na fita de autoclave	Crescimento Bacteriano após esterilização	
	Tipo de marcação	<i>B. stearothermophilus</i>	<i>B. subtilis</i>
Pacote Padrão (grupo A)	Total	Ausente	Ausente
Pacote Teste (grupo B)	Total	Ausente	Ausente
Marmita aberta (grupo C)	Total	Ausente	Ausente
Marmita fechada (grupo D)	Total	Ausente	Ausente

Discussão

A autoclave é um dos meios mais comuns e seguros para a realização da esterilização de materiais visando prevenção de infecções cruzadas em consultórios odontológicos (Guandalini, 1999; Fonzi *et al.*, 1999). Segundo Nickerson *et al.* (1990), a esterilização em autoclaves é o método mais eficaz para prevenir a transmissão de doenças infecciosas.

O processo de esterilização em autoclave, entretanto, está submetido a alguns fatores que determinam o seu sucesso. Dentre esses fatores, estão a manu-

tenção das boas condições de funcionamento da autoclave, embalagem e acondicionamento dos instrumentais, armazenamento, disposição dentro da autoclave e tamanho e adequação dos pacotes, que podem influenciar o resultado da esterilização (Fonzi *et al.*, 1999; Miller e Sheldrake, 1999; Nickerson *et al.*, 1990).

Segundo Guandalini, (1997), o calor úmido oferecido pela autoclave é um meio efetivo para esterilização e não basta ter um bom equipamento, são necessários manutenção periódica e controle com testes biológicos.

Neste estudo foram utilizados testes químicos e

biológicos para verificar a eficácia dos processos de esterilização. Os testes biológicos consistiram de fitas impregnadas com *B. stearothermophilus* e parafusos impregnados com *B. subtilis*. Optou-se por utilizar as duas espécies de microrganismos devido à sua resistência e à sua capacidade de formar esporos, embora seja preconizado que o controle de esterilização em autoclaves seja feito apenas com *B. stearothermophilus*, que são destruídos pela exposição ao vapor durante 12 minutos a 121°C. *B. subtilis* são geralmente usados nos processos de esterilização em estufa a 160°C por 2h (Nickerson *et al.*, 1990; Palenik e Cumberlander, 1993; Palenik e Golden, 1994; Miller e Sheldrake, 1994; Sheldrake *et al.*, 1995; Fronzi *et al.*, 1999; Guandalini, 1999).

Os esporos são a forma microbiana de vida considerada mais resistente aos processos físicos e químicos. Os esporos são muito resistentes ao efeito letal do calor, dessecação, congelamento, substâncias químicas e radiações, isso devido à capa protéica e de grandes quantidades de dipicolinato de cálcio (Jorge, 1997). Além disso, eles demandam um maior desafio para o processo de esterilização, tendo em vista que patógenos sanguíneos como o HIV-1, o vírus da hepatite B e C e o vírus herpes simples são menos resistentes e mais prontamente eliminados na autoclave. Situações que conseguem eliminar esporos desses microrganismos também conseguem eliminar esses tipos de vírus (Palenik e Golden, 1994).

Muitos instrumentos odontológicos possuem reentrâncias e irregularidades que podem reter microrganismos se não for realizada uma lavagem eficaz antes da esterilização. Com o uso de parafusos impregnados com *B. subtilis*, buscamos simular esses instrumentais.

Os pacotes e caixas metálicas usadas neste estudo estavam em desacordo com o preconizado pelo Ministério da saúde (2000), com relação ao tamanho dos pacotes, fechamento das caixas metálicas não perfuradas e disposição dentro da autoclave mas observou-se que mesmo nessas condições não houve crescimento dos microrganismos usados nos testes biológicos. Segundo o Ministério da Saúde (2000), dentro das autoclaves, os pacotes devem ser posicionados de maneira que o vapor possa fluir por todos os itens. Deve-se respeitar um espaçamento de 20 a 25mm entre os pacotes e destes para as paredes do

aparelho e o volume de material não pode ultrapassar 80% de sua capacidade. Neste estudo, os pacotes e caixas contendo os indicadores biológicos foram posicionados próximos à porta, ao dreno e no meio da câmara, que são áreas onde o agente esterilizante chega com maior dificuldade (Carmo, 2002).

Os Estudos de Palenik e Golden (1994), Palenik e Cumberlander (1993) e Sheldrake (1995) relatam a utilização de controle positivo em que partes da suspensão ou tiras de papel impregnadas com os bacilos eram cultivadas de maneira separada durante 5 dias em temperatura adequada para ver se realmente existia crescimento bacteriano. A viabilidade dos microrganismos usados neste estudo, tanto *B. stearothermophilus* fornecido no kit Cefar-Diagnóstica Ltda, quanto *B. subtilis* fornecido pelo laboratório de Microbiologia da UEPG foi verificada, cultivando-os e incubando-os nas mesmas condições daquelas usadas no experimento.

O monitoramento químico consistiu na utilização de fitas de autoclave (3M). As fitas foram observadas quanto à intensidade da cor das marcações, e verificou-se se estas estavam ausentes, levemente marcadas ou se as marcações apresentavam coloração intensa. Não foram observadas marcações fracas ou inexistentes para o indicador químico, tanto nos pacotes quanto nas caixas metálicas, comprovando a eficácia do ciclo de esterilização, mesmo em embalagens apresentando condições adversas às preconizadas pela Universidade.

