**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM**

TAMARA CAROLINA DE CAMARGO

**AVALIAÇÃO DA ESTERILIZAÇÃO A VAPOR DO
INSTRUMENTAL LAPAROSCÓPICO MONTADO:
ABORDAGEM LABORATORIAL**

**SÃO PAULO
2013**

TAMARA CAROLINA DE CAMARGO

**AVALIAÇÃO DA ESTERILIZAÇÃO A VAPOR DO
INSTRUMENTAL LAPAROSCÓPICO MONTADO:
ABORDAGEM LABORATORIAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação Enfermagem na Saúde do Adulto (PROESA) da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração:
Enfermagem na Saúde do Adulto.

Orientadora:
Prof^a Dra. Kazuko Uchikawa Graziano.

**SÃO PAULO
2013**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Assinatura: _____

Data: ____/____/____

Catálogo na Publicação (CIP)
Biblioteca “Wanda de Aguiar Horta”
Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo

Camargo, Tamara Carolina de
Avaliação da esterilização a vapor do instrumental
laparoscópico montado: abordagem laboratorial / Tamara
Carolina de Camargo. -- São Paulo, 2013.
114 p.

Tese (Doutorado) – Escola de Enfermagem da Universidade
de São Paulo.

Orientadora: Prof^ª Dr^a Kazuko Uchikawa Graziano
Área de concentração: Enfermagem na Saúde do Adulto

1. Esterilização 2. Laparoscopia 3. Instrumentos
cirúrgicos 4. Enfermagem em centro cirúrgico 5. Enfermagem
baseada em evidências 6. Enfermagem I. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Tamara Carolina de Camargo

Título: Avaliação da esterilização a vapor do instrumental laparoscópico montado:
abordagem laboratorial.

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação Enfermagem na Saúde do Adulto
(PROESA) da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em Ciências.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Esta pesquisa foi desenvolvida na Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo, pelo Programa de Pós-Graduação Enfermagem na Saúde do Adulto (PROESA) com o apoio financeiro da FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO (FAPESP) e com incentivo da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP) por meio do Programa de Apoio e Incentivo à Pesquisa Docente, modalidade Capacitação Docente, do Conselho de Ensino, Pesquisa e Extensão (CEPE).

DEDICATÓRIA

*A meus pais
José Antônio de Camargo e Neusa Blas de Camargo,
pelo amor incondicional e por sempre compartilharem
dos momentos difíceis e alegres de minha vida.
Dedico meu amor, respeito e eterna gratidão.
Amo vocês!*

*A meu marido
Marcos José Lopes Simioni,
pelo amor, carinho, paciência,
compreensão, apoio e incentivo.
Por ter compreendido minha ausência.
Por confiar em mim e nunca
deixar de acreditar que eu conseguiria.
Agradeço sua admiração e confiança.
Amo você!*

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, pela proteção, condução de meus caminhos, fonte de toda inspiração e vida.

À Prof. Dra. Kazuko Uchikawa Graziano que, com toda a sua sabedoria e conhecimento, teve paciência, disposição e disponibilidade para minha orientação. Meu respeito profissional e sincera admiração pela sua sabedoria, humildade e determinação.

A minha irmã Patrícia, meu cunhado Ronaldo e meu querido sobrinho Matheus, pelo apoio, carinho e a torcida.

Aos colegas do Grupo de Pesquisa do CNPQ “Tecnologia e qualidade na limpeza, desinfecção, esterilização de artigos e áreas e antisepsia”, pelas valiosas discussões e contribuições enriquecedoras. Em especial, à Flávia Morais Gomes Pinto, Camila Quartim Bruna, Alda Graciele Claudio dos Santos Almeida e Karina Suzuki, pela colaboração, auxílio e participação nos experimentos de coleta de dados.

Às doutoras Marina Ishii e Michele Alfa, pela oportunidade de reflexão e contribuições metodológicas.

À Dra. Silma Pinheiro (em memória), pelos seus ensinamentos e oportunidade de compartilhar experiências, além do exemplo e respeito profissional

Ao Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, pela disponibilidade. À equipe do Centro Obstétrico em nome da enfermeira Chang Yi Wei. À equipe do Centro de Material e Esterilização, em nome da enfermeira Cristiane de Lion Botero Couto Lopes, por colocar à disposição o equipamento para esterilização.

À equipe do laboratório de Biomateriais da Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), campus Sorocaba, pela parceria na realização dos experimentos. Em especial, à Dra. Eliana Duek e aos técnicos André Dutra Messias e Maria de Lourdes Matsuura Shikama.

Ao Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Em especial, a microbiologista Cely Barreto da Silva, pelo auxílio e oportunidade de aprendizado na área de microbiologia.

Ao Lucas Petri Damiani, pelas contribuições estatísticas no cálculo das amostras e análise dos resultados.

Ao SENAI-Sorocaba, pelo cálculo da área dos instrumentais. Em nome dos professores Antonio Fernando dos Santos, Valter Roberto Serafim e José Roberto de Melo e do aluno Guilherme Lima Leite.

À PUC-SP, pela oportunidade de crescimento profissional, apoio, compreensão e suporte financeiro pela bolsa.

Às colegas da Prefeitura Municipal de Sorocaba pelo apoio e suporte nos momentos em que precisei me ausentar para realização deste estudo.

À empresa 3M Brasil, em nome de Nelyan Abdo, pelo fornecimento dos Indicadores Biológicos para realização desta pesquisa.

Ao PROESA, pela oportunidade de crescimento acadêmico. Às funcionárias da secretaria da Pós-Graduação, pelas contribuições e auxílios.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro para realização desta pesquisa.

A todos os amigos que direta ou indiretamente me acompanham nesta jornada...

Muito Obrigada!

“A possibilidade de realizarmos um sonho é o que torna a vida interessante”.
Paulo Coelho

Camargo TC. Avaliação da esterilização a vapor do instrumental laparoscópico montado: abordagem laboratorial. [tese]. São Paulo: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2013.

RESUMO

Esta pesquisa avaliou a segurança microbiológica da esterilização a vapor do instrumental laparoscópico reutilizável montado. Foram selecionados dois tipos de instrumental laparoscópico reutilizável: trocarte e pinça de dissecação de 5mm. Considerando a eficácia da limpeza como pré-requisito essencial para o processo de esterilização, a PRIMEIRA ETAPA da pesquisa, avaliou 66 instrumentos laparoscópicos, sendo 33 pinças e 33trocartes, submetidos a diferentes métodos de limpeza, avaliando como desfecho os resíduos orgânicos de proteína, hemoglobina e carboidrato, após contaminação intencional com sangue de placenta humana. Os métodos de limpeza testados foram: (1) limpeza manual com enxágue em água potável; (2) limpeza manual com enxágue em água potável, seguida de limpeza ultrassônica sem enxágue; (3) limpeza manual com enxágue em água potável, seguida de limpeza ultrassônica com enxágue em água potável e (4) limpeza manual com enxágue em água potável, seguida de limpeza ultrassônica com enxágue em água potável e último enxágue em água destilada esterilizada. Os experimentos foram acompanhados pelos grupos **controle Positivo** (sem limpeza) e **Negativo**, composto por instrumental laparoscópico novos sem contaminação intencional, avaliados após os procedimentos de limpeza (1) e (4). Para avaliação dos resíduos orgânicos, utilizou-se o kit Quantipro BCA para dosagem de proteínas, TMB One para hemoglobina, fenol 5% e ácido sulfúrico para carboidrato, todos com leitura por espectrofotometria. O grupo **controle Positivo** evidenciou níveis médios de $332\mu\text{g}/\text{cm}^2$ proteína, $30\mu\text{g}/\text{cm}^2$ carboidrato e $417\mu\text{g}/\text{cm}^2$ hemoglobina. Conforme esperado, o método de limpeza (4) apresentou desempenho superior quando comparado com o método (1), reduzindo 92% a mais de $\mu\text{g}/\text{proteína}/\text{pinça}$ e 40% a mais de $\mu\text{g}/\text{carboidrato}/\text{pinça}$ e por trocarte, embora esta superioridade não tenha sido observada de uma forma uniforme em todo o experimento. No grupo **controle Negativo**, os níveis máximos de proteína detectados foram $1,70\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e de carboidrato de $1,07\mu\text{g}/\text{cm}^2$, não sendo detectada hemoglobina. A SEGUNDA ETAPA, avaliou a esterilização do instrumental laparoscópico reutilizável montado com contaminação desafio de três vezes 10^6 esporos *Geobacillus stearothermophilus*

ATCC 7953, impregnados em suporte de papel filtro extraídos do indicador biológico comercialmente disponível para monitoramento da autoclavação. Os experimentos microbiológicos foram acompanhados dos grupos **controle Positivo** (suporte do indicador biológico não submetido à esterilização) e **controle Negativo** (instrumentos laparoscópicos esterilizados desmontados com contaminação desafio). Como grupo **Experimental**, foram analisados 370 instrumentos laparoscópicos esterilizados montados, sendo 185 pinças e 185 trocartes. Três suportes de papel impregnados com os esporos foram introduzidos no interior de cada instrumento laparoscópico, precedidos de limpeza tipo (4), embalados em papel grau cirúrgico e submetidos à esterilização a vapor saturado sob pressão (134°C por 5 minutos). Com técnica asséptica, cada suporte de papel foi inoculado em meio de cultura de *Tryptic Soy Broth* (TSB), incubado a 56°C por 21 dias. Não sendo observado crescimento, as amostras foram submetidas a um choque térmico a 80°C, por 20 minutos, para estimular a germinação, com reincubação por mais 72 horas. Não houve crescimento microbiano algum nas amostras do grupo **Experimental**. Os resultados dos grupos controles foram satisfatórios. O **controle Positivo** confirmou o desafio imposto aos experimentos e o **controle Negativo** apresentou resultados esperados de ausência de crescimento. Este estudo forneceu fortes evidências científicas para os Centros de Material e Esterilização sustentarem a segurança microbiológica da prática de esterilização do instrumental laparoscópico montado.

Palavras-chave: Esterilização, laparoscopia, instrumentos cirúrgicos, enfermagem em centro cirúrgico, enfermagem baseada em evidências e enfermagem.

Camargo TC. Evaluation of steam sterilization of laparoscopic instruments assembled: laboratory approach. [thesis]. São Paulo (SP), Brasil: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2013.

ABSTRACT

This study evaluated the microbiological safety of steam sterilization, the reusable laparoscopic instrument assembled. We selected two types of reusable laparoscopic instrument: trocar and dissecting forceps 5mm. Considering the efficacy of cleaning as an essential prerequisite for the sterilization process, the FIRST STEP evaluated 66 laparoscopic instruments, 33 trocars and 33 dissecting forceps, subjected to different cleaning methods evaluating outcome as organic waste protein, hemoglobin and carbohydrate after intentional contamination with blood from human placenta. Cleaning methods were tested: (1) manual cleaning rinse with potable water, (2) manual cleaning with rinsing in clean water, then cleaning ultrasonic without rinsing, (3) manual cleaning with rinsing in clean water, then cleaning ultrasonic rinse with potable water and (4) manual cleaning rinse with potable water, followed by ultrasonic cleaning with potable water rinse and final rinse in sterile distilled water. The experiments were accompanied by **positive control groups** (without cleaning) and **negative**, composed of laparoscopic instruments again without intentional contamination, assessed after the cleaning procedures (1) and (4). For evaluation of organic waste is used Quantipro BCA kit for the determination of protein, TMB One to hemoglobin, 5% phenol and sulfuric acid of carbohydrate with any read by spectrophotometry. The **positive control group** showed average levels of $332\mu\text{g}/\text{cm}^2$ protein, carbohydrate $30\mu\text{g}/\text{cm}^2$ and $417\mu\text{g}/\text{cm}^2$ hemoglobin. As expected, the cleaning method (4) superior performance when compared with the method (1), reducing 92% more $\mu\text{g}/\text{protein}/\text{forceps}$ and more than 40% $\mu\text{g}/\text{carbohydrate}/\text{forceps}$ and trocar, although this superiority has not been observed in a uniform manner throughout the experiment. In the **negative control group** maximum levels of protein detected were $1.70\mu\text{g}/\text{cm}^2$ and $1.07\mu\text{g}/\text{cm}^2$ carbohydrate was not detected hemoglobin. The SECOND STEP evaluated the sterilization of reusable laparoscopic instruments assembled with contamination challenge 3 times 10^6 *Geobacillusstearothermophilus* spores ATCC 7953, impregnated strips filter paper extracted from commercially available biological indicator for monitoring steam sterilization. The experiments were accompanied microbiological **positive**

control groups (biological indicator spore strips non-sterile) and **negative** (laparoscopic instruments sterilized contamination disassembled challenge). As experimental group were analyzed 370 laparoscopic instruments sterilized assembled, 185 dissecting forceps and 185 trocars. Three spore strips of paper impregnated were introduced in laparoscopic instrument within each preceded by cleaning type (4), packed in surgical paper and subjected to saturated steam sterilization under pressure (134°C for 5 minutes). With aseptic technique, each paper spore strip was inoculated into culture medium Tryptic Soy Broth (TSB) and incubated at 56°C for 21 days. No growth was observed, they were subjected to heat shock at 80°C for 20 minutes to stimulate germination, with more reincubation for 72 hours. There was no microbial growth in some samples of the experimental group. The results of the control groups were satisfactory. The Positive Control confirmed the challenge posed to experiments and the negative control presented results expected from the absence of growth. This study provides strong scientific evidence for the Centers for Material and Sterilization sustain the microbiological safety of the practice of sterilization of laparoscopic instruments assembled.

Keywords: Sterilization, laparoscopy, surgical instruments, operating room nursing, evidence-based nursing and nursing.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	- Instrumental laparoscópico utilizado nos experimentos	41
Figura 2	- Contaminação do instrumental laparoscópico com sangue de placenta humana	42
Figura 3	- Processos de limpeza	43
Figura 4	- Testes para avaliação do funcionamento da lavadora ultrassônica	44
Figura 5	- Esquema dos diferentes métodos testados para limpeza do instrumental laparoscópico	46
Figura 6	- Procedimentos para extração dos resíduos orgânicos	47
Figura 7	- Testes indiretos para detecção dos resíduos orgânicos, com leitura por espectrofotometria	49
Figura 8	- Indicador biológico comercialmente disponível para monitoramento dos ciclos de autoclavação	52
Figura 9	- Indicadores biológicos sendo desmontados para retirada dos suportes de papel impregnados com esporos <i>Geobacillus stearothermophilus</i> ATCC 7953	53
Figura 10	- Disposição dos indicadores biológicos nas pinças laparoscópicas	54
Figura 11	- Disposição dos indicadores biológicos nos trocartes	54
Figura 12	- Incubação dos meios de cultura	56
Figura 13	- Choque térmico dos meios de cultura	56
Figura 14	- Leitura final dos experimentos	66

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Curva-padrão de proteínas	49
Gráfico 2 - Curva-padrão de carboidratos	50
Gráfico 3 - Curva-padrão de hemoglobina	51
Gráfico 4 - Poder do teste para o tamanho amostral dos experimentos de avaliação da esterilização do instrumental laparoscópico montado	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Proporções utilizadas para construção da curva-padrão de proteínas	49
Tabela 2	- Proporções utilizadas para construção da curva-padrão de carboidratos	50
Tabela 3	- Proporções utilizadas para construção da curva-padrão de hemoglobina	51
Tabela 4	- Distribuição dos valores mínimo, máximo, mediana, média e desvio-padrão dos resíduos de carboidrato, proteína e hemoglobina em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e em $\mu\text{g}/\text{pinça}$ laparoscópica	62
Tabela 5	- Distribuição dos valores mínimo, máximo, mediana, média e desvio-padrão dos resíduos de carboidrato, proteína e hemoglobina em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e em $\mu\text{g}/\text{trocarte}$	63
Tabela 6	- Comparação da redução percentual média dos resíduos orgânicos de proteína, carboidrato e hemoglobina no instrumental laparoscópico, após diferentes métodos de limpeza empregados	64
Tabela 7	- Resultado do pré-teste para avaliar a esterilização do instrumental laparoscópico montado	65
Tabela 8	- Resultado das culturas do suporte de papel do indicador biológico dentro do instrumental laparoscópico esterilizado montado	66

. LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 - Comparação entre os valores médios de proteína, carboidrato e hemoglobina presentes no instrumental laparoscópico, após contaminação intencional com sangue de placenta humana e no endoscópio após contaminação desafio com ATS, ambos sem limpeza 73
- Quadro 2 - Comparação entre os valores médios de proteína, carboidrato e hemoglobina presentes no instrumental laparoscópico submetidos a diferente métodos de limpeza, confrontados com os referenciados pelos diversos autores da literatura 75
- Quadro 3 - Comparação entre os valores médios de proteína, carboidrato e hemoglobina presentes no instrumental laparoscópico submetidos a diferente métodos de limpeza, confrontados com os referenciados por Alfa e Nemes (2004) para limpeza de lúmen 77
- Quadro 4 - Síntese dos resultados da redução percentual média dos resíduos orgânicos de proteína, carboidrato e hemoglobina no instrumental laparoscópico após diferentes métodos de limpeza, e os respectivos valores em µg/instrumental 78

LISTA DE SIGLAS

AAMI	<i>Association for the Advancement of Medical Instrumentation</i>
ABNT	Associação Brasileiras de Normas Técnicas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AORN	<i>Association of periOperative Registered Nurses</i>
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
ATP	Adenosina Trifostato
ATS	<i>Artificial Soil Test</i>
BCA	<i>Bicinchoninic Acid</i>
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i>
CEPE	Conselho de Ensino, Pesquisa e Extensão
CME	Centro de Material e Esterilização
DeCS	Descritores em Ciências da Saúde
DP	Desvio-Padrão
EE-USP	Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo
ETO	Óxido de Etileno
EUA	Estados Unidos da América
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HEPA	<i>High Efficiency Particulate Air</i>
IB	Indicador Biológico
INCQS	Instituto Nacional de Controle e Qualidade em Saúde
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
LEM	Laboratório de Ensaios Microbiológicos
MeSH	Medical Subject Headings
NBR	Norma Brasileira
PFGE	<i>Pulsed Field Gel Electrophoresis</i>
POP	Procedimento Operacional Padrão
PUC-SP	Pontifícia Universidade Católica de São Paulo
RDC	Resoluções de Diretoria Colegiada
SAL	<i>Sterility Assurance Level</i> ou Nível de Segurança de Esterilidade
SENAI	Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial
SOBECC	Associação Brasileira de Enfermeiros de Centro Cirúrgico, Recuperação Anestésica e Centro de Material e Esterilização
TMB	Solução de Tetrametil Benzdina
TSB	<i>Tryptic Soy Broth</i> ou Caldo Trípico de Soja
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
USS	Ultrassônica

LISTA DE SÍMBOLOS

°C	Graus Celsius
%	Porcentagem
<	Menor
>	Maior
≤	Menor ou igual
≥	Maior ou igual
μg	Micrograma (10^{-6} g) - unidade de massa
μL	Microlitro (10^{-6} L) - unidade de volume ou capacidade
μmole	Micromole (10^{-6} moles de soluto por litro de solução)
cm	Centímetro (10^{-2} m) - unidade de comprimento
cm ²	Centímetro quadrado - unidade de área
EU	<i>Endotoxinunit</i>
kHz	Kilohertz - unidade de medida de frequência
mg	Miligrama (10^{-3} g) - unidade de massa
mL	Mililitro (10^{-3} L) - unidade de volume ou capacidade
mm	Milímetro (10^{-3} m) - unidade de comprimento
NaOH	Hidróxido de sódio
nm	Nanômetro (10^{-9} m) - unidade de comprimento
pH	Potencial hidrogeniônico
rpm	Rotação por minuto
V	Volts - unidade de tensão elétrica
W	Watt - unidade de potência
w/v	Peso por volume (gramas por 100mL)
Σ	Somatório

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 REFERENCIAL TEÓRICO	25
2.1 LIMPEZA.....	25
2.2 ESTERILIZAÇÃO A VAPOR SATURADO SOB PRESSÃO	29
2.3 ESTERILIZAÇÃO DO INSTRUMENTAL LAPAROSCÓPICO MONTADO.....	32
3 OBJETIVOS	38
4 MATERIAL E MÉTODO	40
4.1 TIPO DE PESQUISA	40
4.2 LOCAIS DA PESQUISA	40
4.3 AMOSTRA	41
4.4 COLETA DE DADOS	41
4.4.1 Avaliação da eficácia de diferentes métodos de limpeza do instrumental laparoscópico	42
4.4.2 Avaliação da esterilização do instrumental laparoscópico montado	52
5 RESULTADOS.....	61
6 DISCUSSÃO	68
7 CONCLUSÃO	81
REFERÊNCIAS	84
APÊNDICES.....	90
A Controle de esterilização dos meios de cultura	90
B Registro dos resultados dos testes de análise dos resíduos orgânicos de proteína, carboidrato e hemoglobina no instrumental laparoscópico.....	91
C Formulário de registro dos resultados dos testes de esterilidade do pré- teste	93
D Formulário de registro dos resultados dos testes de esterilidade com instrumental laparoscópico montado	94
ANEXOS	105
1 Cálculo da área da superfície do instrumental laparoscópico	105
2 Ciclos de esterilização do instrumental laparoscópico.....	107
2 Ciclos de esterilização dos meios de cultura	111

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A cirurgia videolaparoscópica é uma inovação tecnológica que surgiu como alternativa aos procedimentos cirúrgicos, diagnósticos e terapêuticos, que habitualmente se realizavam com laparotomia a “céu aberto”. Atualmente, a técnica é aceita em diversas especialidades, sendo a abordagem de primeira escolha para muitos procedimentos, como por exemplo, o tratamento da doença de vesícula biliar (Chandio et al., 2009).

