UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM

Camila Quartim de Moraes Bruna

Influência da temperatura e da umidade relativa ambientais na manutenção da
esterilidade de materiais autoclavados em diferentes embalagens

São Paulo
2010

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENFERMAGEM

Camila Quartim de Moraes Bruna

Influência da temperatura e da umidade relativa ambientais na manutenção da esterilidade de materiais autoclavados em diferentes embalagens

Dissertação apresentada à Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Enfermagem Saúde do Adulto

Orientadora: Prof. Dra. Kazuko Uchikawa Graziano

São Paulo
2010

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVECCIONAL 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

Bruna, Camila Quartim de Moraes

Influência da temperatura e da umidade relativa ambientais na manutenção da esterilidade de materiais autoclavados em diferentes embalagens. / Camila Quartim de Moraes Bruna. - São Paulo, 2010.

80 p.

Dissertação (Mestrado) - Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo.

Orientadora: Profª Dra Kazuko Uchikawa Graziano

1.temperatura ambiente 2. umidade 3. armazenamento de materiais e provisões I. Título

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: Camila Quartim de Moraes Bruna

Título: INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DA UMIDADE RELATIVA AMBIENTAIS
NA MANUTENÇÃO DA ESTERILIDADE DE MATERIAIS AUTOCLAVADOS EM
DIFERENTES EMBALAGENS.

Dissertação apresentada a Escola de
Enfermagem da Universidade de São
Paulo para obtenção do título de Mestre
em Ciências.

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Este trabalho foi desenvolvido na Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo no Programa de pós-graduação estrito senso do Programa de Enfermagem na Saúde do Adulto (PROESA) com apoio financeiro da Fundação de amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Dedicatória

A meus pais, Patricia Ann e Carlos Antonio, que mesmo não presentes fisicamente foram e sempre serão minha força para seguir em frente.

A meu marido, Paulo, o grande amor de minha vida, por toda a sua paciência nos momentos difíceis e pelo apoio incondicional, mas principalmente por acreditar tanto em mim.

A minha filha, Gabriela, meu novo amor, que chegou no meio deste processo, modificando minha vida e fazendo-me ainda mais feliz.

Agradecimentos

À minha orientadora, mentora, amiga, mãe, Professora Dra Kazuko Uchikawa Graziano, pela paciência e compreensão infinitas. Por servir de inspiração profissional quando penso: “Quero ser igual a ela um dia”. Sua humildade faz com que acreditemos mais em nós mesmos!

À Diretoria de Enfermagem do Hospital Estadual de Diadema, por permitir o desenvolvimento de parte desta pesquisa.

À minha amiga, Flávia Moraes Gomes Pinto, pela ajuda inestimável, pelo apoio, pelo carinho e sobretudo pela amizade.

A meu colega, Rafael Queiroz de Souza, pela ajuda infinita.

À microbiologista, Cely Barreto da Silva, por não medir esforços para me ajudar, sendo sempre tão solícita.

E a todos aqueles que me ajudaram direta ou indiretamente...

Bruna, CQM. Influência da temperatura e da umidade relativa ambientais na manutenção da esterilidade de materiais autoclavados em diferentes embalagens. São Paulo, 2010.

RESUMO

Uma das variáveis que interfere na manutenção da esterilidade dos materiais diz respeito ao armazenamento. Muitas são as recomendações, oficiais ou não oficiais, feitas para a temperatura e a umidade relativa do ar (UR) desta área física, embora sem embasamento teórico ou experimental. Nem todos os hospitais possuem sistema que possibilite o controle da temperatura e da UR, e a área onde ficam dispostas as autoclaves, geralmente é contígua a área de guarda dos materiais esterilizados, liberando calor e vapor constantemente. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar e analisar os efeitos da alta umidade e da alta temperatura ambientais na contaminação do conteúdo de caixas cirúrgicas. Considerando que uma das funções das embalagens é manter a esterilidade do conteúdo, ainda que sob condições adversas, a recomendação para controle ambiental da área de armazenamento, a priori, teria uma importância secundária. Suscitou-se, então, a dúvida quanto à real importância da temperatura e da UR na contaminação dos artigos armazenados, após a esterilização em autoclave. Portanto, foi realizado um estudo experimental, em que caixas contendo instrumentais cirúrgicos e carreadores de porcelana foram embaladas em campo de algodão tecido, papel crepado, SMS e papel grau cirúrgico, autoclavadas, contaminadas externa e intencionalmente com *Serratia marcescens* 10⁶ e armazenadas em ambiente com temperatura em torno de 35°C e UR em torno de 75%. Foram comparados com um grupo controle negativo armazenado em temperatura em torno de 20°C e UR em torno de 60%, parâmetros estes recomendados por várias literaturas. Após o período de 30 dias de armazenamento, os carreadores retirados do interior das caixas foram incubados e não foi observado crescimento bacteriano em nenhuma das amostras. Os resultados do experimento permitiram concluir que alta temperatura ambiental e alta UR não interferiram na capacidade de biobarreira das embalagens.