Um dos avanços na prática da esterilização é a compreensão de que os microrganismos submetidos à maioria dos processos de esterilização não morrem ao mesmo tempo, mas de uma forma progressiva. Assim, num primeiro momento tem-se a destruição de 90% da carga microbiana do material processado (esse valor tempo é conhecido como valor D). Num segundo momento, há a eliminação de 90% dos 10% restantes e assim sucessivamente por 12 vezes, de modo a se obter um nível de segurança de esterilidade da ordem de 10^6 esporos microbianos (SAL = sterility assurance level). Esse é o princípio que define a carga microbiana dos indicadores biológicos, numa contagem de 10^6 esporos bacterianos.

Por esse motivo, a limpeza do artigo torna-se extremamente importante para garantir a segurança do processo ao qual o artigo é submetido, uma vez que o sucesso da desinfecção/esterilização depende da carga

microbiana presente no artigo. Quanto menor a carga, maior a segurança do processo.

As condições usadas neste estudo para comprovação dessa afirmação foram a utilização de parafusos oxidados que simulariam instrumentais odontológicos que não foram corretamente limpos e desinfetados antes do ciclo de esterilização; pacotes feitos com campos cirúrgicos que apresentavam dimensões extremas e caixas de aço inoxidável fechadas e não perfuradas. Mesmo nessas condições adversas, o processo de esterilização foi eficaz na destruição dos microrganismos e na marcação das fitas de autoclave 3M.

Embora os resultados obtidos sugiram que apenas os ciclos de esterilização sejam importantes no processo de destruição dos microrganismos na autoclave, deve-se considerar que as alterações foram realizadas de forma aleatória e não se tem certeza de que fujam completamente dos padrões e tornem os materiais impróprios para esterilização em autoclave. Ainda, esses resultados não excluem a importância do monitoramento rotineiro dos processos de esterilização.

Conclusão

1- Os indicadores dos processos de esterilização utilizados em autoclave, tanto biológicos quanto químicos, foram negativos, indicando sucesso na esterilização do material, mesmo quando este foi acondicionado de maneira imprópria.

REFERÊNCIAS

1. CARMO, M.R.C. Biossegurança em Odontologia. **EFOA**, 2002.
2. CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA. **Código de ética odontológica**. Rio de Janeiro; CFO, 1992. p. 9.
3. FONZI, M.; MONTOMOLI, E.; GASPARINI, R.; DEVANA, D.; FONZI, L. Morpho-structural variations of bacteria after in steam vacuum assisted autoclave. **Bull Group Int. Rech. Sci. Stomatol. Odontol.**, v.41, n.41, p.124-130, Oct-Dec, 1999.
4. GRECCO, D. Conduas adotadas por cirurgiões-dentistas no controle da infecção cruzada – parte 1. **JBC**, v. 2, n. 8, p. 84-94, mar./abr. 1998
5. GUANDALINI, S.L. Biossegurança. **J. Bras. Odont. Clin**, v.1, n.1, p. 9-11, 1997
6. GUANDALINI, S.L.; MELO, N.S.F.O.; SANTOS, E.C.P. **Biossegurança em odontologia**. 2. ed, capítulo IV, p. 74-99, 1999.
7. JORGE, A. O. C. Coloração de Esporos: Wirtz-Conklin. In: __. **Microbiologia: atividades práticas**. São Paulo: Santos, 1997. cap.3. p. 23-25
8. MILLER, M.D.; SHEDRAKE, M.A. The ability of biological indicators to detect sterilization failures. **Am. J. Dent.**, v.7, n.2, p.95-7, 1994.
9. MINISTÉRIO DA SAÚDE, **Coordenação de controle de infecção hospitalar. Processamento de artigos e superfícies em estabelecimentos de saúde**. 2. ed, Brasília, 1994, 49p.
10. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Controle de infecções e a prática odontológica em tempos de AIDS – Manual de Conduas**, Brasília, 2000.
11. NICKERSON, A.; BHUTA, P.; ORTON, G.; ALVIN, B. Monitoring dental sterilizer's effectiveness using biological indicators. **Dent. Hyg.**, v. 64, n.2, p.69-73, Feb, 1990.
12. ODONTOBRÁS: www.odontobras 2004. Página da internet, acessada em 30/09/04.
13. PALENIK, C.J.; CUMBERLANDER, N.D. Effects on steam sterilization on the contents of sharps containers. **Am. J. Infect. Control.**, v.21, n.1, p.28-33, Feb, 1993.
14. PALENIK, C.J.; GOLDEN, L.C. Effectiveness of two types of sterilization on the contents of sharps containers. **Am. J. Dent.**, v.7, n.2, p.98-102, Apr, 1994.
15. SHEDRAKE, M.A.; MAJORS, C.D.; GAINES, D.J.; PALENIK, C.J. Effectiveness of three types of sterilization on the contents of sharps containers. **Quintessence Int.**, v.26, n.11, p.771-778, Nov, 1995.