De forma geral, a laparoscopia baseia-se na visualização e manipulação da cavidade abdominal e de seu conteúdo através de pequenas incisões na pele, por onde se introduzem trocartes que vão permitir a inserção de instrumentos e de ópticas acopladas a microcâmeras para captação de imagens. Como a cavidade abdominal é virtual, é necessária sua transformação em cavidade real para facilitar a visualização. Isto é alcançado por meio do chamado pneumoperitônio, que se constitui na distensão abdominal com a insuflação ativa de gás carbônico; este é inerte e, rapidamente, difundido na corrente sanguínea sem acúmulo excessivo. É fundamental ainda a iluminação da região a ser manipulada, por meio de fonte de luz externa, com a transmissão da luminosidade para o interior da cavidade através de um cabo de fibra óptica (Nasiet al., 1993; Dimas et al., 2006).

Esta técnica trouxe indiscutíveis vantagens, como raras complicações infecciosas, abreviação do tempo de internação, melhores resultados estéticos, rápida recuperação do paciente com breve reintegração social e profissional (Nasi et al., 1993; Chandio et al., 2009). O reconhecimento de todas estas vantagens foi acompanhado por novos desafios, dentre eles, o estabelecimento de diretrizes para o processamento seguro do instrumental e seus acessórios, marcados como sendo de conformação complexa, que por definição possuem lúmen inferior a 5mm ou com fundo cego, espaços internos inacessíveis para a fricção direta, reentrâncias ou válvulas (Brasil, 2012).

O Centro de Material e Esterilização (CME) é a unidade de apoio técnico responsável pelo processamento dos materiais utilizados na assistência à saúde, cabendo ao responsável técnico decidir pelos protocolos a serem empregados, descrevendo-os em forma de Procedimento Operacional Padrão (POP), com base em referencial científico atualizado, sendo amplamente divulgado e disponível para

consulta (Brasil, 2012). No quesito esterilização, a escolha do método deve considerar as características do agente esterilizante e a compatibilidade com a natureza do produto a ser esterilizado (Rutala e Weber, 2008).

O vapor saturado sob pressão é o método de esterilização indicado para o instrumental termorresistente por reunir vantagens como baixo valor D^1 , alta difusibilidade e penetrabilidade do agente esterilizante, rapidez, atoxicidade e menor custo (Rutala e Weber, 2008). Atualmente, a indústria disponibiliza instrumental para videolaparoscopia termorresistente.

Entre os profissionais da saúde, existe um arraigado conceito que, para o alcance do sucesso da esterilização por meio da autoclave, é necessário o contato direto do vapor com todas as superfícies dos materiais, sem se considerar os princípios físicos do calor latente. Conceitos arraigados, fundamentados em tradições, devem ser questionados, buscando evidências científicas fortes, para subsidiar as tomadas de decisões na prática assistencial (Galvão, Sawada e Rosse, 2002).

Por raciocínio dedutivo, acredita-se que a prática de autoclavar instrumental laparoscópico montado está assegurada pelos princípios físicos do calor latente e posterior condução térmica. Dentre os instrumentais cirúrgicos, há diversos materiais com conformação complexa que vêm montados de fábrica, como as frezas ortopédicas e os afastadores articulados.

Apesar dos referenciais teóricos da física na esterilização a vapor, vários documentos das organizações oficiais e não oficiais, nacionais e internacionais, considerados, como referência na área de Centro Cirúrgico (CC) e CME, recomendam que todos os materiais, incluindo nestes os de videolaparoscopia, estejam desmontados, antes de serem autoclavados (*Committee on Infection Control in the Handling of Endoscopic Equipment - Guidelines for preparation of laparoscopic instrumentation*, 1980; AAMI, 2006; Rutala e Weber 2008; Padoveze, Quelhas e Nakamura, 2010). Há também documentos que não enfatizam esta recomendação (AORN, 2012; Brasil, 2012). Não resta dúvida de que na autoclavação de materiais desmontados a condução térmica tem a melhor condição.

¹ Valor D (tempo de redução decimal): é o intervalo de tempo, à temperatura constante, necessário para reduzir 90% da população microbiana inicial (Rutala e Weber, 2008).

Por outro lado, sendo os acessórios laparoscópicos instrumentos complexos com várias peças de tamanhos pequenos, se esterilizados totalmente desmontados trazem transtornos às equipes cirúrgicas no momento de sua montagem no campo operatório. Destaca-se que alguns instrumentadores cirúrgicos desconhecem sua montagem correta, comprometendo sua funcionalidade, gerando estresse e tumultuando o início do procedimento cirúrgico (Caregnato e Lautert, 2005).

A autoclavação de instrumental laparoscópico previamente montado é uma realidade identificada por uma pesquisa, com amostra composta por 263 profissionais de enfermagem, em que 37% dos respondentes referiram que nas suas instituições esterilizam o instrumental laparoscópico montado (Feitosa, Camargo e Graziano, 2011). Essa prática visa à otimização do tempo e à segurança na montagem, porém, por outro lado, há equipes cirúrgicas que questionam a Enfermagem do CME se a esterilização dos instrumentos laparoscópicos montados está assegurada.

Esta preocupação motivou a autora desta tese, a desenvolver como dissertação de mestrado (Camargo, 2007), uma pesquisa experimental com o objetivo de avaliar a eficácia do processo de esterilização a vapor do instrumental laparoscópico montado, desafiando com suspensão de esporos do *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 na densidade de 10^6 UFC/mL. Mas, nas condições do experimento, houve recuperação do micro-organismo-teste em três peças de uma mesma pinça (3/48) e em três peças de um mesmo trocarte (3/60). Os resultados obtidos refutaram a hipótese inicial da pesquisa, quanto à segurança da autoclavação das pinças laparoscópicas e de trocarter montados. Diante da constatação de uma realidade nacional de esterilização do instrumental laparoscópico montado, decidiu-se retomar a questão de pesquisa com uma nova abordagem metodológica, também desafiadora, para subsidiar uma metanálise futura em uma revisão sistemática das produções científicas.

Considerando a eficácia da limpeza, como pré-requisito fundamental para garantia do processo de esterilização, a proposta de Camargo para o doutorado foi avaliar inicialmente a eficácia de diferentes métodos de limpeza do instrumental laparoscópico reutilizável praticados pelos CMEs para, posteriormente, avaliar a esterilização do instrumental laparoscópico reutilizável montado. Considerando a conformação complexa do instrumental, a resposta da garantia da limpeza foi

considerada não menos importante que a questão central da tese. Na avaliação microbiológica, optou-se pela inserção em cada instrumental de três suportes de papel filtro impregnados com esporos do *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 na densidade de 10^6 UFC/suporte, extraídos dos indicadores biológicos comercialmente disponíveis e utilizados rotineiramente no CME, para monitorar a efetividade da esterilização.

Isto posto, a questão norteadora principal da pesquisa consistiu em: o processo de esterilização, a vapor saturado sob pressão, do instrumental laparoscópico reutilizável montado é microbiologicamente seguro? Teve-se como hipótese que a autoclavação do instrumental laparoscópico montado é microbiologicamente segura.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 LIMPEZA

A limpeza é o processo de remoção de sujidades orgânicas e inorgânicas, redução da carga microbiana presente nos produtos para saúde, utilizando água, detergentes, produtos e acessórios de limpeza, por meio de ação mecânica (manual ou automatizada), atuando em superfícies internas (lúmen) e externas, tornando o produto seguro para o manuseio e preparado para desinfecção ou esterilização (Graziano, 2003; Rutala e Weber, 2008; Ribeiro, 2010; Brasil, 2012). Indiscutivelmente, a etapa da limpeza é considerada fundamental para a eficácia dos processos subsequentes, pois a sujidade atua como barreira física protegendo os micro-organismos e impedindo a ação dos agentes desinfetantes e esterilizantes (Graziano 2003; AAMI, 2006; Rutala e Weber, 2008).

A escolha do método de limpeza depende das características do dispositivo. O instrumental laparoscópico é considerado um material de conformação complexa por possuir lumens longos e estreitos (<5mm), válvulas, superfícies com ranhuras, encaixes e mecanismos de acionamento de pinças, constituindo um desafio para o processo de limpeza (AAMI, 2006; Ribeiro, 2010).

Boas práticas de instrumentação cirúrgica, como a limpeza do instrumental imediatamente após o uso, evitam o ressecamento do sangue e de outros fluídos corpóreos. No CME, recomenda-se a pré-limpeza dos materiais, que consiste em aplicar jatos de água para remoção da sujidade grosseira e imersão em soluções tensoativas para limpeza manual ou submetê-los ao processo automatizado ou pela combinação de ambas (AAMI, 2006; Rutala e Weber, 2008).

A limpeza manual é recomendada para dispositivos delicados e complexos, sendo complementada pela limpeza ultrassônica (AAMI, 2006; Rutala e Weber, 2008). Para facilitar a remoção da sujidade, deve-se imergir o instrumental desmontado em solução de detergente cuidadosamente selecionado, conforme o grau e tipo de sujidade, preencher os lumens com auxílio de seringa, para garantir o contato da solução com todas as superfícies do material, seguindo as orientações do fabricante quanto à diluição do tensoativo, temperatura da solução e tempo de contato. Utilizar escovas macias e artefatos que permitam friccionar todas as

superfícies do material, incluindo os lumens; a fricção deve ser realizada debaixo da água para minimizar a dispersão de aerossol (AAMI, 2006). Variações das técnicas podem ocorrer entre profissionais, constituindo uma limitação da limpeza manual (Ribeiro, 2010).

A limpeza automatizada proporciona a repetitividade do processo, reduz riscos ocupacionais a resíduos biológicos e químicos e aumenta a produtividade (Ribeiro, 2010). As lavadoras termodesinfetadoras removem a sujidade por meio de jatos de água associados ao detergente; as lavadoras de descarga são um tipo de lavadora termodesinfetadora destinada ao processamento de utensílios, como comadres e papagaios e as lavadoras ultrassônicas que agem pelo fenômeno da cavitação e implosão em que ondas de energia acústica propagam-se em meio líquido, gerando bolhas microscópicas que, ao entrarem em contato com a superfície do material, implodem e geram uma área de vácuo que remove a sujidade aderida ao material (Rutala e Weber, 2008; Psaltikidis e Ribeiro, 2011). O equipamento deve permitir a monitorização das etapas do ciclo de limpeza, pois, falhas no sistema automatizado podem comprometer o processo (Ribeiro, 2010).

A limpeza automatizada em lavadora ultrassônica com conector para canulados e tecnologia de fluxo intermitente é obrigatória, para os materiais com lúmen de diâmetro interno inferior a 5mm (Brasil, 2012). Estes equipamentos dispõem de conexões e outros dispositivos que facilitam o acesso, sejam de água ou detergente em todas as superfícies dos materiais (Ribeiro, 2010).

O enxágue deve ser realizado com água potável abundante que atenda a Portaria Ministerial nº 2914 de 12/12/2011, com o intuito de remover detritos e sujidades desprendidos dos materiais e resíduos dos detergentes por ação do fluxo de água; devem-se utilizar pistolas de água sob pressão para os materiais com lúmen (Psaltikidis e Ribeiro, 2011; Brasil, 2011; Brasil, 2012). Para o enxágue final, recomenda-se uso de água tratada, livre de contaminantes, endotoxinas e minerais, de modo a prevenir reações pirogênicas nos pacientes (Rutala e Weber, 2008; Brasil, 2012).

Deve-se estabelecer POP com descrição de cada passo do processo de limpeza e seus aspectos essenciais, para evitar variação entre os membros da equipe, além de aplicar metodologias de validação e verificação dos níveis de limpeza.

Existe uma variedade de métodos para avaliar os resultados do processo de limpeza, disponíveis e aplicáveis para a prática dos CME.

A análise visual simples ou amplificada com o auxílio de lentes intensificadoras de imagem iluminada de, no mínimo, oito vezes de aumento é obrigatória (Brasil, 2012). Como padrão para o grau de limpeza, é aceito que o material esteja visivelmente limpo (AAMI, 2006; Rutala e Weber, 2008). No entanto, esta medida não tem sido considerada suficiente para avaliar a limpeza, visto que pode haver resíduos de proteínas em superfícies aparentemente limpas, além da impossibilidade de inspecionar lumens longos e estreitos, compartimentos internos e áreas articuladas ou cobertas (SOBECC, 2009).

Na atualidade, há testes comercialmente disponíveis para verificação da eficácia da limpeza como:

- HemoCheck-S[®] teste de pronto uso indicado para monitorar a presença de sangue em superfícies, por meio de reação enzimática que promove rápida alteração de cor do reagente, proporcionando a detecção de até 0,1µg de resíduo de sangue;
- Biotrace Pro-tec[®] são indicadores que têm como base a detecção de resíduo orgânico de proteínas por meio de *swab*, sendo o nível de resíduo da superfície indicado pela cor da reação do teste;
- 3M Clean-TraceTM[®] são indicadores que têm como base a detecção de resíduo orgânico de proteínas por meio de *swab*, com sensibilidade de 50µg/área (Surface protein plus[®]) ou 3µg/área (Surface protein high sensitivity[®]), também pode ser detectada a presença de Adenosina Trifostato (Surface ATP[®] e Water total ATP[®]), fonte de energia presente em células vivas. Estes testes são capazes de detectar resíduos de matéria orgânica e micro-organismos em equipamentos, instrumentos cirúrgicos e superfícies, que permitem atestar, medir e validar a eficácia da limpeza (Alfa, 2006; SOBECC, 2009).

Alternativamente, há outros métodos fotolorimétricos para avaliar a limpeza da superfície dos materiais, por meio da detecção dos níveis de proteína, como o método de Biureto, o ensaio de Ninhydrina e o ensaio de Bradford (Alfa, 2006). Nestes métodos, são utilizadas reações químicas que resultam em soluções

coloridas, sendo a intensidade da cor produzida proporcional à concentração da substância que está sendo dosada.

Há testes especialmente desenvolvidos, para verificação da eficácia da limpeza pela ação mecânica nos equipamentos:

- Tosi[®] teste pronto uso indicado para monitoração de limpeza em lavadoras termodesinfectoras. Permite avaliação imediata por inspeção visual simples. Utiliza *soil* teste de equivalência ao sangue humano, aderido sobre uma superfície de uma lâmina de aço inoxidável com cobertura plástica. O teste é posicionado nas bandejas de lavagem, colocadas em diversas posições no interior das lavadoras. Depois das fases de limpeza e desinfecção, a eficácia da lavadora é avaliada por inspeção visual, esperando-se a remoção completa do *soil* teste.
- Tosi LumCheck[®] indicado para monitoração de limpeza em canulados submetidos à limpeza em lavadoras ultrassônicas com retrofluxo. O teste com simulador de sujidade é introduzido no interior do lúmen do instrumento-teste, denominado porta-lúmen, e este é conectado ao dispositivo para limpeza de lúmen da lavadora ultrassônica. Ao término do ciclo de limpeza, procede-se a inspeção visual do simulador de sujidade; espera-se a remoção completa da sujidade-teste.
- SonoCheck[®] teste pronto, uso indicado para monitorar o nível de energia ultrassônica durante a limpeza dos instrumentais cirúrgicos, com resultado imediato. O processo de cavitação aciona uma reação química da ampola do SonoCheck[®], mudando da cor verde para amarelo (Alfa, 2006; SOBECC, 2009).
- Teste de Resíduo Soil Test[®] é um produto com formulação química atóxica, contendo materiais que simulam as características de sangue presente nos instrumentais. É uma mistura pronta, acondicionada em recipientes individuais que contêm um pincel próprio para aplicação sobre os instrumentais. Ao término do ciclo de limpeza, procede-se à inspeção visual do simulador de sujidade; espera-se a remoção completa da sujidade-teste (Bergo e Graziano, 2005; Bergo 2006).

2.2 ESTERILIZAÇÃO A VAPOR SATURADO SOB PRESSÃO

A esterilização é classicamente conceituada, como um processo de destruição de todas as formas de vida microbiana, incluindo os micro-organismos esporulados. Atualmente, com o conhecimento sobre o comportamento e diversidade dos micro-organismos e a cinética da morte microbiana, o conceito de esterilização passa a assumir um entendimento mais complexo, envolvendo estatística (Graziano, 2003; Rutala e Weber, 2008).

A probabilidade da inativação microbiana é, atualmente, referida pelo nível de segurança de esterilidade (*Sterility Assurance Level* - SAL). Um produto é considerado esterilizado, quando a probabilidade de sobrevivência de um único micro-organismo for menor do que 10^{-6} Unidades Formadoras de Colônias (UFC), ou seja, 1:1.000.000. Em suma, o SAL é uma estimativa de letalidade do processo de esterilização, obtida por um cálculo conservador no qual a escolha do parâmetro de 10^{-6} foi arbitrado e não associado com qualquer resultado adverso (Rutala e Weber, 2008).

Pinto, Kaneko e Ohara (2010) reforçam que organismos expostos a agentes letais não morrem todos simultaneamente; portanto, a ausência de todos os organismos viáveis irá ocorrer em um tempo infinito de exposição ao agente. Esterilidade é um estado absoluto e que não pode ser garantido. O cuidado desenvolvido do processo esterilizante apenas aumenta a probabilidade de sucesso no sentido da esterilidade.

A inativação dos micro-organismos por agentes esterilizantes envolve dano irreversível de moléculas essenciais à célula. Um micro-organismo é definido como morto, quando não mais prolifera em meios de cultura onde usualmente isto ocorria. A expressão “livre de formas demonstráveis de vida” tem sido empregada como sinônimo de “estéril” (Pinto, Kaneko e Ohara, 2010).

A morte microbiana se dá em curva exponencial, sendo o tempo de redução decimal (valor D) definido como intervalo de tempo, à temperatura constante, necessário para reduzir 90% da população microbiana inicial (Rutala e Weber, 2008). Esse valor, expresso em minutos, é utilizado para estabelecer parâmetros de esterilização por diferentes métodos. O tempo de exposição ao processo de esterilização deverá garantir um nível de segurança de morte microbiana na ordem de

10^{-6} , no qual por 12 vezes o valor D foi aplicado a um material com contaminação inicial de 10^6 UFC (Padoveze, 2010; Padoveze e Graziano, 2011).

A escolha do método de esterilização depende, sobretudo, da natureza dos materiais quanto à termorresistência. Os materiais sensíveis ao calor e à umidade requerem tecnologias de esterilização à baixa temperatura, como por exemplo, óxido de etileno, gás plasma de peróxido de hidrogênio e vapor à baixa temperatura e formaldeído. Para os materiais resistentes ao calor, o processo de esterilização recomendado é a esterilização a vapor saturado sob pressão, por meio de equipamento denominado autoclave, em razão da eficiência, segurança, baixo valor D, alta difusibilidade, alta penetrabilidade, rapidez, atoxicidade, economia e baixo risco ocupacional (Rutala e Weber, 2008).

O mecanismo de esterilização das autoclaves está relacionado com o calor latente. O vapor saturado sob pressão em contato com a superfície fria dos materiais dispostos dentro da autoclave sofre condensação, liberando o calor latente de vaporização que molha e aquece simultaneamente os materiais. Este calor acarreta termocoagulação das proteínas e morte dos micro-organismos, ou seja, a esterilização fundamenta-se na troca de calor entre o meio e o objeto a ser esterilizado (Perkins, 1983; Padovezes, Quelhas e Nakamura, 2011). No processo de autoclavação, o calor latente de vaporização é caracterizado pela condensação do vapor da água, à pressão constante, sem variação de temperatura (Francis e Pashley, 2009).

Para a garantia da eficiência do processo de esterilização, é essencial a combinação entre o intervalo de tempo de exposição e temperaturas (121°C ou 134°C) adotados nos ciclos. O tempo de exposição do material em uma autoclave abrange três componentes: intervalo de penetração do vapor, necessário para que a carga atinja a temperatura da câmara; tempo de esterilização propriamente dita que é o menor intervalo necessário, para que ocorra a destruição de todas as formas de vida microbiana, podendo variar dependendo da temperatura empregada e da carga microbiana inicial e, finalmente, o intervalo de confiança, que é o adicional utilizado para garantir uma maior segurança da esterilização, geralmente, correspondendo ao dobro do tempo necessário para eliminação de 10^6 de esporos bacterianos (Graziano, 2003; AAMI, 2006).

Após o término do intervalo de exposição, inicia-se a exaustão do vapor do interior da câmara pelo dreno da autoclave, com o auxílio de uma bomba de vácuo ou ejetor de vapor tipo Venturi. A pressão negativa durante o período de vácuo associada à temperatura residual na câmara da autoclave e nos pacotes promovem o processo de secagem (AAMI, 2006).

Há necessidade de se estabelecer padrões no preparo e acondicionamento dos materiais a serem esterilizados. As embalagens devem ser permeáveis ao vapor, resistentes à umidade, flexíveis e não podem permitir a penetração do micro-organismo, após o processo de autoclavação. Sua composição deve estar livre de produtos tóxicos, corantes e não deve liberar resíduo. Devem favorecer o fechamento, selagem e apresentarem facilidade na abertura sem ocasionar risco de recontaminação de seu conteúdo (Graziano, 2003).

Os parâmetros críticos do processo de esterilização devem ser monitorados. A legislação vigente (Brasil, 2012), que dispõe sobre requisito de boas práticas para o processamento de produtos para saúde, destaca:

- teste para avaliar o desempenho do sistema de remoção de ar (Bowie & Dick) da autoclave assistida por bomba de vácuo, realizado no primeiro ciclo do dia;
- registro dos indicadores físicos (tempo, temperatura e pressão) de cada ciclo de esterilização;
- monitoramento do processo de esterilização em cada carga em pacote desafio com integradores químicos (classe cinco ou seis). Os indicadores integradores (classe cinco) reagem com todos os parâmetros críticos do ciclo de esterilização. No caso das autoclaves, monitoram temperatura, tempo mínimo de exposição e a qualidade do vapor; os indicadores emuladores ou simuladores (classe seis) reagem com todos os parâmetros críticos de um ciclo, específico de esterilização, proporcionando alta sensibilidade e especificidade no monitoramento (Calicchio et al., 2011);
- monitoramento diário do processo de esterilização com indicador biológico, em pacote desafio, que deve ser posicionado no ponto de maior desafio ao processo de esterilização definido durante estudos térmicos de desempenho do equipamento de esterilização. Os indicadores biológicos são preparações padronizadas contendo em torno de 10^6 esporos bacterianos, comprovadamente resistentes ao tipo de esterilização; para o vapor, indica-se o *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 (Rutala e Weber, 2008);

- na esterilização de produtos para saúde implantáveis, deve ser adicionado um indicador biológico a cada carga, sendo liberada após a leitura negativa do indicador biológico.

Os equipamentos devem estar em perfeitas condições de funcionamento e qualificados. As autoclaves devem possuir qualificação de instalação, de operação e de desempenho, realizada por empresas capacitadas com periodicidade mínima anual (Brasil, 2012).

2.3 ESTERILIZAÇÃO DO INSTRUMENTAL LAPAROSCÓPICO MONTADO

Uma revisão bibliográfica foi realizada sobre a segurança na autoclavação do instrumental laparoscópico montado. Utilizou-se o vocabulário controlado dos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS) e do Medical Subject Headings (MeSH): esterilização/sterilization, instrumentos cirúrgicos/surgical instruments. A busca foi complementada por vocábulos livres (esterilização a vapor/steam sterilization e montado/assembled) nos idiomas português e inglês, utilizando o operador booleano AND, entre os termos. Foram encontrados apenas dois artigos com abordagens relacionadas ao problema de interesse.

Dentre eles, um artigo original de Dallas – Estados Unidos da América (EUA), publicado em 1991, relata um estudo laboratorial com a hipótese de que o instrumental de laparoscopia montado alcança a mesma segurança da esterilidade, quando comparado ao instrumental desmontado (Marshburn et al., 1991). O outro artigo, localizado pela busca dos *links* relacionados ao artigo anterior (*Related Links*), relata uma publicação original do Mississippi (EUA) do ano de 1995, onde os autores realizaram um estudo laboratorial com o objetivo de determinar a eficácia da esterilização a vapor dos instrumentos laparoscópicos com os lumens vedados com carne (massa para hambúrguer) e uma alta concentração de micro-organismos em seu interior (Voyles et al., 1995). Esse último artigo, embora não caracterize exatamente uma pesquisa com instrumental montado, foi analisado por considerar a vedação dos lumens como um desafio para o não contato direto do vapor na superfície dos lumens, e o calor transmitiu-se por meio do material pelo princípio do calor latente, que é o referencial teórico que suporta a hipótese da presente pesquisa.

No primeiro estudo, Marshburn e seus colaboradores (1991) utilizaram suspensões de bactérias na forma vegetativa (*Serratia marcescens*) e esporuladas (*Bacillus subtilis* e *Bacillus stearothermophilus*) para contaminação desafio de duas pinças (Grasper e bipolar) e dois trocartes (5mm e 10mm) laparoscópicos. As suspensões bacterianas foram inoculadas por meio de uma haste com algodão enrolado na ponta (*swab*), previamente esterilizada, em dez locais considerados mais críticos para retenção da matéria orgânica e, conseqüentemente, de difícil limpeza, sendo três locais no trocarte de 10mm, cinco no trocarte de 5mm, um na pinça Grasper e um na pinça bipolar. Os autores utilizaram dois diferentes protocolos para testar a eficácia da esterilização: no **Protocolo 1**, os instrumentos eram desmontados, contaminados por esfregaço com as suspensões microbianas descritas em diferentes locais, usando o *swab*. Em seguida, sem lavagem prévia, os instrumentos foram montados, embalados e esterilizados em óxido de etileno - ETO (1:45 horas de tempo de esterilização e 20 horas de aeração) e a vapor (4 minutos a 132°C); no **Protocolo 2**, os materiais foram submetidos à mesma contaminação desafio, lavados manualmente e divididos em três grupos sendo: (1) instrumentos montados, (2) instrumentos desmontados e esterilizados a vapor (4 minutos a 132°C), e (3) instrumentos mantidos desmontados em condições ambientais sem passar pelo processo de esterilização, constituindo-se o Grupo Controle Positivo. Foram colhidas amostras para cultura em triplicata, por meio de *swabs* esterilizados e umedecidos com caldo TSB, em cada local previamente contaminado. Os *swabs* foram colocados em tubos com 3,5mL do meio de cultura TSB e as subculturas em placas de ágar sangue incubados por sete dias, nas temperaturas especificadas para os micro-organismos testes (*Serratia marcescens* e *Bacillus subtilis* a 35°C; *Geobacillus stearothermophilus* a 56°C). Com a aplicação do **Protocolo 1**, todas as bactérias vegetativas morreram, porém, os esporos sobreviveram em 30% das amostras esterilizadas pelo ETO (9/30) e em 13% das amostras esterilizadas pelo vapor (4/30); com o **Protocolo 2**, obteve-se 4% de culturas positivas para os instrumentos montados (1/24), 3% para os instrumentos desmontados (1/30) e 100% para o Controle Positivo (30/30). Os autores concluem que um alto nível de desinfecção pôde ser obtido com limpeza e autoclavação de instrumentos laparoscópicos montados, considerando um método aceitável para preparação do instrumento para uso cirúrgico, observando que a pesquisa utilizou contaminação desafio, em

uma densidade microbiana muito acima da encontrada na prática, após a limpeza. Ressaltam, ainda, que desde a conclusão desse estudo, o instrumento laparoscópico tem sido autoclavado montado nos hospitais onde os autores mantêm atividades profissionais, sem incidência de infecção em 160 pacientes acompanhados por duas semanas de pós-operatório.

O outro estudo realizado por Voyles e seus colaboradores (1995) utilizaram um dos componentes do instrumental laparoscópico, trocar 12mm, com o lúmen totalmente preenchido com matéria orgânica (carne para hambúrguer) e alta concentração de micro-organismos-teste (*Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Actinomyces pyrogenes*, *Cândida albicans* e *Escherichia coli* na concentração de 1.8×10^9 UFC/mL), para avaliar a eficácia do calor latente e da condução térmica na esterilização a 132°C, utilizando ciclos convencional e *flash*, com tempo de exposição de 10 e 3 minutos, respectivamente. Amostras da carne para hambúrguer foram colocadas em placa de Agar sangue, sendo em triplicata para o ciclo convencional (21) e sextuplicata para o ciclo *flash* (42), todas incubadas em laboratório clínico por 72 horas. Todos os micro-organismos-teste foram eliminados. A eficácia da esterilização pelo vapor, nessas condições do experimento, foi atribuída às leis fundamentais da física:

... “o contato do vapor com os objetos frios converteu o vapor para o líquido, e ocorreu a fantástica transferência de calor ou energia (cinco vezes a quantidade de energia que seria liberada para resfriar a água de 100° a 0°C). A transferência de energia, referida como calor latente da vaporização, foi rapidamente transmitida pela condutividade da cânula de metal para as partes internas e efetivamente coagulou as proteínas vegetativas dos micro-organismos, induzindo a morte dos mesmos. A alta pressão atmosférica das autoclaves a vapor aumentou a quantidade de energia (calor) transferindo-a para os instrumentos laparoscópicos durante a condensação. Dentro do pior cenário experimental, houve condução de energia térmica suficiente, apesar das cânulas de metal estarem “fechadas” pelo preenchimento dos lumens com a massa do hambúrguer. Em 3 minutos os organismos patogênicos contaminados foram mortos. A chave da esterilização é o contato do micro-organismo com o calor (energia) e não necessariamente o contato direto com o vapor” (Voyles et al., 1995).

Nas mesmas condições de desafio, com o preenchimento do lúmen com matéria orgânica, Voyles e seus colaboradores (1995) também testaram indicadores biológicos comercialmente disponíveis do *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953, sendo dez amostras para os seguintes tempos de exposição: 3, 4, 5, 6, 7 e 10 minutos, em temperatura de 132°C. Simultaneamente, realizaram os mesmos testes sem adição de carne de hambúrguer nos lumens, sendo cinco amostras para cada tempo de exposição. Os indicadores foram incubados a 55°C por 48 horas, sendo a

recuperação microbiana acompanhada diariamente. Dos esporos contidos nos trocartes com lúmen preenchido com matéria orgânica, 100% (10/10) sobreviveram a 3 e 4 minutos de exposição ao vapor; 60% (6/10) a 5 minutos, 10% (1/10) a 6 minutos e nenhum crescimento (0/10) em 7 e 10 minutos de exposição ao vapor. Todos os esporos inseridos nos trocartes sem preenchimento com matéria orgânica, foram destruídos em apenas 3 minutos de exposição ao vapor. A destruição total dos micro-organismos-teste foi alcançada apenas, quando foram usados tempos de esterilização expandidos de 7 e 10 minutos, parâmetros estes distintos dos padronizados para autoclave com pré-vácuo, quais sejam, 132°C por 4 minutos (AAMI, 2006; Rutala e Weber, 2008).

A pesquisa de Lopes, Graziano e Pinto (2011) realizada para avaliar a eficácia da esterilidade dos instrumentos laparoscópicos de uso único, empregou como grupo comparativo 50 instrumentos equivalentes reutilizáveis (oito agulha de Veress, 17 aspiradores/irrigadores, 17 aspiradores com eletrocautério e oito pinças). Nos experimentos, após a contaminação desafio com esporos bacterianos (*Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953) e sangue de carneiro, os instrumentos reutilizáveis foram submetidos a limpeza automatizada em lavadora ultrassônica com retrofluxo com auxílio do detergente enzimático, limpeza manual complementar com serpilhos e irrigação dos lumens com jato de água sob pressão, enxágue com água destilada esterilizada, secagem com ar comprimido medicinal, **montagem**, acondicionamento em embalagens de papel grau cirúrgico e esterilização a vapor, saturado sob pressão com pré-vácuo à temperatura de 134°C por cinco minutos. Os testes de esterilidade foram realizados por inoculação direta dos instrumentos nos meios de cultura de caseína soja e incubação por 20 dias. Não houve recuperação dos micro-organismos-teste. Esses resultados reforçam a possibilidade de segurança da esterilização dos materiais montados pelos princípios físicos do calor latente e da condução térmica.

Atualmente, os trabalhos disponíveis sobre a eficácia da esterilização do instrumental cirúrgico autoclavado montado não trazem respostas conclusivas. A pesquisa desenvolvida por Marshburn e seus colaboradores (1991) não eliminou 100% dos micro-organismos-teste nos materiais montados, mas também não obteve sucesso nos desmontados, o que é preocupante, uma vez que esta última condição é a melhor possível para propiciar a condução térmica. Os trabalhos de Voyles e seus colaboradores (1995) obtiveram sucesso na destruição total dos micro-organismos-

teste no ciclo expandido de 7 a 10 minutos, não preconizado como rotina no CME. Os resultados dos experimentos de Lopes, Graziano e Pinto (2011), embora os objetivos da pesquisa não tenham sido avaliara esterilização em instrumental laparoscópico montado, os resultados do grupo comparativo, composto por instrumentos laparoscópicos montados reutilizáveis, sinalizam para eficácia da autoclavação de instrumental montado.

3 OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

Objetivo Geral: avaliara segurança microbiológica da esterilização a vapor do instrumental laparoscópico previamente montado.

Objetivos Específicos:

- Avaliar a eficácia de diferentes métodos de limpeza do instrumental laparoscópico reutilizável, em relação à eliminação do resíduo orgânico de proteína, hemoglobina e carboidrato, após contaminação intencional, como um pré-requisito para segurança da esterilização;
- Avaliar a esterilização do instrumental laparoscópico reutilizável previamente montado, após contaminação desafio.

4 MATERIAL E MÉTODO

4 MATERIAL E MÉTODO

4.1 TIPO DE PESQUISA

Esta pesquisa caracterizou-se como um estudo experimental, laboratorial controlado.

4.2 LOCAIS DA PESQUISA

Os locais desta pesquisa foram:

- Laboratório de Ensaios Microbiológicos² (LEM) do Departamento de Enfermagem Médico-Cirúrgica da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo (EE-USP), onde foram realizadas as etapas de limpeza manual, ultrassônica e extração dos resíduos orgânicos; preparo e esterilização dos meios de cultura; montagem dos instrumentos laparoscópicos com contaminação desafio; testes de esterilidade por meio da incubação, em meio de cultura, dos indicadores biológicos utilizados, como contaminação desafio.
- Centro Obstétrico³ e Centro de Material e Esterilização⁴ do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo onde foram realizadas, respectivamente, as etapas de contaminação intencional com sangue de placenta humana e a esterilização do instrumental laparoscópico montado.
- Laboratório de Biomateriais⁵ da Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde, da Pontifícia Universidade Católica de São Paulo (PUC-SP), *campus* Sorocaba, onde foram realizados os testes para análise dos resíduos orgânicos de proteínas, carboidratos e hemoglobina por meio de espectrofotometria.
- Laboratório de Microbiologia⁶ da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo onde os meios de cultura que apresentaram mudanças no aspecto, foram analisados microbiologicamente.

²Sob responsabilidade da Dra. Kazuko Uchikawa Graziano.

³Sob responsabilidade da enfermeira Chang Yi Wei.

⁴Sob responsabilidade da enfermeira Cristiane de Lion Botero Couto Lopes.

⁵Sob responsabilidade da Dra. Eliana Aparecida de Rezende Duek.

⁶Sob responsabilidade da microbiologista Cely Barreto da Silva.

4.3 AMOSTRA

Dois tipos de instrumental laparoscópico reutilizável de maior complexidade para a realização do estudo foram selecionados: Trocarte com válvula tipo janela rosqueada, composto por cinco peças, sendo uma delas com lúmen de 5mm de diâmetro e Pinça de Dissecção de 5mm, composta por quatro peças com extremidade denteada e lúmen com comprimento de 30cm e diâmetro interno de 3mm (Figura 1). O trocarte e a pinça laparoscópica possuem, respectivamente, uma superfície de 81 e 156cm² (Anexo 1).

Figura 1 - Instrumental laparoscópico utilizado nos experimentos. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor.

4.4 COLETA DE DADOS

Este estudo foi desenvolvido em duas etapas. A primeira, avaliou a eficácia de diferentes métodos de limpeza do instrumental laparoscópico reutilizável; e a segunda, avaliou a esterilização do instrumental laparoscópico reutilizável montado.

Considerando-se a eficácia da limpeza, pré-requisito fundamental para a garantia do processo de esterilização, foi necessária a avaliação da eficácia da limpeza como ponto de partida. Caso houvesse insucesso na esterilização do instrumental laparoscópico montado, não seria atribuída à ineficácia da limpeza.

A seguir, os procedimentos metodológicos estão detalhados por etapas.

4.4.1 Avaliação da eficácia de diferentes métodos de limpeza do instrumental laparoscópico

Contaminação intencional

Para simular o uso do instrumental laparoscópico, este foi contaminado com sangue de placenta humana. Utilizou-se 1mL de sangue extraído da veia umbilical da placenta para contaminação das superfícies externas de cada instrumental. Também foi injetado 1mL do sangue no lúmen de cada trocar. O instrumental foi mantido em contato com sangue por 1 hora à temperatura ambiente.

Figura 2– Contaminação do instrumental laparoscópico com sangue de placenta humana. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor.

Limpeza do instrumental laparoscópico:

Limpeza manual

A limpeza manual foi realizada com instrumental laparoscópico desmontado. Todas as peças foram imersas em água potável por, aproximadamente, 10 minutos, para pré-umectação. Em seguida, foram enxaguadas em água corrente e imersas em

solução de detergente enzimático⁷, por 2 minutos, seguindo as orientações do fabricante, injetando solução dentro dos lumens com auxílio de seringa. Toda superfície externa foi friccionada com escovas de cerdas macias e firmes, com atenção especial para as reentrâncias, cremalheira, articulações e ranhuras. O lúmen foi lavado com auxílio de escovas descartáveis de 5 e 2mm de diâmetro e comprimento de 60cm (Instrusponge®). O instrumental foi enxaguado em água corrente com auxílio de pistola de água sob pressão, direcionada para a estrutura interna das peças (Figura 3).

Limpeza automatizada ultrassônica

O material é de conformação complexa e com lúmen interno inferior a 5mm, atendendo às orientações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (Brasil, 2012), a limpeza manual foi complementada pela limpeza automatizada em lavadora ultrassônica específica para materiais canulados, com sistema de bombeamento pulsante retrofluxo (H.Stratnner® com capacidade para 2 quilos de instrumentos, frequência ultrassônica de 35 kHz, 127 Volts – 50/60 Hz). Utilizou-se ciclo de 10 minutos a 45°C, associado à ação de detergente enzimático.

Figura 3 - Processos de limpeza. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor.

⁷ Composição do detergente enzimático: amilase, protease, lipase, carboidrase, álcool isopropílico e surfactante não iônicos, com pH neutro (Endozime® AW Plus APA - ação proteolítica avança).

Para garantir a eficácia da limpeza automatizada, os ciclos da lavadora ultrassônica foram monitorados por meio das tecnologias Sono Check® e Tosi LumChek® (Figura 4).

Figura 4—Testes para avaliação do funcionamento da lavadora ultrassônica. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor.

Após a limpeza automatizada ultrassônica, que não inclui a etapa de enxágue, o instrumental foi manualmente enxaguado em água potável, com auxílio de pistola de água sob pressão direcionada para a estrutura interna das peças. Foi realizado um enxágue final com água destilada esterilizada. Ao término do processo todas as peças do instrumental foram dispostas em posição vertical, sob campo branco por alguns minutos para secagem natural e inspeção quanto à presença de possíveis sujidades residuais.

Grupos de estudo

Esta etapa foi constituída pelos seguintes grupos de estudo, com os respectivos tamanhos amostrais arbitrados:

- **Grupo Experimental:** quantificação dos resíduos orgânicos do instrumental laparoscópico submetidos aos procedimentos de contaminação intencional e aplicação consecutiva de diferentes métodos de limpeza implementados em CMEs:

(1) limpeza manual com enxágue em água potável (amostra: cinco pinças laparoscópicas e cinco trocartes);

(2) limpeza manual com enxágue em água potável, seguida de limpeza ultrassônica sem enxágue (amostra: cinco pinças laparoscópicas e cinco trocartes). A lavadora ultrassônica não possui enxágue automatizado em seu ciclo. Embora seja imprescindível o enxágue manual, é possível admitir a omissão desta etapa nas práticas dos CMEs, o que justificou esta análise;

(3) limpeza manual com enxágue em água potável, seguida de limpeza ultrassônica com enxágue em água potável (amostra: cinco pinças laparoscópicas e cinco trocartes);

(4) limpeza manual com enxágue em água potável, seguida de limpeza ultrassônica com enxágue em água potável e último enxágue em água destilada esterilizada (amostra: três pinças laparoscópicas e três trocartes). Este método de limpeza foi considerado o *gold standard*. O grupo experimental foi constituído por uma amostra total de 36 instrumentos, sendo 18 pinças laparoscópicas e 18 trocartes.

- **Controle Positivo (*Baseline*):** quantificação dos resíduos orgânicos do instrumental laparoscópico submetidos aos procedimentos de contaminação intencional. A amostra foi composta por três pinças laparoscópicas e três trocartes, ambos contaminados em três placentas distintas, totalizando 18 instrumentos, sendo nove pinças laparoscópicas e nove trocartes.

- **Controle Negativo:** quantificação dos resíduos orgânicos do instrumental laparoscópico novo, submetidos à:

(1) limpeza manual e enxágue em água potável (amostra: três pinças laparoscópicas e três trocartes).

(2) limpeza manual, limpeza ultrassônica, enxágue em água potável complementado por enxágue final com água destilada esterilizada (amostra: três pinças

laparoscópicas e três trocartes). O grupo Controle Negativo totalizou uma amostra 12 instrumentos, sendo seis pinças laparoscópicas e seis trocartes.

A Figura 5 apresenta de forma esquemática os grupos de estudo, os métodos de limpeza testados, bem como os testes indiretos realizados.

Figura 5 – Esquema dos diferentes métodos testados para limpeza do instrumental laparoscópico. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor.

Métodos para avaliação dos resíduos orgânicos

Método de extração

Sob técnica asséptica, cada instrumental a ser submetido à análise dos resíduos orgânicos foi individualmente colocado no interior de um saco plástico esterilizado, adicionando-se 250mL de água destilada esterilizada e lacrado. Em seguida, foram expostos a três sessões de sonicação (sonicador modelo USC-2800, Enge Solutions®) com duração de 10 segundos cada e agitados (agitador modelo 255-B, Fanem®) com movimento orbital por 10 minutos a 160rpm, para desprendimento dos resíduos orgânicos (Figura 6).

Figura 6– Procedimentos para extração dos resíduos orgânicos. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor.

Análise dos resíduos orgânicos

No interior da cabine de proteção biológica (modelo VLFS, VECO® com filtro HEPA), foram aspirados 50mL da solução de extração, acondicionando em tubo cônico e em uma amostra de 1mL foram realizados testes indiretos para detecção de resíduos orgânicos (proteína, carboidrato e hemoglobina). Os valores obtidos na análise de 1mL foram multiplicados por 250 para estimar o valor total do resíduo orgânico presente no instrumental. Utilizou-se a técnica de espectrofotometria (espectrofotômetro Biotek®, modelo ELx800) para comparar a radiação absorvida pela solução que continha quantidade desconhecida dos resíduos dosados, parametrizados com a quantidade conhecida das mesmas substâncias. Para determinar a concentração da solução desconhecida foi construído inicialmente um

gráfico da variação de absorbância em função da concentração das soluções-padrão: *protein standard solution*, D+ *glucose* anidra e hemoglobina humana liofilizada (Sigma®).

A quantificação da proteína foi realizada pelo teste indireto, utilizando o kit de ensaio Quanti Probicinchoninic acid/BCA (Sigma® QPBCA), indicado para detectar baixas concentrações de proteínas em pequenos volumes de soluções, dando uma resposta linear de 0,5 a 30µg/mL de proteína. Este kit de ensaio é constituído por:

- QuantiPro Buffer QA (M3810). O reagente de QA é fornecido em recipiente, contendo 250mL de uma solução que consiste de carbonato de sódio, sódio tartarato e bicarbonato de sódio em 0,2M NaOH (0,8 gramas de hidróxido de sódio em 100mL de água), pH 11.25.
- QuantiPro Buffer QB (M3685). O reagente QB é fornecido em recipiente contendo 250mL de uma solução de ácido bicinchoninic 4% (w/v), pH 8.5.
- Copper (II) Sulfate pentahydrate 4% solution QC (C 2284). O reagente QC é fornecido em recipiente contendo 12 mL de 4% (w/v) de sulfato de cobre (II), solução penta-hidratado.
- Protein Standard Solution – Bovine serum albumin/BSA (P0914). Este produto é fornecido em 10 ampolas de vidro, cada uma contendo 1,0mL de uma solução de 1,0mg/mL de soro de albumina bovina em 0,15 M NaCl com 0,05% de azida de sódio, como conservante.

O Reagente de Trabalho QuantiPro é preparado pela mistura de 25 partes de reagente de QA com 25 partes de reagente QB. Depois que os reagentes QA e QB foram combinados, adicionou-se 1 parte de Reagente QC (sulfato de cobre (II)) e foi misturado até obter uma cor uniforme levemente esverdeada.

Para cada 100µL da solução a ser analisada, foram adicionados 100µL do Reagente de Trabalho QuantiPro, agitando levemente a microplaca, sendo incubada a 60°C por 1 hora e submetida à leitura no espectrofotômetro regulado a 570nm (Figura 7). O limite de detecção foi igual ou maior que 0,5µg/mL.

Figura 7 - Testes indiretos para detecção dos resíduos orgânicos, com leitura por espectrofotometria. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor.

Inicialmente, foi constituída uma curva-padrão adicionando a solução Protein Standard Solution (Bovine serum albumin/BSA) à água Mili-Q, nas proporções, conforme os dados da Tabela 1, mantendo-se um volume total de 1000 μ L (Gráfico 1).

Tabela 1 - Proporções utilizadas para construção da curva-padrão de proteínas. São Paulo, 2013.

tubo	Volume de BSA (μ L)	Volume de água Mili-Q (μ L)	Total de proteína em 1.000 (μ g)	Concentração total de proteína (μ g/mL)
1	30	970	30	30
2	20	980	20	20
3	10	990	10	10
4	5	995	5	5
5	0,5	999,5	0,5	0,5
6	0	1.000	0	0

Gráfico 1 - Curva-padrão de proteínas. São Paulo, 2013.

A quantificação do resíduo de carboidrato foi por meio do teste indireto, baseado na técnica bioquímica proposta por Liu et al. (1994); para cada 250µL da solução analisada, foram adicionados 50µL de Fenol 5% agitando imediatamente em Vortex (digital Vortex-Genie 2, modelo SI-A236, Scientific Industries®). Posteriormente, adicionou-se 1mL de Ácido Sulfúrico 95%-98% agitando imediatamente em Vortex. A seguir, 200µL do conteúdo de cada tubo foram transferidos para uma microplaca deixada à temperatura ambiente por 30 minutos e submetida à leitura no espectrofotômetro regulado a 490nm (Figura 6). O limite de detecção do método foi igual ou maior que 10µg/mL.

Inicialmente, foi constituída uma curva-padrão adicionando uma solução de glicose (D+ glucose anidra, Sigma® G7021) à água Mili-Q, nas proporções, conforme os dados da Tabela 2, mantendo-se um volume total de 250µL (Gráfico 2).

Tabela 2: Proporções utilizadas para construção da curva-padrão de carboidratos. São Paulo, 2013.

Tubo	Volume de glucose (µL)	Volume de água Mili-Q (µL)	Total de carboidrato em 250µL(µg)	Concentração de carboidrato (µg/mL)
1	200	50	200	800
2	100	150	100	400
3	50	200	50	200
4	25	225	25	100
5	12,5	237,5	12,5	50
6	6,25	243,75	6,25	25
7	2,5	247,5	2,5	10
8	0	250	0	0

Gráfico 2 - Curva-padrão de carboidratos. São Paulo, 2013.

Para detecção de hemoglobina, utilizou-se o reagente TMB One (Solução de tetrametil benzidina, G7431, Promega®). Para cada 50µL da solução a ser analisada, foram adicionados 150µL do reagente TMB One, agitando levemente a microplaca, sendo incubada a 37°C por 30 minutos e na sequência submetida à leitura no espectrofotômetro regulado a 650nm. O limite de detecção foi igual ou maior que 5µg/mL.

Inicialmente, foi constituída uma curva-padrão adicionando-se uma solução de hemoglobina humana liofilizada (Promega® H7379) à água Mili-Q, nas proporções conforme os dados da Tabela 3, mantendo-se um volume total de 400µL (Gráfico 3).

Tabela 3: Proporções utilizadas para construção da curva-padrão de hemoglobina. São Paulo, 2013.

tubo	Volume hemoglobina padrão - 1000µg/mL - (µL)	Volume de água Mili-Q (µL)	Total de hemoglobina em 400µL (µg)	Concentração total de hemoglobina (µg/mL)
1	60	340	60	150
2	40	360	40	100
3	20	380	20	50
4	8	392	8	20
5	4	396	4	10
6	2	398	2	5
7	0	400	0	0

Gráfico 3 - Curva-padrão de hemoglobina. São Paulo, 2013.

4.4.2 Avaliação da esterilização do instrumental laparoscópico montado

Contaminação desafio

Elegeram-se como micro-organismo desafio os esporos do *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953, extraídos do indicador biológico comercialmente disponível para monitoramento dos ciclos de autoclavação (Indicador biológico AttestTM®, referência 1.262, 48 horas, vapor).

O indicador biológico do tipo autocontido, é composto por um suporte de papel (dimensões 2,5x0,5cm), contendo uma população microbiana mínima de 100.000 (cem mil) esporos secos e calibrados de *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953, para controle biológico dos processos de esterilização a vapor saturado. O suporte de papel contendo esporos está acondicionado em um pequeno tubo plástico, que também acondiciona uma ampola de vidro, contendo um caldo nutriente próprio para o cultivo do micro-organismo-teste e indicador colorimétrico para mudança de pH do meio. O tubete plástico é fechado por uma tampa perfurada e protegida por um papel de filtro hidrofóbico. Cada tubete possui um rótulo externo que informa o lote e a data de fabricação do produto, contendo campos para identificação do tubete e um indicador químico externo que diferencia os tubetes processados dos não processados (Figura 8).

Figura 8: Indicador biológico comercialmente disponível para monitoramento dos ciclos de autoclavação. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor.

A escolha deste micro-organismo justificou-se por ser este padronizado, como monitor biológico no controle da eficácia dos ciclos de autoclações, pela sua resistência ao calor úmido e pelo seu baixo potencial patogênico em condições normais (Pinto, Kaneko e Ohara, 2010).

Preparo e esterilização do instrumental laparoscópico

Com técnica asséptica, os tubetes do indicador biológico foram desmontados, reservando os suportes de papel impregnados com esporos *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 (Figura 9).

Figura 9 - Indicadores biológicos sendo desmontados para retirada dos suportes de papel impregnados com esporos *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor.

Foram colocadas três unidades de suporte de papel impregnadas com esporos *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953, extraídas do indicador biológico, no interior de cada instrumento laparoscópico, previamente limpo por limpeza manual com enxágue em água potável, seguida de limpeza ultrassônica com enxágue em água potável e último enxágue em água destilada esterilizada.

Figura 10 - Disposição dos indicadores biológicos nas pinças laparoscópicas. São Paulo, 2013.

Figura 11 - Disposição dos indicadores biológicos nos trocarts. São Paulo, 2013.

Cada instrumento foi individualmente embalado em papel grau cirúrgico, selado com seladora térmica e submetido à esterilização.

A esterilização foi realizada no Centro de Material e Esterilização do Hospital Universitário, por meio de autoclave a vapor saturado sob pressão com pré-vácuo, marca Cisa[®], modelo 6412HF, com capacidade 558 litros, microprocessada, termicamente qualificada, conforme a Norma ISO/NBR 17.665-1/2010 (ABNT, 2010), para a esterilização de instrumental cirúrgico à temperatura de 134°C por 5 minutos, no período entre 24/11/12 e 09/12/12 (Anexo 2).

Meios de Cultura

Foram preparados meios TSB, a partir do meio desidratado (BD[®] referência 211825, lote nº 0319.126, validade 30/09/15), obedecendo à recomendação do fabricante, utilizando água purificada (destilada, deionizada e desmineralizada).

Os meios dispensados em tubos, em um volume de 5mL foram esterilizados em autoclave a vapor saturado sob pressão, marca Tuttnauer[®], modelo 3850ELVC, com capacidade 62 litros, microprocessada, termicamente qualificada, conforme a Norma ISO/NBR 17.665-1/2010 (ABNT, 2010), no ciclo esterilização de meio de cultura a 121°C por 20 minutos, no período entre 12/11/12 e 01/12/12 (Anexo 3).

Seguindo as orientações do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), foi realizado o controle de esterilização dos meios de cultura, por meio da incubação de 5% do total de tubos preparados a 36°C, durante 7 dias (Brasil, 2009). Não houve crescimento microbiológico em nenhuma das amostras (Apêndice A).

Incubação

Após a esterilização, no interior da cabine de proteção biológica e utilizando técnica asséptica, cada instrumental foi desmontado e cada suporte de papel do indicador biológico foi semeado no meio de cultura TSB. Cada tubo foi identificado com o número do instrumental-teste e sua respectiva posição no instrumental (A, B e C). Seguindo o método para avaliação da atividade esporocida proposto pelo INCQS (Brasil, 2009), os tubos foram incubados a 56°C por 21 dias (Figura 12).

Figura 12 - Incubação dos meios de cultura. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor.

Não foi observado crescimento após este período, todos os tubos foram submetidos a um choque térmico, durante 20 minutos a 80°C (Figura 13), com reincubação por mais 72 horas a 56°C para leitura final (Brasil, 2009). Este último procedimento recomendado pelo INCQS objetivou estimular a germinação dos esporos, eventualmente, sobreviventes ao processo de autoclavação.

Figura 13 - Choque térmico dos meios de cultura. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor.

Para as leituras que suscitassem dúvidas, foram previstas bacterioscopias e provas bioquímicas, de modo a diferenciar o micro-organismo-teste de uma eventual contaminação acidental.

Grupos de estudo

Com a finalidade de subsidiar o cálculo do tamanho amostral e também a exequibilidade técnica dos experimentos, foi realizado um pré-teste constituído pelos seguintes grupos de estudo, com os respectivos tamanhos amostrais arbitrados:

- **Grupo Experimental:** inoculação de três suportes de papel do indicador biológico introduzidos, durante a montagem de cada uma das cinco pinças laparoscópicas (posição A, B e C) e dos cinco trocartes (posição A, B e C), esterilizados montados.
- **Controle Positivo:** inoculação de três suportes de papel filtro removidos com técnica asséptica do indicador biológico e semeados diretamente em TSB a 56°C por 48 horas.
- **Controle Negativo:** inoculação de três suportes de papel do indicador biológico introduzidos em cada uma das cinco pinças laparoscópicas (posição A, B e C) e dos cinco trocartes (posição A, B e C), esterilizados desmontados.

Mediante os resultados satisfatórios dos pré-testes, foi consultado um profissional estatístico⁸ para cálculo do tamanho amostral dos experimentos. Para ganhar poder para o teste, foi assumido que, de fato, a esterilização do instrumental laparoscópico desmontado (Grupo Controle Negativo) promove a eliminação total dos esporos. Partindo-se dessa premissa, foi decidido realizar apenas a coleta de dados do grupo instrumental montado (Grupo Experimental), cuja expectativa era apresentar 100% de eliminação dos micro-organismos-teste.

Para atender ao cálculo do tamanho amostral, foram adquiridos 36 instrumentos laparoscópicos, sendo 18 pinças laparoscópicas e 18 trocartes. Considerando o número máximo de 10 repetições para os ensaios, foi possível avaliar 180 pinças laparoscópicas e 180 trocartes montados com contaminação desafio. O Controle Positivo foi realizado em cada repetição do ensaio, totalizando 30 amostras.

⁸ Lucas Petri Damiani (CONRE: 9442-A).

Chow, Shao e Wang (2008) listam tipos de cálculo de tamanho amostral. O mais comum, intitulado de *tamanho amostral de estimação/determinação*, é baseado em testes de hipótese, a fim de encontrar o tamanho mínimo que garanta o nível de significância e poder pré-estabelecidos (geralmente, 5% e 80%, respectivamente). Mas, o presente caso enquadrar-se em outro tipo de cálculo amostral, intitulado de *tamanho amostral explicado (sample size justification)*, que nada mais é do que explicar o porquê dos 183. E, nesse caso, foi sugerida uma avaliação do nível de significância e poder dos determinados testes.

Para isso, foram definidas como hipóteses:

$$\begin{cases} H_0: p = 0 \\ H_A: p > 0 \end{cases}$$

Onde p é a probabilidade do instrumental laparoscópico montado (pinças ou trocartes) apresentar germinação dos esporos, após a esterilização. Definiu-se como estatística de teste $T(\mathbf{X}) = \sum x_i$, este teste propõe que, se alguma amostra for positiva, se rejeita a hipótese de que a esterilização do instrumental laparoscópico montado é tão segura como a esterilização do instrumental laparoscópico desmontado.

Com o teste definido, pode-se estimar o erro do tipo I e a função do poder (um menos a probabilidade do erro do tipo 2). O erro do tipo I foi dado por:

$$\alpha = P(\text{rejeitar } H_0 | H_0 \text{ verdadeiro}).$$

Ressalta-se que se H_0 é verdadeiro, então, $p = 0$ e, consequentemente, $\alpha = P(T(\mathbf{X}) \geq 1 | p = 0) = 0$, que significa que o teste não está sujeito ao erro de tipo I. Isto faz sentido, uma vez que se encontrar esporo viável após a esterilização, então, não tem como errar na hipótese de que a probabilidade de acontecer seja positiva.

Portanto, só resta controlar o erro do tipo II ou o poder do teste, que uma função da probabilidade alternativa, definida por:

$$f(p_A) = \frac{P(\text{rejeitar } H_0 | H_0 \text{ falso})}{P(T(\mathbf{X}) \geq 1 | p = p_A)}$$

Nesse caso, pode-se dizer que $T(\mathbf{X}) \sim \text{Binomial}(n, p_A)$. E, portanto,

$$f(p_A) = 1 - P(T(\mathbf{X}) = 0 | p = p_A) = 1 - \binom{n}{0} p_A^0 (1 - p_A)^n = 1 - (1 - p_A)^n$$

O Gráfico 4 ilustra o valor da função poder para um intervalo de valores de p_A . Dado $n=183$ garante-se com poder 95%, a probabilidade do instrumental laparoscópico montado (pinças ou trocartes) apresentar germinação dos esporos, após a esterilização de, pelo menos, 8%.

Gráfico 4 - Poder do teste para o tamanho amostral dos experimentos de avaliação da esterilização do instrumental laparoscópico montado. São Paulo, 2013.

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

Nos experimentos da Etapa 1, que consistiu na avaliação da eficácia dos diferentes métodos de limpeza do instrumental laparoscópico na remoção de resíduos orgânicos de proteína, carboidrato e hemoglobina, foram analisados 66 instrumentos laparoscópicos, sendo 33 pinças e 33 trocartes.

A contaminação intencional com sangue de placenta humana evidenciou altas concentrações, com grande variabilidade dos níveis dos resíduos orgânicos de proteína (média de $183\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{pinça}$ e $482\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{trocarte}$), carboidrato (média de $18\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{pinça}$ e $42\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{trocarte}$) e hemoglobina (média de $219\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{pinça}$ e $615\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{trocarte}$), conforme esperado, caracterizando o grupo Controle Positivo.

Para o grupo Controle Negativo, foram quantificados os resíduos orgânicos no instrumental laparoscópico novo, sem contaminação intencional, sendo uma parte da amostra submetida aos procedimentos de limpeza manual e enxágue em água potável, e a outra submetida à limpeza manual e enxágue em água potável, seguida da limpeza ultrassônica, enxágue em água potável complementado por enxágue final com água destilada esterilizada. Para este grupo, os níveis máximos médios de proteína foram $1,70\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e de carboidrato de $1,07\mu\text{g}/\text{cm}^2$, não sendo detectada hemoglobina. Não houve diferença estatística entre os métodos de limpeza (1) e (4), no grupo Controle Negativo.

O grupo experimental avaliou os resíduos orgânicos das pinças laparoscópicas e dos trocartes intencionalmente contaminados com sangue de placenta, após a aplicação consecutiva dos diversos métodos de limpeza: (1) limpeza manual com enxágue em água potável; (2) limpeza manual com enxágue em água potável, seguida de limpeza ultrassônica sem enxágue; (3) limpeza manual com enxágue em água potável, seguida de limpeza ultrassônica com enxágue em água potável e (4) limpeza manual com enxágue em água potável, seguida de limpeza ultrassônica com enxágue em água potável e último enxágue em água destilada esterilizada.

Os dados da Tabela 4 apresentam a distribuição dos valores mínimo, máximo, mediana, média e desvio-padrão dos resíduos de carboidrato, proteína e hemoglobina em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e em $\mu\text{g}/\text{pinça}$ laparoscópica dos grupos de estudo, e os dados da Tabela 5 apresentam os valores correspondentes para os trocartes. O resultado da avaliação individual de cada instrumento encontra-se no Apêndice B.

Tabela 4 - Distribuição dos valores mínimo, máximo, mediana, média e desvio-padrão dos resíduos de carboidrato, proteína e hemoglobina em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e em $\mu\text{g}/\text{pinça}$ laparoscópica. São Paulo, 2013.

Grupos de Estudo	n	PROTEÍNA		CARBOIDRATO		HEMOGLOBINA	
		$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	$\mu\text{g}/\text{pinça}$	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	$\mu\text{g}/\text{pinça}$	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	$\mu\text{g}/\text{pinça}$
Controle positivo	9						
Intervalo		46-393	7171-61297	0-48	768-7536	51-424	8029-66186
Mediana		170,55	26.606	9,84	1535	221,22	34.510
Média		183,07	28558	17,89	2791	218,97	34.159
Desvio-padrão		116,55	18182	16,53	2578	134,82	21.032
(1) Limpeza manual + enxágue em água potável	5						
Intervalo		0-2,31	0-361	0-1,34	0-209	0-0,30	0-46
Mediana		0,13	21	0,00	0	0,11	17
Média		0,57	89	0,36	56	0,10	16
Desvio-padrão		0,99	154	0,58	91	0,12	19
(2) Limpeza manual + USS*, s/ enxágue	5						
Intervalo		0-0,82	0-127	0-4,47	0-698	0-0,04	0-6
Mediana		0,00	0	0,45	70	0,00	0
Média		0,24	38	1,25	195	0,01	1
Desvio-padrão		0,36	57	1,88	294	0,02	3
(3) Limpeza manual + USS, c/ enxágue em água potável	5						
Intervalo		0-1,50	0-233	0-1,34	0-209	0-0	0-0
Mediana		0,54	85	0,00	0	0,00	0
Média		0,65	102	0,45	70	0,00	0
Desvio-padrão		0,55	86	0,63	99	0,00	0
(4) Limpeza manual + USS, c/ enxágue em água potável + enxágue final em água destilada esterilizada	3						
Intervalo		0-0,14	0-21	0-0,45	0-70	0-0,04	0-6
Mediana		0,00	0	0,00	0	0,00	0
Média		0,04	7	0,15	23	0,01	2
Desvio-padrão		0,08	12	0,26	40	0,02	3
Controle negativo							
(1) limpeza manual + enxágue em água potável	3						
Intervalo		0-0,14	0-22	0-0,90	0-140	0-0	0-0
Mediana		0,12	18	0,00	0	0,00	0
Média		0,08	13	0,30	47	0,00	0
Desvio-padrão		0,08	12	0,52	81	0,00	0
(4) limpeza manual + USS, c/ enxágue em água potável e água destilada esterilizada	3						
Intervalo		0-0	0-0	0-1,07	0-167	0-0	0-0
Mediana		0,00	0	0,00	0	0,00	0
Média		0,00	0	0,36	56	0,00	0
Desvio-padrão		0,00	0	0,62	96	0,00	0

Observações: * USS – limpeza com lavadora ultrassônica específica para materiais canulados, com sistema de bombeamento pulsante retrofluxo. Considerou-se como 0 resultados menores que o limite de detecção para o teste, não significando necessariamente ausência.

Tabela 5 - Distribuição dos valores mínimo, máximo, mediana, média e desvio-padrão dos resíduos de carboidrato, proteína e hemoglobina em $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e em $\mu\text{g}/\text{trocarre}$. São Paulo, 2013.

Grupos de Estudo	n	PROTEÍNA		CARBOIDRATO		HEMOGLOBINA	
		$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	$\mu\text{g}/\text{trocarre}$	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	$\mu\text{g}/\text{trocarre}$	$\mu\text{g}/\text{cm}^2$	$\mu\text{g}/\text{trocarre}$
Controle positivo	9						1701-
Intervalo		54-1282	4413-103816	0-117	70-9490	21-1588	128656
Mediana		320,36	25.949	18,09	1.465	506,04	40.989
Média		482,55	39087	42,31	3427	615,05	49.819
Desvio-padrão		420,93	34095	44,96	3641	575,04	46.578
(1) Limpeza manual							
+enxágue em água potável	5						
Intervalo		0-1,31	0-106	0-6,03	0-488	0-0	0-0
Mediana		0,26	21	0,86	70	0,00	0
Média		0,42	34	2,07	167	0,00	0
Desvio-padrão		0,54	44	2,40	195	0,00	0
(2) Limpeza manual + USS*,							
s/ enxágue	5						
Intervalo		0-0,79	0-64	0-0	0-0	0-0	0-0
Mediana		0,00	0	0,00	0	0,00	0
Média		0,16	13	0,00	0	0,00	0
Desvio-padrão		0,36	29	0,00	0	0,00	0
(3) Limpeza manual + USS,							
c/ enxágue em água potável	5						
Intervalo		0-0	0-0	0-2,58	0-209	0-0	0-0
Mediana		0,00	0	0,00	0	0,00	0
Média		0,00	0	0,69	56	0,00	0
Desvio-padrão		0,00	0	1,12	91	0,00	0
(4) Limpeza manual + USS,							
c/ enxágue em água potável + enxágue final em água destilada esterilizada	3						
Intervalo		0-2,36	0-191	0-0	0-0	0-0	0-0
Mediana		0,00	0	0,00	0	0,00	0
Média		0,79	64	0,00	0	0,00	0
Desvio-padrão		1,36	110	0,00	0	0,00	0
Controle Negativo (1)							
limpeza manual + enxágue em água potável	3						
Intervalo		0-0	0-0	0-0	0-0	0-0	0-0
Mediana		0,00	0	0,00	0	0,00	0
Média		0,00	0	0,00	0	0,00	0
Desvio-padrão		0,00	0	0,00	0	0,00	0
Controle negativo (4)							
limpeza manual + USS, c/ enxágue em água potável e água destilada esterilizada	3						
Intervalo		0-1,70	0-138	0-0	0-0	0-0	0-0
Mediana		0,32	26	0,00	0	0,00	0
Média		0,68	55	0,00	0	0,00	0
Desvio-padrão		0,90	73	0,00	0	0,00	0

Observações: * USS – limpeza com lavadora ultrassônica específica para materiais canulados, com sistema de bombeamento pulsante retrofluxo. Considerou-se como 0 resultados menores que o limite detecção para o teste, não significando necessariamente ausência.

Em todos os métodos empregados para limpeza do instrumental laparoscópico, obteve-se uma redução dos resíduos orgânicos avaliados quando comparados com os valores dos resíduos do grupo controle positivo (Tabela 6). Entretanto, na comparação entre os diferentes métodos testados para a limpeza utilizando a estatística inferencial, o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis não detectou diferença nas comparações múltiplas entre os métodos.

Em outras palavras, o teste estatístico não foi capaz de detectar diferença, sem afirmar equivalentes, entre submeter os instrumentos, apenas a limpeza manual ou complementada com limpeza automatizada em lavadora ultrassônica destinada a materiais canulados, com sistema de bombeamento pulsante com refluxo, assim como o enxágue realizado somente com água potável ou complementada com água destilada esterilizada ou mesmo com a supressão do enxágue (valor $p > 0,05$).

Tabela 6 - Redução percentual média dos resíduos orgânicos de proteína, carboidrato e hemoglobina no instrumental laparoscópico, após diferentes métodos de limpeza empregados. São Paulo, 2013.

Tipo	Grupos	N	Resíduos orgânicos dosados		
			Proteína μg/instrumental (DP)	Carboidrato μg/instrumental (DP)	Hemoglobina μg/instrumental (DP)
Pinça	Controle positivo	9	28.588 (18.182)	2.791 (2.578)	34.158 (21.031)
	Métodos de limpeza	Redução comparada ao controle positivo, após diferentes métodos de limpeza: (%) [*] (DP)			
	(1) Manual	5	99,7 (0,5)	98,0 (3,3)	100,0 (0,1)
	(2) Manual + USS ^{**} s/ enxágue	5	99,9 (0,2)	93,0 (10,5)	100,0 (0,0)
	(3) Manual + USS, c/ enxágue	5	99,6 (0,3)	97,5 (3,5)	100,0 (0,0)
	(4) Manual + USS, c/ enxágue + água destilada	3	100,0 (0,0)	99,2 (1,4)	100,0 (0,0)
	Controle positivo	9	39.086 (34.095)	3.426 (3.641)	49.818 (46.578)
Trocarte	Métodos de limpeza	Redução comparada ao controle positivo, após diferentes métodos de limpeza: (%) [*] (DP)			
	(1) Manual	5	99,9 (0,1)	95,1 (5,7)	100,0 (0,0)
	(2) Manual + USS, s/ enxágue	5	100,0 (0,1)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)
	(3) Manual + USS, c/ enxágue	5	100,0 (0,0)	98,4 (2,7)	100,0 (0,0)
	(4) Manual + USS, c/ enxágue + água destilada	3	99,8 (0,3)	100,0 (0,0)	100,0 (0,0)
	Controle positivo	9	39.086 (34.095)	3.426 (3.641)	49.818 (46.578)
	Métodos de limpeza	Redução comparada ao controle positivo, após diferentes métodos de limpeza: (%) [*] (DP)			

Observações: ^{*}p<0,001. ^{**}USS – limpeza com lavadora ultrassônica específica para materiais canulados, com sistema de bombeamento pulsante refluxo.

Na Etapa 2 de avaliação da esterilização do instrumental laparoscópico montado, foi inicialmente realizado um pré-teste cujos resultados estão sintetizados nos dados da Tabela 7 e apresentados na íntegra no Apêndice C.

Tabela 7 - Resultado do pré-teste para avaliar a esterilização do instrumental laparoscópico montado. São Paulo, 2013.

Grupos de Estudo	Tipo instrumental	Posição		Culturas +/total
		n	IB	
Controle Positivo		3		3/3
Grupo Experimental	Pinça laparoscópica	5	A	-/5
			B	-/5
			C	-/5
	Trocarte	5	A	-/5
			B	-/5
			C	-/5
Controle Negativo	Pinça laparoscópica	5	A	-/5
			B	-/5
			C	-/5
	Trocarte	5	A	-/5
			B	-/5
			C	-/5

Com base nos resultados do pré-teste, o tamanho amostral para os experimentos foi calculado. Foram analisados 360 instrumentos laparoscópicos montados, sendo 180 pinças e 180 trocartes. Em cada instrumento, foram inseridos três suportes de papel contaminados com 10^6 UFC do *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953, totalizando 1.080 unidades amostrais.

Na leitura dos resultados, os tubos com coloração alterada do meio, porém sem turvação, mesmo que *a priori* tenha sido atribuída a exposição do meio de cultura à alta temperatura de 56°C por 21 dias de incubação, foram submetidos à análise microbiológica do Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo⁹, que confirmou a ausência de crescimento microbiano em todas as amostras analisadas.

Os dados da Tabela 8 apresentam os resultados consolidados dos experimentos da Etapa 2. Os controles positivos acusaram crescimento satisfatório, demonstrando a viabilidade do meio de cultura e as condições de incubação apropriadas para germinação dos esporos (Figura 14). O resultado da avaliação individual de cada instrumento encontra-se no Apêndice D.

⁹ Cely Barreto da Silva.

Tabela 8 - Resultado das culturas do suporte de papel do indicador biológico, dentro do instrumental laparoscópico esterilizado montado. São Paulo, 2013.

Grupos de Estudo	N	Posição IB	Culturas +/total
Controle Positivo	30		30/30
Pinça laparoscópica	180	A	-/180
		B	-/180
		C	-/180
Trocarte	180	A	-/180
		B	-/180
		C	-/180

Figura 14 - Leitura final dos experimentos. São Paulo, 2013.

Fonte: Própria do autor.

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

O presente estudo experimental laboratorial controlado demonstrou sucesso na esterilização do instrumental laparoscópico montado, comprovando a segurança microbiológica desta prática. Os resultados trazem fortes evidências à enfermagem do CME, para subsidiar a tomada de decisão quanto ao preparo do material laparoscópico.

Os experimentos utilizaram parâmetros padronizados para autoclave a vapor saturado sob pressão com pré-vácuo, temperatura 134°C por 5 minutos, associados à contaminação desafio com esporos do *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 na concentração de três vezes 10^6 UFC. O desafio empregado corresponde aos indicadores biológicos utilizados rotineiramente nos CMEs, para controle da efetividade da esterilização. A ausência de crescimento indica que o processo esterilizante usado foi eficaz sobre os micro-organismos.

Estes resultados foram divergentes dos obtidos por Camargo (2007), por ocasião do desenvolvimento de sua dissertação de mestrado respondendo à mesma questão de pesquisa. Quanto à contaminação desafio, em 2007, Camargo utilizou o método de imersão do instrumental laparoscópico em uma suspensão de *Geobacillus stearothermophilus* na densidade de 10^6 UFC/mL acrescidos 10% do volume de sangue de carneiro, procedendo à limpeza manual e ultrassônica, antes da montagem e esterilização do instrumental laparoscópico. Nos experimentos da presente tese, utilizou-se o modelo do indicador biológico, e em cada instrumento laparoscópico foram inseridas, como contaminação desafio, três unidades contaminantes de esporulado de *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953, 10^6 UFC/suporte.

A amostra de Camargo (2007) compôs-se de 24 instrumentos laparoscópicos montados, procedendo à semeadura individual das peças dos instrumentos diretamente em TSB, sendo 12 pinças (total de 48 peças ao serem desmontadas) e 12 trocartes (total de 60 peças ao serem desmontadas), totalizando 108 unidades amostrais. Nesta tese, foram analisados 370 instrumentos laparoscópicos montados, sendo 185 pinças e 185 trocartes, com culturas de três suportes extraídos de indicadores biológicos por instrumentos, totalizando 1.110 unidades amostrais.

Os testes de esterilidade de Camargo (2007) foram feitos por um laboratório terceirizado, que procedeu a desmontagem do instrumental esterilizado montado e a inoculação direta das diversas peças do instrumental, de conformação e tamanhos

diferentes. No doutorado, a pesquisadora assumiu todas as etapas dos testes de esterilidade, inoculando diretamente em meio de cultura os suportes de papel de dimensões 2,5 x 0,5cm, impregnados com micro-organismo-teste, removidos do instrumental laparoscópico esterilizado, montado após a autoclavação.

Nas condições do experimento de Camargo em 2007, houve contaminação em três peças de uma mesma pinça (3/48) e em três peças de um mesmo trocarte (3/60). Na atual investigação, não houve crescimento em nenhuma das 1.110 unidades amostrais.

Os crescimentos positivos encontrados nos experimentos de Camargo, em 2007, não foram explorados, quanto ao gênero e espécie dos responsáveis pela turvação do meio de cultura, mas, sim, pelos aspectos morfológicos. Caso fosse detectada a presença de outros micro-organismos, que não o empregado como desafio, poderia ser considerada contaminação acidental ocorrida durante a realização dos experimentos. Somente a confirmação da presença do micro-organismo-teste, naquelas contaminações, refutaria a hipótese de segurança microbiológica da esterilização do instrumental laparoscópico montado.

Conforme explicado na introdução deste trabalho, estes resultados divergentes deverão compor a amostra de uma futura revisão sistemática com metanálise.

A autoclavação do instrumental laparoscópico montado é uma realidade nas instituições de saúde brasileiras (Feitosa, Camargo e Graziano, 2011), contrariando as recomendações clássicas que orientam que os instrumentos cirúrgicos estejam abertos, desmontados e com as superfícies livres para a esterilização (Committee on Infection Control in the Handling of Endoscopic Equipment - Guidelines for preparation of laparoscopic instrumentation, 1980; AAMI, 2006; Rutala e Weber 2008; Padoveze, Quelhas e Nakamura, 2010). O resultado da presente investigação trouxe forte evidência científica quanto à segurança microbiológica da esterilização do instrumental laparoscópico montado, subsidiando esta prática das instituições de saúde brasileiras. O CME disponibiliza o instrumental laparoscópico previamente montado, assim, facilita e agiliza sobremaneira o início do procedimento cirúrgico.

Destaca-se que os resultados satisfatórios foram obtidos com o uso de autoclave a vapor saturado sob pressão com pré-vácuo termicamente qualificada conforme a Norma ISO/NBR 17.665-1/2010 (ABNT, 2010), para a esterilização de

instrumental cirúrgico à temperatura de 134°C por 5 minutos. A qualificação térmica da autoclave com e sem carga por meio da realização de estudos de distribuição de temperatura, com utilização de termopares, para avaliação da condição de penetração do calor para cada tipo de carga e curva de pressão, além do cálculo de letalidade induzida pelo processo para alcançar a esterilização são essenciais para a garantia da segurança do processo de esterilização (Calicchio e Laranjeiras, 2010; Calicchio et al. 2011).

A esterilização do instrumental laparoscópico montado também foi objeto de estudo de outras pesquisas (Marshburn et al., 1991; Voyles et al., 1995 e Lopes, Graziano e Pinto, 2011), que permitem conclusões favoráveis quanto à prática de autoclavar os instrumentos laparoscópicos montados, embora algumas possuam limitações metodológicas.

A primeira pesquisa (Murshburn et al., 1991) teve como hipótese que o instrumento laparoscópico montado alcançaria a mesma segurança de esterilidade, quando comparado ao instrumental desmontado, utilizou a técnica de inoculação e recuperação de micro-organismos por meio de *swab*, com recuperação dos micro-organismos desafio, tanto no instrumental laparoscópico esterilizado montado como no desmontado. Embora a técnica de recuperação microbiana por *swab* permita uma avaliação quantitativa, apresenta algumas limitações quanto à dificuldade em padronizar o arraste, o ângulo e o grau de pressão aplicados durante o procedimento, incapacidade de controlar a reprodutibilidade e a grande variabilidade nos resultados (Moore e Griffith, 2007).

Questiona-se o fato de Murshburn et al. (1991) não terem alcançado sucesso na esterilização com o material desmontado, considerada a melhor prática para autoclavação. Na presente investigação, obteve-se sucesso na esterilização do instrumental laparoscópico montado, bem como no desmontado.

Uma outra pesquisa realizada por Voyles et al. (1995) utilizou um dos componentes do instrumental laparoscópico, trocarter 12mm, com o lúmen totalmente preenchido com matéria orgânica (carne para hambúrguer) e contaminação desafio, para avaliar a eficácia da esterilização, utilizando temperatura de 132°C nos ciclos convencional e *flash*, com tempo de exposição de 10 e 3 minutos, respectivamente. Todos os micro-organismos vegetativos foram eliminados com esterilização nos ciclos convencional e *flash*. O preenchimento do lúmen com

matéria orgânica representou uma resistência para o contato direto do vapor, similar ao que ocorre quando o instrumental laparoscópico é esterilizado montado.

Nas mesmas condições de desafio, com o preenchimento do lúmen com matéria orgânica, Voyles e seus colaboradores (1995) também testaram indicadores biológicos comercialmente disponíveis do *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953, introduzidos no interior do lúmen do trocarter com e sem preenchimento de carne para hambúrguer, e expostos a diferentes tempos 3, 4, 5, 6, 7 e 10 minutos. Nessas condições, foram recuperados esporos com 3, 4, 5 e 6 minutos de exposição. Somente com tempo de exposição estendido de 7 e 10 minutos, houve destruição total dos esporos. Esses resultados falam a favor da destruição microbiana por meio do calor latente, apesar do cenário desafiador quanto à contaminação desafio e presença maciça de matéria orgânica.

Considerando-se que os parâmetros padronizados para autoclave com pré-vácuo são 132°C por 4 minutos (AAMI, 2006; Rutala e Weber, 2008), a necessidade de Voyles e seus colaboradores (1995) expandirem os tempos de esterilização para obter êxito na eliminação total dos micro-organismos-testes pode estar relacionada com a alta concentração de matéria orgânica utilizada para o preenchimento do lúmen dos trocartes e não, obrigatoriamente, ao fato do instrumental estar montado. A presente investigação utilizou o mesmo desafio microbiológico e obteve sucesso na destruição dos esporos *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953, utilizando o ciclo de esterilização a 134°C por 5 minutos.

Outra pesquisa (Lopes, Graziano e Pinto 2011) realizada para avaliar a eficácia da esterilidade dos instrumentos laparoscópicos de uso único, empregou como grupo comparativo instrumentos equivalentes reutilizáveis autoclavados previamente montados. Utilizou contaminação desafio com esporos bacterianos do *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 acrescido de 10% de sangue de carneiro e esterilização a vapor, saturado sob pressão com pré-vácuo, à temperatura de 134°C por 5 minutos. Não houve recuperação do micro-organismo-teste naquele grupo, o que reforça a possibilidade de segurança da esterilização dos materiais montados.

A presente investigação contemplou a avaliação da eficácia dos diferentes métodos de limpeza, presumivelmente, praticados pelos CMEs do Brasil para instrumental laparoscópico reutilizável, quanto à redução de resíduos orgânicos de

proteína, hemoglobina e carboidrato, após contaminação intencional com sangue de placenta humana. Esta etapa preliminar foi essencial para avaliar a segurança da esterilização do instrumental laparoscópico montado, uma vez que a presença de matéria orgânica pode proteger os micro-organismos comprometendo a esterilização, conforme os resultados publicados por Tosh e seus colaboradores (2011).

Os citados autores realizaram uma investigação de surto de infecções do sítio cirúrgico, após procedimentos artroscópicos causados por *Pseudomonas aeruginosa*. Conduziram um estudo caso-controle e realizaram culturas de amostras ambientais e de materiais cirúrgicos, sendo os micro-organismos isolados, analisados por técnica de biologia molecular (eletroforese em gel de campo pulsante – PFGE). Ao avaliar endoscopicamente o equipamento artroscópio (Shaver) processado, encontraram restos de tecido retido no lúmen de cânulas, tanto na entrada como na saída da peça de mão.

Os autores concluíram que as infecções de sítio cirúrgico, provavelmente, foram relacionadas com a contaminação do instrumental cirúrgico devido às falhas no processo de limpeza, evidenciada pela presença de tecido retido, o que poderia ter permitido que as bactérias sobrevivessem aos procedimentos de esterilização. Após mudanças nos protocolos de processamento de instrumentos, não ocorreu mais caso de infecção.

A preocupação com a presença de resíduos orgânicos também está relacionada com a formação e persistência de biofilmes microbianos nas superfícies do material. Liu e colaboradores (1994) estimaram quantitativamente a massa de biofilme baseados na concentração de polissacarídeos por meio da dosagem de carboidrato, demonstrando relação diretamente proporcional entre a massa de biofilme e a concentração de carboidrato. Os autores (Liu et al., 1994) também apontaram a determinação da concentração de proteína, como estratégia para estimar a presença de biofilme.

Para experimentos com a finalidade de avaliar os processos de limpeza, é crucial que sejam utilizadas soluções desafio que simulem a sujidade natural ou mesmo um pior cenário (Alfa, DeGagne e Oslon, 1999). Na presente investigação, foi usado sangue de placenta humana, como contaminação intencional para limpeza, com concentrações de proteína, carboidrato e hemoglobina superiores aos valores de resíduos orgânicos da pesquisa da Alfa, DeGagne e Oslon (1999) ao utilizar solução

de *Artificial Soil Test* (ATS)¹⁰ cuja composição consiste em: proteínas (85,2mg/mL), carboidratos (85,2mg/mL) e hemoglobina (4,12mg/mL). O Quadro 1 apresenta comparativamente as quantidades médias dos resíduos orgânicos do presente trabalho no instrumental laparoscópico, antes da limpeza, confrontados com as quantidades médias dos mesmos resíduos do trabalho de Alfa, DeGagne e Oslon (1999) nos endoscópios, sem limpeza.

Quadro 1 – Comparação entre os valores médios de proteína, carboidrato e hemoglobina presentes no instrumental laparoscópico, após contaminação intencional com sangue de placenta humana e no endoscópio após contaminação desafio com ATS, ambos sem limpeza. São Paulo, 2013.

	Sangue de Placenta Humana		ATS
	Pinça laparoscópica	Trocarte	Endoscópio
Proteína	183,07 µg/cm ²	482,55 µg/cm ²	37,05 µg/cm ²
Carboidrato	17,89 µg/cm ²	42,31 µg/cm ²	4,69 µg/cm ²
Hemoglobina	218,97 µg/cm ²	615,05 µg/cm ²	13,37 µg/cm ²

A avaliação da eficiência da limpeza pode ser realizada por meio da detecção de proteínas, carboidratos, hemoglobina, endotoxina, lipídios, íons de sódio e biocargas residuais ao processo, sendo o marcador de proteína o mais empregado (AAMI, 2006). Devem ser considerados o tipo de teste usado e o limite de detecção dos métodos (Alfa, 2006). Na presente investigação, foram utilizados métodos indiretos, sendo o volume total da solução de extração de 250mL, para detecção de proteína, carboidrato e hemoglobina, com os respectivos limites de $\geq 0,5\mu\text{g/mL}$, $\geq 10\mu\text{g/mL}$ e $\geq 5\mu\text{g/mL}$.

O método empregado permitiu avaliar toda a superfície do instrumental laparoscópico, após quatro diferentes métodos de limpeza, quais sejam: (1) limpeza manual com enxágue em água potável; (2) limpeza manual com enxágue em água potável, seguida de limpeza ultrassônica sem enxágue; (3) limpeza manual com enxágue em água potável, seguida de limpeza ultrassônica com enxágue em água potável e (4) limpeza manual com enxágue em água potável, seguida de limpeza

¹⁰ATS foi criado e patentado (número da patente: 6,447.990) pela Prof^a. Dra. Michelle Alfa, com data de publicação de 24 de fevereiro de 2010. O ATS é composto de um meio básico, soro de bezerro, sangue de carneiro esterilizado e endotoxina, possui 85,2mg/mL de proteínas, 12,3mg/mL de carboidrato e 4,12mg/mL de hemoglobina (disponível no site www.uspto.gov).

ultrassônica com enxágue em água potável e último enxágue em água destilada esterilizada.

A literatura cita diferentes níveis aceitáveis de proteína residual, após a limpeza do material, utilizando diversificada referência para avaliação: uma área delimitada (cm^2), o volume do lúmen (mL) ou toda superfície do material. Verjat, Prognon e Darbord (1999) sugerem como nível satisfatório $<0,1\mu\text{g}/\text{material}$; DeBrujin, Orzechowshi e Wasseanaar (2001) definem como limite máximo aceitável para o método da Ninhydrina $2,5\mu\text{g}/\text{área}$ esfregada; Kruger (1997) sugere que $>5,5\mu\text{g}/\text{cm}^2$ de proteína residual o material é inaceitável como limpo e Alfa, DeGagne e Oslon (1999) apresentaram resultados de $<6,4\mu\text{g}/\text{cm}^2$ nos canais de sucção de biópsia, após limpeza de rotina dos canais de biópsia/sucção de endoscópios flexíveis. Os últimos autores também indicaram valores médios para os marcadores de carboidrato $<1,8\mu\text{g}/\text{cm}^2$ e hemoglobina $<2,2\mu\text{g}/\text{cm}^2$ (Alfa, DeGagne e Oslon, 1999).

Todos os métodos de limpeza aqui avaliados obtiveram níveis médios de redução de proteínas inferiores aos valores de referências sugeridos por Kruger (1997), Alfa, DeGagne e Oslon (1999) e De Brujin, Orzechowshi e Wasseanaar (2001), os níveis de hemoglobina também inferiores ao valor indicado por Alfa, DeGagne e Oslon (1999). Apenas para a limpeza manual dos trocartes, os níveis médios de carboidratos foram superiores aos sugeridos por Alfa, DeGagne e Oslon (1999). Os dados comparativos estão sintetizados no Quadro 2, destacando em fonte vermelha quando o parâmetro estabelecido não foi alcançado.

Quadro 02 – Comparação entre os valores médios de proteína, carboidrato e hemoglobina presentes no instrumental laparoscópico submetidos a diferentes métodos de limpeza, confrontados com os referenciados pelos diversos autores da literatura. São Paulo, 2013.

		Kruger (1997)	Alfa, DeGagne e Osion (1999)	Verjat, Prognon e Darbord (1999)	De Brujin, Orzechowski e Wasseanaar (2001)
PROTEÍNA		>5,5µg/cm ²	<6,4µg/cm ²	<0,1µg/material	2,5µg/área esfregada
(1) Limpeza manual +enxágue em água potável	Pinça	0,57 µg/cm ²	0,57 µg/cm ²	89 µg/material	0,57 µg/cm ²
	Trocarte	0,42 µg/cm ²	0,42 µg/cm ²	34 µg/material	0,42 µg/cm ²
(2) Limpeza manual + USS*, s/ enxágue	Pinça	0,24 µg/cm ²	0,24 µg/cm ²	38 µg/material	0,24 µg/cm ²
	Trocarte	0,16 µg/cm ²	0,16 µg/cm ²	13 µg/material	0,16 µg/cm ²
(3) Limpeza manual + USS, c/ enxágue em água potável	Pinça	0,65 µg/cm ²	0,65 µg/cm ²	102 µg/material	0,65 µg/cm ²
	Trocarte	0,00 µg/cm ²	0,00 µg/cm ²	0 µg/material	0,00 µg/cm ²
(4) Limpeza manual + USS, c/ enxágue em água potável + enxágue final em água destilada esterilizada	Pinça	0,04 µg/cm ²	0,04 µg/cm ²	7 µg/material	0,04 µg/cm ²
	Trocarte	0,19 µg/cm ²	0,19 µg/cm ²	64 µg/material	0,19 µg/cm ²
CARBOIDRATO			<6,4µg/cm ²		
(1) Limpeza manual +enxágue em água potável	Pinça		0,36 µg/cm ²		
	Trocarte		2,07 µg/cm ²		
(2) Limpeza manual + USS*, s/ enxágue	Pinça		1,25 µg/cm ²		
	Trocarte		0,00 µg/cm ²		
(3) Limpeza manual + USS, c/ enxágue em água potável	Pinça		0,45 µg/cm ²		
	Trocarte		0,69 µg/cm ²		
(4) Limpeza manual + USS, c/ enxágue em água potável + enxágue final em água destilada esterilizada	Pinça		0,15 µg/cm ²		
	Trocarte		0,00 µg/cm ²		
HEMOGLOBINA			<2,2µg/cm ²		
(1) Limpeza manual +enxágue em água potável	Pinça		0,10 µg/cm ²		
	Trocarte		0,00 µg/cm ²		
(2) Limpeza manual + USS*, s/ enxágue	Pinça		0,01 µg/cm ²		
	Trocarte		0,00 µg/cm ²		
(3) Limpeza manual + USS, c/ enxágue em água potável	Pinça		0,00 µg/cm ²		
	Trocarte		0,00 µg/cm ²		
(4) Limpeza manual + USS, c/ enxágue em água potável + enxágue final em água destilada esterilizada	Pinça		0,01 µg/cm ²		
	Trocarte		0,00 µg/cm ²		

Até o momento não há um consenso nos valores de referência e nos limites máximos aceitáveis para se considerar um material satisfatoriamente limpo (AAMI, 2006; Alfa, 2006). Os realistas defendem que os valores de referências devem ser compatíveis com o limite dos parâmetros possíveis de serem conseguidos por meio de limpeza de rotina, respeitando o limite de detecção do método de ensaio utilizado (AAMI, 2006).

Alfa e Nemes (2004) realizaram um estudo com o intuito de comparar os métodos de limpeza manual e ultrassônica para limpeza dos lumens de instrumentos descartáveis “portados” e “não portados”, utilizados em procedimentos cirúrgicos minimamente invasivos. Utilizaram como contaminação desafio ATS. O lavado dos lumens, cujo volume variou de 0,34 a 1,71mL, foi avaliado por testes quantitativos indiretos para avaliar a quantidade de proteínas (Bradford[®]), carboidratos e hemoglobina (TMB One[®]). A limpeza dos lumens foi considerada satisfatória ao atingir níveis de proteínas <20µg/lúmen, carboidrato <70µg/lúmen e hemoglobina <50µg/lúmen. A limpeza ultrassônica com retrofluxo proporcionou uma redução percentual de 99,9% das proteínas e 100% de hemoglobina para os instrumentos portados e não portados; para os carboidratos, a redução foi de 99,7% nos portados e 99,5% nos não portados. Os autores concluíram que o método de limpeza por meio da lavadora ultrassônica automatizada com retrofluxo para lumens estreitos foi mais eficaz que a limpeza manual.

Comparando os resultados aqui obtidos, na avaliação de toda superfície do instrumental laparoscópico, com o referencial proposto por Alfa e Nemes (2004) para limpeza de lúmen, os níveis médios de proteínas foram inferiores ao referencial proposto para limpeza de lúmen, apenas para as pinças laparoscópicas submetidas à limpeza (4) e para os trocartes submetidos aos métodos (2) e (3), e os níveis médios de carboidratos foram inferiores exceto para pinças laparoscópicas no método (2) e para os trocartes no método (1), sendo os níveis de hemoglobina inferiores em todas as análises (Quadro 3). Deve-se considerar que o lúmen representa apenas a estrutura interna de uma das peças do instrumental laparoscópico, destacado em fonte vermelha quando o parâmetro estabelecido não foi alcançado.

Quadro 03 – Comparação entre os valores médios de proteína, carboidrato e hemoglobina presentes no instrumental laparoscópico submetidos a diferente métodos de limpeza, confrontados com os referenciados por Alfa e Nemes (2004) para limpeza de lúmen. São Paulo, 2013.

		Alfa e Nemes (2004)		
		Proteína <20µg/lúmen	Carboidrato <70µg/lúmen	Hemoglobina <50µg/lúmen
(1) Limpeza manual +enxágue em água potável	Pinça	89 µg/pinça	56 µg/pinça	16 µg/pinça
	Trocarte	34 µg/trocarte	167 µg/trocarte	0 µg/trocarte
(2) Limpeza manual + USS*, s/ enxágue	Pinça	38 µg/pinça	195 µg/pinça	1 µg/pinça
	Trocarte	13 µg/trocarte	0 µg/trocarte	0 µg/trocarte
(3) Limpeza manual + USS, c/ enxágue em água potável	Pinça	102 µg/pinça	70 µg/pinça	0 µg/pinça
	Trocarte	0 µg/trocarte	56 µg/trocarte	0 µg/trocarte
(4) Limpeza manual + USS, c/ enxágue em água potável + enxágue final em água destilada esterilizada	Pinça	7 µg/pinça	23 µg/pinça	2 µg/pinça
	Trocarte	64 µg/trocarte	0 µg/trocarte	0 µg/trocarte

O teste estatístico inferencial aplicado de Kruskal-Walis, não foi capaz de detectar diferença em todas as comparações múltiplas, das quantidades médias dos resíduos orgânicos das pinças laparoscópicas e dos trocartes, entre os quatro métodos de limpeza entre si ($p > 0,05$), bem como dentre eles com o controle negativo ($p > 0,05$). O que não significa afirmar que o desempenho dos métodos testados foram equivalentes.

Ressalta-se que, além do pequeno tamanho amostral, houve uma grande variabilidade nos resultados dos valores mínimos e máximos obtidos de proteína, carboidrato e hemoglobina, conforme apresentado nas tabelas 4 e 5, o que impossibilitou conclusões estatísticas com maior poder.

Quando se analisa o valor médio de resíduos nas pinças laparoscópicas, o método de limpeza (4), denominado no trabalho como *gold standard*, alcançou a maior redução percentual de proteínas e carboidratos, quando comparado com outros métodos de limpeza. Proporcionalmente, no método de limpeza (4) restaram 92% a menos de µg/proteína por pinça laparoscópica, quando comparado com o método (1). O mesmo foi evidenciado para o carboidrato, sendo a proporção de 40% µg/carboidrato a menos no método de limpeza (4), quando comparado com o método (1).

Ao analisar o valor médio de resíduos nos trocartes, o método de limpeza (4), denominado no trabalho como *gold, standard*, alcançou redução percentual 99,8%

µg/proteína/trocarte e 100% µg/carboidrato/trocarte. Proporcionalmente, no método de limpeza (4) restaram 88% de proteína a mais por trocarte, quando comparado com o método (1); e para carboidrato restaram, em média, 41% a menos no método de limpeza (4), quando comparado com o método (1).

Para o resíduo de hemoglobina, o resultado satisfatório de redução de 100% (desvio padrão = 0,0) também foi alcançado pelos métodos (2) e (3), menos rigorosos de limpeza, sinalizando ser um resíduo orgânico de mais fácil remoção.

Embora as diferenças percentuais dos resíduos orgânicos quantificados, tenham sido na ordem de décimos, quando transformados na dimensão dos valores em µg/instrumental, significa dizer que após a limpeza ainda restaram resíduos nas as pinças e trocartes laparoscópicos, conforme apresentado nas tabelas 4 e 5 e sintetizado no Quadro 04, para melhorar a clareza da exposição.

Quadro 04 – Síntese dos resultados da redução percentual média dos resíduos orgânicos de proteína, carboidrato e hemoglobina no instrumental laparoscópico após diferentes métodos de limpeza, e os respectivos valores em µg/instrumental. São Paulo, 2013.

Grupos de Estudo	PROTEÍNA		CARBOIDRATO		HEMOGLOBINA	
	redução %	Média residual	redução %	Média residual	redução %	Média residual
(1) Manual + enxágue em água potável						
Pinça laparoscópica	99,7	89µg/pinça	98,0	56µg/pinça	100,0	16µg/pinça
Trocarte	99,9	34 µg/trocarte	95,1	167µg/trocarte	100,0	0
(2) Limpeza manual + USS, s/ enxágue						
Pinça laparoscópica	99,9	38µg/pinça	93,0	195µg/pinça	100,0	1µg/pinça
Trocarte	100,0	13 µg/trocarte	100,0	0	100,0	0
(3) Limpeza manual + USS, c/ enxágue em água potável						
Pinça laparoscópica	99,6	102µg/pinça	97,5	70µg/pinça	100,0	0
Trocarte	100,0	0	98,5	56 µg/trocarte	100,0	0
(4) Limpeza manual + USS, c/ enxágue em água potável + enxágue final em água destilada esterilizada						
Pinça laparoscópica	100,0	7µg/pinça	99,2	23µg/pinça	100,0	2
Trocarte	99,8	64 µg/trocarte	100,0	0	100,0	0

Especificamente relacionada a limpeza do instrumental laparoscópico, ao confrontar os resultados da presente investigação com o da literatura relacionada (Alfa e Nemes, 2004), o método de limpeza incluindo a limpeza ultrassônica também se mostrou mais eficaz no trabalho das autoras, resultado este não detectado, no presente trabalho, para o resíduo de proteína nos trocartes.

Na prática do processamento de materiais em CME, há de se considerar a possibilidade cumulativa da deposição de resíduos de proteínas e carboidratos durante os processamentos sequenciais do material. Uma vez que o grupo Controle Negativo da presente investigação avaliou instrumental novo e sem contaminação intencional, pode-se afirmar que foram obtidos os melhores valores quanto à acurácia e confiabilidade da melhor condição de limpeza que um instrumental laparoscópico pode alcançar: média de proteína de $13\mu\text{g/pinça}$ ($0,08\mu\text{g/cm}^2$), após limpeza manual e $55\mu\text{g/trocarte}$ ($0,68\mu\text{g/cm}^2$), após limpeza ultrassônica; e para os carboidratos $47\mu\text{g/pinça}$ ($0,30\mu\text{g/cm}^2$), para limpeza manual e $56\mu\text{g/pinça}$ ($0,36\mu\text{g/cm}^2$), para limpeza ultrassônica.

Outro resultado a ser retomado, refere-se ao grupo que testou a limpeza manual com enxágue em água potável, seguida de limpeza ultrassônica sem enxágue. Embora não tenha havido diferença estatística nos resíduos de proteínas, carboidratos e hemoglobina, a presente investigação não avaliou todos os possíveis resíduos passíveis de remoção aos enxágües, de modo a prevenir reações pirogênicas nos pacientes e/ou danos estruturais ao instrumental, portanto, os resultados apresentados não permitiram abolir o enxágue após a limpeza ultrassônica.

7 CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

A presente investigação trouxe respostas consistentes e plausíveis para contrariar as recomendações clássicas de que todo material deve ser autoclavado desmontado, particularmente, o instrumental laparoscópico. Os experimentos demonstraram segurança microbiológica da esterilização a vapor de pinças laparoscópicas e trocarre 5mm de diâmetros previamente montados. Considerando os instrumentos amostrados como os mais complexos dentre o arsenal laparoscópico, assume-se a afirmação de poder extrapolar a segurança em esterilizar outros itens que compõem o mesmo arsenal previamente montado, como agulha de Veress, aspirador/irrigador, aspirador com eletrocautério, dentre outros modelos de pinças laparoscópicas.

Secundariamente, dentro da crença de que a garantia da limpeza é um pré-requisito para o sucesso da esterilização, a presente investigação permitiu concluir que a pinça laparoscópica e o trocarre analisados são passíveis de limpeza eficiente. Embora, estatisticamente, os quatro métodos de limpeza avaliados na presente investigação não tenham evidenciado diferenças significantes entre si nos desfechos da redução de resíduos orgânicos (valor $p > 0,05$), não se pode afirmar que o desempenho dos métodos testados foram equivalentes. Devido o pequeno tamanho amostral e grande variabilidade entre os valores mínimos e máximos, a estatística inferencial não se mostrou como um recurso sensível o suficiente para permitir conclusões estatísticas com maior poder.

As análises em unidades de $\mu\text{g/instrumental}$ demonstraram que o método de limpeza (4) *gold standard* (limpeza manual, seguida da ultrassônica com enxágue em água potável, e rinsagem final em água destilada esterilizada) removeu, em média, 92% a mais de $\mu\text{g/proteína/pinça laparoscópica}$ e 40% a mais de $\mu\text{g/carboidrato/pinça laparoscópica}$ e por trocarre, quando comparado com o método (1), de limpeza manual com enxágue em água potável, embora esta superioridade da limpeza (4) não tenha sido observada de uma forma uniforme em todo o experimento.

Em que pese a robustez da condução metodológica adotada nesta investigação, os resultados desta pesquisa trouxeram à Enfermagem brasileira que atua em CME a segurança de autoclavar o instrumental laparoscópico montado. Adicionalmente, enseja-se que esses resultados subsidiem também os legisladores,

para que seja formalizada a possibilidade de autoclavação do instrumental laparoscópico previamente montado.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

Alfa MJ, DeGagne P, Oslon N. Worst-case soiling levels for patient-used flexible endoscopes before and after cleaning. *Am J Infect Control* 1999;27:392-401.

Alfa MJ, Nemes R. Manual versus automated methods for cleaning reusable accessory devices used for minimally invasive surgical procedures. *J Hosp Infect.* 2004;58(1):50-8.

Alfa MJ. Cleaning: recent advances in products and processes and real-time monitoring. In: Rutala WA. *Disinfection, sterilization, and antisepsis: principles, practices, current issues, and new research.* Florida, 2006. p.60-71

Alfa MJ, Oslon N, DeGagne P. Automated washing with the Reliance Endoscope Processing System and its equivalence to optimal manual cleaning. *Am J Infect Controle* 2006;34:561-70.

Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). NBR ISO 17665-1: Esterilização de produtos para saúde – Vapor. Parte 1: Requisitos para o desenvolvimento, validação e controle de rotina nos processos de esterilização de produtos para saúde. Rio de Janeiro; 2010.

Association for the Advancement Instrumentation (AAMI). *Comprehensive guide to steam sterilization and sterility assurance in health care facilities.* Arlington: AAMI, 2006. 190p.

Association of Perioperative Registered Nurse. *Recommended Practices for Sterilization in the Perioperative Practice Setting.* In: *Perioperative Standards and Recommended Practices.* Denver: AORN; 2012. p.547-69.

Brasil. Ministério da Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. *Procedimento Operacional Padronizado: Método para avaliação da atividade esporocida.* Rio de Janeiro. 2009.

Brasil. Ministério da Saúde. Portaria n. 2914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para

consumo humano e seu padrão de potabilidade. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília (DF) 2011dez. 14.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada n. 15, de 15 de março de 2012. Dispõe sobre requisitos de boas práticas para o processamento de produtos para saúde e dá outras providências. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília (DF) 2012 mar. 19.

Bergo MCNC. Avaliação do desempenho da limpeza e desinfecção das máquinas lavadoras desinfetadoras automáticas em programas com diferentes tempo e temperatura. Rev. Latino-Am. Enfermagem [internet]. set-out 2016 [acesso em: 26 abril 2013];14(5):[07 telas]. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-11692006000500015>.

Bergo MCNC, Graziano KU. Validação das máquinas lavadoras desinfetadoras automáticas conforme normas ISSO 15.883 e HTM 2030. R Enferm UERJ. 2005; 13:238-44.

Calicchio LG, Laranjeiras PR. Controle de esterilização: monitoramento e validação do processo. In: Padoveze MC, Graziano KU, coordenadores. Limpeza, desinfecção e esterilização de artigos em serviços de saúde. São Paulo: APECIH; 2010. p.193-218.

Calicchio LG, Laranjeiras PR, Graziano KU, Moriya GAA. Controle de esterilização e desinfecção. In: Graziano KU, Silva A, Psaltikidis EM, organizadoras. Enfermagem em centro de material e esterilização. São Paulo: Manole, 2011. p.204-36.

Camargo TC. Eficácia da esterilização a vapor de instrumental laparoscópico montado versus desmontado: um estudo experimental [dissertação]. São Paulo: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2007.

Caregnato RCA, Lautert L. O estresse da equipe multiprofissional na Sala de Cirurgia. Rev. Bras Enferm. 2005; 58(5):545-50.

Chandio A, Timmons S, Majeed A, Twomey A, Aftab F. Factors influencing the successful completion of laparoscopic cholecystectomy. *JSLs*. 2009;13(4):581-6.

Chow SC, Shao J, Wang H. Sample size calculations in clinical research. 2nd ed. Boca Raton (FL): Chapman & Hall; 2008.

Committee on Infection Control in the Handling of Endoscopic Equipment. Guidelines for preparation of laparoscopic instrumentation. *AORN J*. 1980; 32(1):65-76.

De Bruijn ACP, Orzechowski TJH, Wasseanaar C. Validation of the ninhydrin swab test to monitor cleaning of medical instruments. *ZentrSteril* 2001;9(4):235-247.

Dimas A, Mulazzani MP, Cioato MJG, Rocha RR. Equipamentos utilizados em videocirurgia. In: Mulazzani MP, Cioato MJG. *Enfermagem em videocirurgia: fundamentos, procedimentos e prática*. São Paulo: Atheneu, 2006. p.9-30.

Feitosa AS, Camargo TC, Graziano KU. A prática do processamento do instrumental laparoscópico montado *versus* desmontado [monografia]. São Paulo: Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo; 2011.

Francis MJ, Pashley RM. Application of a bubble column for evaporative cooling and a simple procedure for determining the latent heat of vaporization of aqueous salt solutions. *J PhysChem B*. 2009;113(27):9311-5.

Galvão CM, Sawada NO, Rosse LA. A prática baseada em evidências: considerações teóricas para sua implementação na enfermagem perioperatória. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*. 2002;10(5):690-5.

Graziano KU. Processo de limpeza, desinfecção e esterilização de artigos odontomédico hospitalares e cuidados com ambiente em centro cirúrgico. In: Lacerda RA, coordenadora. *Controle de infecção em centro cirúrgico: fatos, mitos e controvérsias*. São Paulo: Atheneu; 2003. p.163-95.

Kruger S. Testing the cleaning efficacy in decontamination equipment. *Zentr. Steril.*, 5:332-44, 1997.

Liu D, Lau YD, Chau YK, Pacepavicius G. Simple technique for estimation biofilm accumulation. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 53:913-8, 1994.

Lopes CLBC, Graziano KU, Pinto TJA. Evaluation of Single-use Reprocessed Laparoscopic Instrument Sterilization. *Rev. Latino-Am. Enfermagem* [internet]. mar-abr 2011 [acesso em: 13 outubro 2011];19(2):[08 telas]. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-1169201100020020>.

Marshburn PB, Rutala WA, Wannamaker NS, Hulka JF. Gas and steam sterilization of assembled versus disassembled laparoscopic equipment. *Microbiologic studies. J Reprod Med.* 1991;36(7):483-7.

Moore G, Griffith. Problems associated with traditional hygiene swabbing: the need for in-house standardization. *Journal of Applied Microbiology.* 2007. 1090-1103.

Nasi A, Domene CE, Santo MA, Pinotti HW. Equipamentos e instrumental. In: Pinotti HW, Domene CE. *Cirurgia vídeo laparoscópica*. São Paulo: Robe; 1993. p. 73-87.

Padoveze MC, Quelhas MC, Nakamura Yoshida MH. Métodos físicos de Esterilização. In: Padoveze MC, Graziano KU, coordenadores. *Limpeza, desinfecção e esterilização de artigos em serviços de saúde*. São Paulo: APECIH; 2010. p.108-25.

Padoveze MC, Quelhas MC, Nakamura Yoshida MH. Esterilização por métodos físicos. In: Graziano KU, Silva A, Psaltikidis EM, organizadoras. *Enfermagem em centro de material e esterilização*. São Paulo: Manole, 2011. p.109-30.

Padoveze MC. Limpeza, desinfecção e esterilização: aspectos gerais. In: Padoveze MC, Graziano KU, coordenadores. *Limpeza, desinfecção e esterilização de artigos em serviços de saúde*. São Paulo: APECIH; 2010. p.1-35.

Padoveze MC, Graziano KU. Aspectos conceituais e microbiológicos relacionados ao processamento de materiais utilizados na assistência à saúde. In: Graziano KU, Silva A, Psaltikidis EM, organizadoras. *Enfermagem em centro de material e esterilização*. São Paulo: Manole, 2011. p.22-61.

Perkins JJ. Principles of steam sterilization. In: Principles and methods of steam sterilization in health science. 2nd. ed. Springfield: Charles C Thomas, 1983. p.110-11.

Psaltikidis EM, Ribeiro SMPC. Recepção e limpeza dos materiais. In: Graziano KU, Silva A, Psaltikidis EM, organizadoras. Enfermagem em centro de material e esterilização. São Paulo: Manole, 2011. p.62-91.

Pinto TJ, Kaneko TM, Ohara MT. Controle biológico de qualidades de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. 3a ed. São Paulo: Atheneu; 2010. 804p.

Ribeiro SMCP. Limpeza. In: Padoveze MC, Graziano KU, coordenadores. Limpeza, desinfecção e esterilização de artigos em serviços de saúde. São Paulo: APECIH; 2010. p.57-82.

Rutala WA, Weber JD. Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities, Atlanta: CDC; 2008.158p.

Sociedade Brasileira de Enfermeiros de Centro Cirúrgico, Recuperação Anestésica e Centro de Material e Esterilização (SOBECC). Práticas Recomendadas. 5ª.ed. São Paulo: SOBECC; 2009.

Tosh PK, Disbot M, Duffy JM, Boom ML, Heseltine G, Srinivasan A, Gould CV, Berríos-Torres SI. Outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* Surgical Site Infections after Arthroscopic Procedures: Texas, 2009. Infect Control Hosp Epidemiol 2011;32(12):1179-1186.

Verjat D, Prognon P, Darbord JC. Fluorescence-assay on traces of protein on reusable medical devices: cleaning efficiency. International J Pharmaceutics 1999;179:267-71.

Voyles CR, Sanders DL, Simons JE, Mcvey EA, Wilson WB. Steam sterilization of laparoscopic instruments. Surg Laparosc Endosc. 1995;5(2):139-41.

APÊNDICES

APÊNDICE A – CONTROLE DE ESTERILIZAÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA

Meio de Cultura													
Tryptic Soy Broth - TSB													
Marca: BD - Referência 211825													
Lote: 0319126													
Validade: 2015-09-30													
Data preparo Quantidade tubos Volume (mL) Controle negativo (5%) Incubação 36°C, 7 dias Leitura	ciclo 1		ciclo 2		ciclo 3		ciclo 4		ciclo 5		ciclo 6		ciclo 7
	12/11/12	12/11/12	12/11/12	12/11/12	12/11/12	12/11/12	12/11/12	12/11/12	12/11/12	12/11/12	25/11/12	01/02/12	
	160	160	160	180	180	180	180	180	160	160	180	150	
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	8	8	8	9	9	9	9	9	8	8	9	8	
	19/11/12	19/11/12	19/11/12	19/11/12	19/11/12	19/11/12	19/11/12	19/11/12	19/11/12	19/11/12	01/12/12	08/12/12	
	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	
	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	
	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	
	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	negativo	
Controle positivo (triplicata) Incubação 56°C, 7 dias Leitura	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
	19/11/12	19/11/12	19/11/12	19/11/12	19/11/12	19/11/12	19/11/12	19/11/12	19/11/12	19/11/12	01/12/12	08/12/12	
	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	
	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	
	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo

APÊNDICE B – REGISTRO DOS RESULTADOS DOS TESTES DE ANÁLISE DOS RESÍDUOS ORGÂNICOS DE PROTEÍNA, CARBOIDRATO E HEMOGLOBINA NO INSTRUMENTAL LAPAROSCÓPICO

PINÇAS LAPAROSCÓPICAS

		Proteína		Carboidrato		Hemoglobina	
		µg/pinça	µg/cm ²	µg/pinça	µg/cm ²	µg/pinça	µg/cm ²
Controle positivo	P1	8996,10	57,67	1465,34	9,39	8029,39	51,47
	P2	26606,40	170,55	1535,12	9,84	27159,43	174,10
	P3	11117,82	71,27	1535,12	9,84	12778,52	81,91
	P4	7171,42	45,97	1744,46	11,18	10647,80	68,26
	P5	40715,85	261,00	2093,35	13,42	34509,55	221,22
	P6	25184,84	161,44	767,56	4,92	42219,62	270,64
	P7	31316,62	200,75	1395,57	8,95	53134,48	340,61
	P8	61296,55	392,93	7536,06	48,31	52762,91	338,22
	P9	44619,82	286,02	7047,61	45,18	66185,87	424,27
Limpeza manual + enxágue em água potável	P1	360,69	2,31	209,33	1,34	17,42	0,11
	P2	21,22	0,14	0,00	0,00	46,45	0,30
	P3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	P4	63,65	0,41	0,00	0,00	0,00	0,00
	P5	0,00	0,00	69,78	0,45	17,42	0,11
Limpeza manual + USS, s/ enxágue	P1	127,30	0,82	69,78	0,45	5,81	0,04
	P2	0,00	0,00	209,33	1,34	0,00	0,00
	P3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	P4	0,00	0,00	697,78	4,47	0,00	0,00
	P5	63,65	0,41	0,00	0,00	0,00	0,00
Limpeza manual + USS c/ enxágue em água potável	P1	63,65	0,41	0,00	0,00	0,00	0,00
	P2	233,39	1,50	139,56	0,89	0,00	0,00
	P3	84,87	0,54	209,33	1,34	0,00	0,00
	P4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	P5	127,30	0,82	0,00	0,00	0,00	0,00
Limpeza manual + USS, c/ enxágue em água potável + enxágue final em água destilada esterilizada	P1	0,00	0,00	69,78	0,45	5,81	0,04
	P2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	P3	21,22	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00
Controle negativo (limpeza manual e enxágue em água potável)	P1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	P2	17,60	0,11	0,00	0,00	0,00	0,00
	P3	21,75	0,14	140,00	0,90	0,00	0,00
Controle negativo (limpeza manual + USS c/enxágue em água potável + enxágue final em água destilada esterilizada)	P1	0,00	0,00	167,00	1,07	0,00	0,00
	P2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	P3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Observações: * USS – limpeza com lavadora ultrassônica específica para materiais canulados, com sistema de bombeamento pulsante retrofluxo. Considerou-se como 0 resultados menores que o limite detecção para o teste, não significando necessariamente ausência.

TROCARTES

		Proteína		Carboidrato		Hemoglobina	
		µg/trocarte	µg/cm ²	µg/trocarte	µg/cm ²	µg/trocarte	µg/cm ²
Controle positivo	T1	103815,87	1281,68	6698,72	82,70	40988,80	506,03
	T2	10735,91	132,54	1814,24	22,40	7878,44	97,26
	T3	4413,18	54,48	69,78	0,86	1701,09	21,00
	T4	25948,66	320,35	1465,34	18,09	48002,18	592,62
	T5	43219,48	533,57	8233,84	101,65	46469,45	573,70
	T6	83871,68	1035,45	9489,85	117,16	124940,35	1542,47
	T7	12157,47	150,09	488,45	6,03	18323,04	226,21
	T8	25821,36	318,78	1395,57	17,23	31409,26	387,77
	T9	41797,93	516,02	1186,23	14,64	128656,05	1588,35
Limpeza manual + enxágue em água potável	T1	42,43	0,52	69,78	0,86	0,00	0,00
	T2	21,22	0,26	0,00	0,00	0,00	0,00
	T3	0,00	0,00	69,78	0,86	0,00	0,00
	T4	0,00	0,00	209,33	2,58	0,00	0,00
	T5	106,09	1,31	488,45	6,03	0,00	0,00
Limpeza manual + USS, s/ enxágue	T1	63,65	0,79	0,00	0,00	0,00	0,00
	T2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	T3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	T4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	T5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Limpeza manual + USS c/ enxágue em água potável	T1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	T2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	T3	0,00	0,00	69,78	0,86	0,00	0,00
	T4	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	T5	0,00	0,00	209,33	2,58	0,00	0,00
Limpeza manual + USS, c/ enxágue em água potável + enxágue final em água destilada esterilizada	T1	190,95	2,36	0,00	0,00	0,00	0,00
	T2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	T3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Controle negativo (limpeza manual e enxágue em água potável)	T1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	T2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	T3	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Controle negativo (limpeza manual + USS c/enxágue em água potável + enxágue final em água destilada esterilizada)	T1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	T2	26,10	0,32	0,00	0,00	0,00	0,00
	T3	138,00	1,70	0,00	0,00	0,00	0,00

Observações: USS – limpeza com lavadora ultrassônica específica para materiais canulados, com sistema de bombeamento pulsante retrofluxo. Considerou-se como 0 resultados menores que o limite detecção para o teste, não significando necessariamente ausência.

APÊNDICE C – FORMULÁRIO DE REGISTRO DOS RESULTADOS DOS TESTES DE ESTERILIDADE DO PRÉ-TESTE

PINÇA LAPAROSCÓPICA

Amostras	Posição IB	Incubação 56°C 21/09/12			Choque térmico 18/10/12
		4/10	11/10	18/10	21/10
		7 dias	14 dias	21 dias	72 horas
1 Desmontada	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
2 Desmontada	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
3 Desmontada	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
4 Desmontada	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
5 Desmontada	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
6 Montada	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
7 Montada	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
8 Montada	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
9 Montada	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
10 Montada	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
Controle +	1	(+)	(+)	(+)	(+)
	2	(+)	(+)	(+)	(+)
	3	(+)	(+)	(+)	(+)
Controle -	1	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)	(-)
	3	(-)	(-)	(-)	(-)

Torcarte

Amostras	Posição IB	Incubação 56°C 21/09/12			Choque térmico 18/10/12
		4/10	11/10	18/10	21/10
		7 dias	14 dias	21 dias	72 horas
1 Desmontado	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
2 Desmontado	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
3 Desmontado	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
4 Desmontado	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
5 Desmontado	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
6 Montado	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
7 Montado	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
8 Montado	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
9 Montado	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
10 Montado	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
Controle +	1	(+)	(+)	(+)	(+)
	2	(+)	(+)	(+)	(+)
	3	(+)	(+)	(+)	(+)
Controle -	1	(-)	(-)	(-)	(-)
	2	(-)	(-)	(-)	(-)
	3	(-)	(-)	(-)	(-)

APÊNDICE D – FORMULÁRIO DE REGISTRO DOS RESULTADOS DOS TESTES DE ESTERILIDADE COM INSTRUMENTAL LAPAROSCÓPICO MONTADO

Experimento (1/10)

PINÇA LAPAROSCÓPICA						TROCARTE						Controle Positivo	
Amostra	Posição IB	Incubação 56°C 24/11/12			Choque térmico 15/12/12	Amostra	Posição IB	Incubação 56°C 24/11/12			Choque térmico 15/12/12		
		1/12	8/12	15/12	18/12			1/12	8/12	15/12	18/12		
		7 dias	14 dias	21 dias	72 horas			7 dias	14 dias	21 dias	72 horas		
P 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)	1 (+)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		
P 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)	2 (+)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		
P 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)	3 (+)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		
P 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)		
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		
P 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)		
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		
P 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)		
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		
P 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)		
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		
P 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)		
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		
P 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)		
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		
P 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)		
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		
P 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)		
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		
P 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)		
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		
P 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)		
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		
P 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)		
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		
P 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)		
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		
P 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)		
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		
P 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)		
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		
P 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)		
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)		
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)		

Experimento (2/10)

PINÇA LAPAROSCÓPICA					
Amostra	Posição IB	Incubação 56°C 25/11/12			Choque térmico 16/12/12
		2/12	9/12	16/12	19/12
		7 dias	14 dias	21 dias	72 horas
P 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)

TROCARTE					
Amostra	Posição IB	Incubação 56°C 25/11/12			Choque térmico 16/12/12
		2/12	9/12	16/12	19/12
		7 dias	14 dias	21 dias	72 horas
T 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)

Controle Positivo
1 (+)
2 (+)
3 (+)

Experimento (3/10)

PINÇA LAPAROSCÓPICA

Amostra	Posição IB	Incubação 56°C 02/12/12			Choque térmico 23/12/12
		9/12	16/12	23/12	26/12
		7 dias	14 dias	21 dias	72 horas
P 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)

TROCARTE

Amostra	Posição IB	Incubação 56°C 02/12/12			Choque térmico 23/12/12
		9/12	16/12	23/12	26/12
		7 dias	14 dias	21 dias	72 horas
T 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)

Controle Positivo
1 (+)
2 (+)
3 (+)

Experimento (4/10)

PINÇA LAPAROSCÓPICA						TROCARTE					
Amostra	Posição IB	Incubação 56°C			Choque	Amostra	Posição IB	Incubação 56°C			Choque
		02/12/12			23/12/12			02/12/12			23/12/12
		9/12	16/12	23/12	26/12			9/12	16/12	23/12	26/12
		7 dias	14 dias	21 dias	72 horas			7 dias	14 dias	21 dias	72 horas
P 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)

Controle Positivo
1 (+)
2 (+)
3 (+)

Experimento (5/10)

PINÇA LAPAROSCÓPICA					
Amostra	Posição IB	Incubação 56°C 05/12/12			Choque térmico 26/12/12
		12/12	19/12	26/12	29/12
		7 dias	14 dias	21 dias	72 horas
P 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)

TROCARTE					
Amostra	Posição IB	Incubação 56°C 05/12/12			Choque térmico 26/12/12
		12/12	19/12	26/12	29/12
		7 dias	14 dias	21 dias	72 horas
T 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)

Controle Positivo
1 (+)
2 (+)
3 (+)

Experimento (6/10)

PINÇA LAPAROSCÓPICA					
Amostra	Posição IB	Incubação 56°C 06/12/12			Choque térmico 27/12/12
		13/12	20/12	27/12	30/12
		7 dias	14 dias	21 dias	72 horas
P 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)

TROCARTE					
Amostra	Posição IB	Incubação 56°C 06/12/12			Choque térmico 27/12/12
		13/12	20/12	27/12	30/12
		7 dias	14 dias	21 dias	72 horas
T 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)

Controle Positivo
1 (+)
2 (+)
3 (+)

Experimento (7/10)

PINÇA LAPAROSCÓPICA						TROCARTE					
Amostra	Posição IB	Incubação 56°C			Choque	Amostra	Posição IB	Incubação 56°C			Choque
		07/12/12			térmico			07/12/12			térmico
		14/12	21/12	28/12	28/12/12			14/12	21/12	28/12	28/12/12
		7 dias	14 dias	21 dias	31/12			7 dias	14 dias	21 dias	31/12
P 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)

Controle Positivo
1 (+)
2 (+)
3 (+)

Experimento (8/10)

PINÇA LAPAROSCÓPICA						TROCARTE						Controle Positivo
Amostra	Posição IB	Incubação 56°C 07/12/12			Choque térmico 28/12/12	Amostra	Posição IB	Incubação 56°C 07/12/12			Choque térmico 28/12/12	
		14/12	21/12	28/12	31/12			14/12	21/12	28/12	31/12	
		7 dias	14 dias	21 dias	72 horas			7 dias	14 dias	21 dias	72 horas	
P 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)	1 (+)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	
P 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)	2 (+)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	
P 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)	3 (+)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	
P 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	
P 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	
P 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	
P 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	
P 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	
P 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	
P 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	
P 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	
P 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	
P 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	
P 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	
P 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	
P 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	
P 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	
P 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)	
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)	
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)	

Experimento (9/10)

PINÇA LAPAROSCÓPICA					
Amostra	Posição IB	Incubação 56°C 09/12/12			Choque térmico 30/12/12
		16/12	23/12	30/12	02/01
		7 dias	14 dias	21 dias	72 horas
P 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)

TROCARTE					
Amostra	Posição IB	Incubação 56°C 09/12/12			Choque térmico 30/12/12
		16/12	23/12	30/12	02/01
		7 dias	14 dias	21 dias	72 horas
T 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)
T 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)

Controle Positivo
1 (+)
2 (+)
3 (+)

Experimento (10/10)

PINÇA LAPAROSCÓPICA						TROCARTE					
Amostra	Posição IB	Incubação 56°C 09/12/12			Choque térmico 30/12/12	Amostra	Posição IB	Incubação 56°C 09/12/12			Choque térmico 30/12/12
		16/12	23/12	30/12	02/01			16/12	23/12	30/12	02/01
		7 dias	14 dias	21 dias	72 horas			7 dias	14 dias	21 dias	72 horas
P 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 1	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 2	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 3	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 4	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 5	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 6	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 7	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 8	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 9	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 10	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 11	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 12	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 13	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 14	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 15	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 16	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 17	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)
P 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)	T 18	A	(-)	(-)	(-)	(-)
	B	(-)	(-)	(-)	(-)		B	(-)	(-)	(-)	(-)
	C	(-)	(-)	(-)	(-)		C	(-)	(-)	(-)	(-)

Controle Positivo
1 (+)
2 (+)
3 (+)

ANEXO 1 – CÁLCULO DA ÁREA DA SUPERFÍCIE DO INSTRUMENTAL LAPAROSCÓPICO¹¹

Rev. Nº	Nota de revisão:	Data	Revisado por:	Conferido por:

Area da superfície 80,9558 cm²

Peça	Denominações e Observações	Quant.	Material e Dimensões
	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div> <p>Guilherme Lima Leite</p> </div> <div> <p>TÍTULO:</p> <p>MODALIDADE:</p> <p>TEMPO:</p> <p>REGISTRO:</p> </div> </div>		<p>UNIDADE: mm</p> <p>PROJEÇÃO: </p> <p>ESCALA: 1 : 1</p> <p>DATA:</p> <p>REVISÃO Nº:</p>

Formato A4 (210 x 297)

¹¹ Software Solidworks, versão 2012-2013. Professores responsáveis: Valter Roberto Serafim e José Roberto Melo.

Rev. Nº	Nota de revisão:	Data	Revisado por:	Conferido

Area da superficie 156,0374 cm²

Peça	Denominações e Observações	Quant.	Material e Dimensões

<p>Guilherme Lima Leite</p>	<p>TÍTULO:</p> <p>MODALIDADE:</p> <p>TEMPO:</p> <p>REGISTRO:</p>	<p>UNIDADE: mm</p> <p>PROJEÇÃO:</p> <p>ESCALA: 1 : 5</p> <p>DATA:</p> <p>REVISÃO Nº:</p>
---	--	--

Formato A4 (210 x 297)	2	3	4
------------------------	---	---	---

ANEXO 2 – CICLOS DE ESTERILIZAÇÃO DO INSTRUMENTAL LAPAROSCÓPICO

L. 13MBKMSILE
 HOSP UNIVERSITARIO
 -----000-----
 Autoclave Mod. CISA 6412
 Inicio Ciclo 12:33:34
 27/09/12
 SN6412-23-11-06-00016532
 Lote :
 05 AUTOCLAVE 1
 INSTRUMENTAL LEVE
 Esterilizacao T=134.0°C
 t=0005 min
 Ruq. SU Cam. CEST. 0. OFFF
 12:36 057.0°C 0426 mbar
 ACONDICIONAMENTO
 12:36 056.9°C 0369 mbar
 Vacuo N.01 0150 mbar
 12:37 062.1°C 0325 mbar
 Vapor N.02 1300 mbar
 12:37 099.6°C 0982 mbar
 Vacuo N.02 0150 mbar
 12:38 063.4°C 0292 mbar
 Vapor N.03 1300 mbar
 12:39 102.4°C 0992 mbar
 Vacuo N.03 0150 mbar
 12:39 066.4°C 0329 mbar
 Vapor N.04 1300 mbar
 12:40 105.4°C 1053 mbar
 Vacuo N.04 0150 mbar
 12:41 064.4°C 0354 mbar
 AQUECIMENTO 134.0°C
 12:44 134.7°C 3098 mbar
 ESTERILIZACAO 0005 min
 Temp T. Cam. P. Cam.
 12:45 134.6°C 3082 mbar
 12:45 134.6°C 3085 mbar
 12:46 134.8°C 3095 mbar
 12:46 134.9°C 3074 mbar
 12:47 134.9°C 3090 mbar
 12:47 134.9°C 3083 mbar
 12:48 134.5°C 3080 mbar
 12:48 134.6°C 3055 mbar
 12:49 134.8°C 3082 mbar
 12:49 133.0°C 2720 mbar
 LAVAGEM 0250 mbar
 12:59 107.6°C 0217 mbar
 SECAGEM 0150 mbar
 13:09 054.7°C 0087 mbar
 AERACAO
 Tempo total 0035 min.
 Ciclo numero 8432
 Temper. MAX= 135.0°C
 Temper. MIN= 134.5°C
 13:11 078.1°C 0947 mbar
 CICLO TERMINADO
 REGULARMENTE

10 10 5 0 5 10 5 10 5 10 5
 wdy
 31/03/2006
 CIPROBAC
 HOSP. UNIVERSITARIO
 ---000---
 Autoclave Mod. C15A 6412
 Inicio Ciclo 17:55:49
 24/11/12
 SN6412-23-11-06-00016532
 Lote :
 09 AUTOCLAVE 1
 INSTRUMENTAL LEVE
 Esterilizacao T:134.0°C
 t:0005 min
 Água: SU Cam. CEST. Q. OFFF
 17:56 085.1°C 0430 mbar
 ACONDICIONAMENTO
 17:56 085.7°C 0377 mbar
 Vacuo N.01 0150 mbar
 17:57 090.6°C 0409 mbar
 Vapor N.02 1300 mbar
 17:57 102.9°C 1008 mbar
 Vacuo N.02 0150 mbar
 17:58 065.1°C 0383 mbar
 Vapor N.03 1300 mbar
 17:59 102.7°C 0979 mbar
 Vacuo N.03 0150 mbar
 17:59 069.3°C 0363 mbar
 Vapor N.04 1300 mbar
 18:00 105.6°C 1016 mbar
 Vacuo N.04 0150 mbar
 18:00 063.9°C 0329 mbar
 AQUECIMENTO 134.0°C
 18:03 134.6°C 3063 mbar
 ESTERILIZACAO 0005 min
 Temp. T.Cam. P.Cam.
 18:04 134.6°C 3063 mbar
 18:05 134.5°C 3066 mbar
 18:05 134.8°C 3081 mbar
 18:06 134.7°C 3083 mbar
 18:06 134.8°C 3079 mbar
 18:07 134.7°C 3075 mbar
 18:07 134.6°C 3084 mbar
 18:08 134.7°C 3074 mbar
 18:08 134.7°C 3083 mbar
 18:08 132.8°C 2693 mbar
 LAVAGEM 0250 mbar
 18:18 103.9°C 0214 mbar
 SECAGEM 0150 mbar
 18:28 080.2°C 0102 mbar
 FERRACAO
 Tempo total 0034 min.
 Ciclo numero 19046
 Temper. MAX= 135.0°C
 Temper. MIN= 134.6°C
 18:30 088.1°C 0933 mbar

[illegible]

10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100
----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----	-----

CISABRASILE
HOSP UNIVERSITARIO

Autoclave Mod. CISA 6412
Inicio Ciclo 12:55:22
06/12/12
SN6412-27-02-09-00016577
Lote :
04 AUTOCLAVE 02

INSTRUMENTAL LEVE
Esterilização T=134.0°C
t=0005 min

Água: SU Cam. CEST. 0. OFFF

12:55 068.5°C 0537 mbar
ACONDICIONAMENTO

12:55 068.5°C 0493 mbar
Vácuo N.01 0150 mbar

12:59 085.1°C 0330 mbar
Vácuo N.02 1300 mbar

13:00 101.0°C 1014 mbar
Vácuo N.02 0150 mbar

13:01 079.2°C 0294 mbar
Vácuo N.03 1300 mbar

13:02 100.4°C 1031 mbar
Vácuo N.03 0150 mbar

13:03 089.7°C 0319 mbar
Vácuo N.04 1300 mbar

13:03 110.2°C 1004 mbar
Vácuo N.04 0150 mbar

13:04 089.5°C 0336 mbar
AQUECIMENTO 134.0°C

13:11 134.7°C 3192 mbar
ESTERILIZAÇÃO 0005 min
Temp T.Cam. P.Cam.

13:11 134.6°C 3180 mbar
13:12 134.9°C 3207 mbar
13:12 134.8°C 3188 mbar
13:13 134.8°C 3190 mbar
13:13 134.9°C 3192 mbar
13:14 134.8°C 3188 mbar
13:14 134.7°C 3183 mbar
13:15 134.7°C 3180 mbar
13:15 134.5°C 3176 mbar

13:16 133.1°C 2807 mbar
LAUAGEM 0250 mbar

13:26 111.5°C 0222 mbar
SECAGEM 0150 mbar

13:36 051.3°C 0085 mbar
ARRABO

Tempo total 0043 min.
Ciclo numero 9489
Temper. MAX= 135.0°C
Temper. MIN= 134.6°C
13:38 064.3°C 0935 mbar
CICLO TERMINADO
REGULARMENTE

CISABRASILE
HOSP UNIVERSITARIO

Autoclave Mod. CISA 6412
Inicio Ciclo 06:28:54
07/12/12
SN6412-27-02-09-00016577
Lote :
04 AUTOCLAVE 02

INSTRUMENTAL PESADO
Esterilização T=134.0°C
t=0005 min

Água: SU Cam. CEST. 0. OFFF

06:29 071.5°C 0537 mbar
ACONDICIONAMENTO

06:29 071.8°C 0495 mbar
Vácuo N.01 0150 mbar

06:34 087.4°C 0312 mbar
Vácuo N.02 1300 mbar

06:35 102.8°C 0998 mbar
Vácuo N.02 0150 mbar

06:36 063.1°C 0286 mbar
Vácuo N.03 1300 mbar

06:36 105.9°C 1035 mbar
Vácuo N.03 0150 mbar

06:37 086.7°C 0273 mbar
Vácuo N.04 1300 mbar

06:38 111.5°C 1097 mbar
Vácuo N.04 0150 mbar

06:39 092.4°C 0286 mbar
AQUECIMENTO 134.0°C

06:46 134.8°C 3169 mbar
ESTERILIZAÇÃO 0005 min
Temp T.Cam. P.Cam.

06:46 134.8°C 3180 mbar
06:47 134.7°C 3166 mbar
06:47 134.8°C 3179 mbar
06:48 134.6°C 3147 mbar
06:48 134.6°C 3165 mbar
06:49 134.7°C 3173 mbar
06:49 134.8°C 3179 mbar
06:50 134.7°C 3177 mbar
06:50 134.7°C 3176 mbar

06:51 133.4°C 2845 mbar
LAUAGEM 0250 mbar

07:05 113.3°C 0225 mbar
SECAGEM 0150 mbar

07:20 081.7°C 0076 mbar
ARRABO

Tempo total 0054 min.
Ciclo numero 9504
Temper. MAX= 135.0°C
Temper. MIN= 134.6°C
07:22 083.0°C 0938 mbar

CISABRASILE
HOSP UNIVERSITARIO

Autoclave Mod. CISA 6412
Inicio Ciclo 14:07:07
07/12/12
SN6412-27-02-09-00016577
Lote :
04 AUTOCLAVE 02

INSTRUMENTAL PESADO
Esterilização T=134.0°C
t=0005 min

Água: SU Cam. CEST. 0. OFFF

14:07 063.2°C 0499 mbar
ACONDICIONAMENTO

14:07 063.5°C 0450 mbar
Vácuo N.01 0150 mbar

14:08 071.8°C 0291 mbar
Vácuo N.02 1300 mbar

14:09 099.9°C 1043 mbar
Vácuo N.02 0150 mbar

14:09 072.1°C 0295 mbar
Vácuo N.03 1300 mbar

14:10 104.7°C 0998 mbar
Vácuo N.03 0150 mbar

14:12 081.0°C 0323 mbar
Vácuo N.04 1300 mbar

14:12 105.1°C 1050 mbar
Vácuo N.04 0150 mbar

14:13 067.2°C 0333 mbar
AQUECIMENTO 134.0°C

14:19 134.8°C 3200 mbar
ESTERILIZAÇÃO 0005 min
Temp T.Cam. P.Cam.

14:19 134.6°C 3190 mbar
14:19 134.6°C 3175 mbar
14:19 134.9°C 3196 mbar
14:19 134.8°C 3184 mbar
14:19 134.6°C 3186 mbar
14:19 134.8°C 3180 mbar
14:19 134.8°C 3190 mbar
14:19 134.8°C 3191 mbar
14:19 134.8°C 3201 mbar

14:19 132.9°C 2762 mbar
LAUAGEM 0250 mbar

14:29 115.6°C 0228 mbar
SECAGEM 0150 mbar

14:44 075.0°C 0080 mbar
ARRABO

Tempo total 0050 min.
Ciclo numero 9510
Temper. MAX= 135.0°C
Temper. MIN= 134.6°C
14:46 079.6°C 0937 mbar
CICLO TERMINADO
REGULARMENTE

ANEXO 3 – CICLOS DE ESTERILIZAÇÃO DOS MEIOS DE CULTURA

Ver = Lab00Tn1
 Cyc:4-Liquids
 Ster Temp:122°C
 Ster time:020min
 Dry time:000min
 12/11/2012 15:02:16

 W00:00 040.3°C 092.0k
 H01:35 043.1°C 092.3k
 H06:35 061.6°C 095.8k
 H11:35 091.2°C 108.4k
 H16:35 107.5°C 158.1k
 H21:35 120.0°C 216.9k
 S24:26 122.2°C 228.1k
 S25:26 123.1°C 232.4k
 S26:26 122.5°C 226.2k
 S27:26 122.5°C 229.5k
 S28:26 123.1°C 229.3k
 S29:26 122.3°C 223.0k
 S30:26 122.8°C 229.8k
 S31:26 123.1°C 226.8k
 S32:26 122.2°C 220.5k
 S33:26 123.0°C 228.4k
 S34:26 123.0°C 224.8k
 S35:26 122.3°C 219.0k
 S36:26 123.0°C 226.1k
 S37:26 123.0°C 222.6k
 S38:26 122.1°C 218.8k
 S39:26 123.3°C 226.1k
 S40:26 122.9°C 221.3k
 S41:26 122.1°C 217.5k
 S42:26 123.2°C 225.2k
 S43:26 123.0°C 221.2k
 S44:26 122.2°C 215.7k
 E83:39 095.1°C 086.4k

Cycle ended
 Load number:0179
 12/11/2012 16:26:00
 Operator:_____
 Autoclave:1

Ver = Lab00Tn1
 Cyc:4-Liquids
 Ster Temp:122°C
 Ster time:020min
 Dry time:000min
 12/11/2012 16:41:42

 W00:00 045.0°C 092.9k
 H01:47 048.5°C 092.2k
 H06:47 069.2°C 098.1k
 H11:47 097.3°C 126.7k
 H16:47 113.8°C 191.0k
 H21:47 121.3°C 226.6k
 S22:35 122.1°C 230.6k
 S23:35 123.0°C 233.8k
 S24:35 122.4°C 227.2k
 S25:35 122.6°C 233.5k
 S26:35 123.1°C 231.6k
 S27:36 122.3°C 224.5k
 S28:36 122.8°C 232.0k
 S29:36 123.3°C 229.2k
 S30:36 122.3°C 222.6k
 S31:36 122.8°C 229.6k
 S32:36 123.2°C 226.9k
 S33:36 122.4°C 220.5k
 S34:36 122.8°C 228.0k
 S35:36 123.2°C 225.4k
 S36:36 122.4°C 219.1k
 S37:36 122.8°C 226.7k
 S38:36 123.2°C 224.5k
 S39:36 122.5°C 218.3k
 S40:36 122.6°C 224.5k
 S41:36 123.3°C 223.6k
 S42:35 122.5°C 217.9k
 E81:58 095.1°C 086.1k

Cycle ended
 Load number:0180
 12/11/2012 18:03:45
 Operator:_____
 Autoclave:1

Ver = Lab00Tn1
 Cyc:4-Liquids
 Ster Temp:122°C
 Ster time:020min
 Dry time:000min
 12/11/2012 18:41:41

 W00:00 034.9°C 092.0k
 H01:24 038.8°C 092.5k
 H06:24 068.0°C 097.0k
 H11:24 092.0°C 110.3k
 H16:24 109.4°C 167.6k
 H21:24 120.4°C 218.6k
 S23:36 122.2°C 227.5k
 S24:36 123.1°C 232.2k
 S25:37 122.5°C 226.0k
 S26:37 122.5°C 230.8k
 S27:37 123.3°C 229.9k
 S28:37 122.5°C 223.3k
 S29:37 122.6°C 229.8k
 S30:37 123.1°C 227.6k
 S31:37 122.4°C 221.1k
 S32:37 122.7°C 228.0k
 S33:37 123.3°C 226.6k
 S34:37 122.6°C 220.3k
 S35:37 122.5°C 224.6k
 S36:37 123.2°C 225.1k
 S37:37 122.5°C 219.2k
 S38:37 122.4°C 222.5k
 S39:37 123.2°C 223.6k
 S40:37 122.6°C 218.0k
 S41:37 122.6°C 222.6k
 S42:37 123.1°C 222.3k
 S43:36 122.5°C 216.6k
 E83:04 095.1°C 085.9k

Cycle ended
 Load number:0181
 12/11/2012 20:04:50
 Operator:_____
 Autoclave:1

Ver = Lab00Tn1
 Cyc:4-Liquids
 Ster Temp:122°C
 Ster time:020min
 Dry time:000min
 12/11/2012 20:44:17

 W00:00 032.5°C 092.3k
 H01:29 036.5°C 092.3k
 H06:29 065.0°C 096.5k
 H11:29 091.1°C 108.3k
 H16:29 108.5°C 164.2k
 H21:29 120.3°C 217.8k
 S24:00 122.2°C 228.0k
 S25:00 123.2°C 233.0k
 S26:00 122.6°C 226.5k
 S27:00 122.2°C 227.8k
 S28:00 123.2°C 230.2k
 S29:00 122.5°C 223.9k
 S30:00 122.6°C 228.3k
 S31:00 123.3°C 228.6k
 S32:00 122.6°C 222.5k
 S33:00 122.3°C 224.6k
 S34:00 123.3°C 227.0k
 S35:00 122.6°C 220.8k
 S36:00 122.5°C 225.0k
 S37:00 123.3°C 225.3k
 S38:00 122.5°C 218.8k
 S39:00 122.6°C 224.7k
 S40:00 123.3°C 223.6k
 S41:00 122.5°C 217.7k
 S42:00 122.5°C 222.6k
 S43:01 123.3°C 223.2k
 S44:00 122.5°C 217.2k
 E82:19 095.0°C 085.8k

Cycle ended
 Load number:0182
 12/11/2012 22:06:41
 Operator:_____
 Autoclave:1

Ver = Lab00Tn1
 Cyc:4-Liquids
 Ster Temp:122°C
 Ster time:020min
 Dry time:000min
 12/11/2012 22:11:08

 W00:00 045.3°C 093.7k
 H02:02 053.0°C 092.4k
 H07:02 076.1°C 098.9k
 H12:02 102.8°C 142.6k
 H17:02 119.5°C 214.8k
 S20:45 122.3°C 229.3k
 S21:45 123.1°C 233.4k
 S22:45 122.6°C 226.8k
 S23:45 122.5°C 230.8k
 S24:45 123.2°C 231.1k
 S25:45 122.6°C 224.6k
 S26:45 122.5°C 228.6k
 S27:45 123.2°C 228.8k
 S28:45 122.5°C 222.4k
 S29:45 122.6°C 228.0k
 S30:45 123.3°C 227.2k
 S31:45 122.5°C 220.5k
 S32:45 122.5°C 225.3k
 S33:45 123.2°C 225.3k
 S34:45 122.5°C 219.1k
 S35:45 122.6°C 225.0k
 S36:45 123.2°C 224.1k
 S37:45 122.5°C 218.0k
 S38:45 122.6°C 224.4k
 S39:45 123.3°C 222.6k
 S40:45 122.5°C 216.5k
 E79:14 095.1°C 085.8k

Cycle ended
 Load number:0183
 12/11/2012 23:30:27
 Operator:_____
 Autoclave:1

Ver = Lab00Tn1
 Cyc:4-Liquids
 Ster Temp:122°C
 Ster time:020min
 Dry time:000min
 25/11/2012 14:07:36

 W00:00 024.3°C 092.1k
 H01:42 024.5°C 092.4k
 H06:42 036.0°C 094.1k
 H11:42 074.2°C 094.9k
 H16:42 097.9°C 123.9k
 H21:42 115.4°C 194.5k
 H26:42 121.8°C 225.3k
 S27:07 122.1°C 226.7k
 S28:07 123.0°C 231.1k
 S29:07 122.4°C 224.5k
 S30:07 122.8°C 231.0k
 S31:07 122.8°C 226.3k
 S32:07 122.2°C 225.4k
 S33:07 123.2°C 227.8k
 S34:08 122.5°C 221.3k
 S35:08 122.8°C 227.5k
 S36:08 123.0°C 224.1k
 S37:08 122.2°C 221.3k
 S38:08 123.4°C 226.9k
 S39:08 122.8°C 220.5k
 S40:08 122.5°C 224.1k
 S41:08 123.1°C 224.0k
 S42:08 122.5°C 217.5k
 S43:08 123.0°C 225.2k
 S44:08 123.1°C 221.7k
 S45:08 122.3°C 216.1k
 S46:08 123.2°C 224.0k
 S47:07 122.8°C 218.6k
 E84:45 095.1°C 086.3k

Cycle ended
 Load number:0185
 25/11/2012 15:32:26
 Operator:_____
 Autoclave:1

Ver = Lab00Tn1
Cyc:4-Liquids
Ster Temp:122°C
Ster time:020min
Dry time:000min
01/12/2012 17:38:13

W00:00 023.8°C 091.6k
H01:38 023.8°C 092.0k
H06:38 037.5°C 093.5k
H11:38 080.5°C 095.5k
H16:38 102.6°C 140.6k
H21:39 119.6°C 214.6k
S25:57 122.2°C 227.8k
S26:57 123.1°C 232.6k
S27:57 122.4°C 225.1k
S28:57 123.1°C 232.8k
S29:57 123.0°C 227.8k
S30:57 122.2°C 225.4k
S31:57 123.3°C 229.5k
S32:57 122.6°C 222.5k
S33:57 122.8°C 229.3k
S34:57 123.3°C 226.6k
S35:57 122.3°C 219.5k
S36:57 123.1°C 228.5k
S37:57 123.2°C 223.9k
S38:57 122.1°C 218.1k
S39:58 123.3°C 226.5k
S40:58 122.8°C 221.0k
S41:58 122.2°C 219.5k
S42:58 123.3°C 225.1k
S43:58 122.8°C 219.0k
S44:58 122.5°C 222.0k
S45:57 123.3°C 222.6k
E81:06 095.0°C 086.1k

Cycle ended
Load number:0188
01/12/2012 18:59:24
Operator:_____
Autoclave:1