Palavras-chave: temperatura ambiente, umidade, esterilização, armazenamento de materiais e provisões, enfermagem, embalagem de produto

Bruna, CQM. The influence of enviromental temperature and air humidity in the maintenance of the sterility of materials sterilized in diferent wraps. São Paulo, 2008.

ABSTRACT

One of the variables which interfere in the maintenance of sterility in the materials is the storage. There are many official and not-official recommendations for temperature and air humidity control in the storage area, however without any theoretical or experimental basis. Some hospitals do not have a system that makes the control of temperature and humidity possible, and, in most cases, the sterilizing chambers are next to the storage area, constantly releasing heat and water vapour. Considering that one of the functions of the wraps is to maintain the sterility of the content, even under adverse conditions, the recommendations to have an environmental control in the storage area, a priori, would have a secondary importance. For these reason the doubt about the real importance of the temperature and humidity in the contamination of the materials stored after the autoclave sterilization arise. Therefore, an experiment was developed in which boxes with surgical instruments and cylinders carriers were packed in cotton sheets, crepe paper, SMS and surgical-grade paper, sterilized, and intentionally contaminated externally with *Serratia marcescens* 10⁶ and stored in an environment with temperature around 35°C and air humidity around 75%. This group was compared with another group, the negative control, stored in temperature around 20 °C and air humidity around 60%. After a period of 30 days of storage, the carriers were removed from the boxes and incubated. No bacterial growth was detected in any of the samples. The experiment results allowed concluding that the high temperature and high air humidity do not interfere in the barrier efficiency of the packs.

Key-words: temperature, humidity, sterilization, materials and supplies stockpiling, nursing, product packaging

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Esquema demonstrando a distribuição dos carreadores para cada grupo e cada embalagem. São Paulo, 2010.....	39
Figura 2. Fios de seda e cilindros de porcelana formando uma argola, representando os carreadores. São Paulo, 2009.....	42
Figura 3. Contaminação das mãos enluvadas no caldo de <i>Serratia marcescens</i> . São Paulo, 2009.....	48
Figura 4. Secagem das mãos enluvadas contaminadas por meio de movimentos horizontais. São Paulo, 2009.....	48
Figura 5. Contaminação por compressão das mãos enluvadas contaminadas na caixa embalada em papel grau cirúrgico. São Paulo, 2009.....	49
Figura 6. Contaminação por compressão das mãos enluvadas contaminadas na caixa embalada em SMS. São Paulo, 2009.....	49
Figura 7. Contaminação por compressão das mãos enluvadas contaminadas na caixa embalada em algodão tecido. São Paulo, 2009.....	50
Figura 8. Contaminação por compressão das mãos enluvadas contaminadas na caixa embalada em papel crepado. São Paulo, 2009.....	50
Figura 9. Armazenamento das caixas embaladas e contaminadas em estufa - grupo experimental. São Paulo, 2009.....	53
Figura 10. Armazenamento das caixas embaladas e contaminadas em ambiente - grupo controle. São Paulo, 2009.....	54
Figura 11. Contaminação das amostras de embalagens para controle positivo. São Paulo, 2009.....	55

Figura 12. Placas contendo as amostras de embalagens contaminadas. São Paulo, 2009.....	55
Figura 13. Carreadores incubados em caldo TSB. São Paulo, 2009.....	57
Figura 14. Carreadores retirados do interior das caixas do grupo controle incubados em caldo TSB. São Paulo, 2009.....	57
Figura 15. Carreadores retirados do interior das caixas do grupo experimental incubados em caldo TSB. São Paulo, 2009.....	58
Figura 16. Placas de Petri com crescimento característico de <i>Serratia marcescens</i> . São Paulo, 2009.....	59

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Comparação das recomendações de temperatura (T°C) e umidade relativa (UR%) no local de armazenamento dos materiais esterilizados por diferentes autores. São Paulo, 2010.....	27
Quadro 2. Síntese dos experimentos publicados que envolveram o estudo de temperatura e umidade ambientes no local de armazenamento de materiais esterilizados. São Paulo, 2010.....	34
Quadro 3. Valores de temperaturas observadas na área de armazenamento de material esterilizado de uma CME, nos meses de janeiro, julho e outubro em 2008, nos períodos da manhã, tarde e noite. São Paulo, 2008.....	52
Quadro 4. Resultados do controle de viabilidade do micro-organismo teste em temperatura ambiente (grupo-controle positivo). São Paulo, 2010.....	60
Quadro 5. Resultados do controle de viabilidade do micro-organismo teste em estufa (grupo-experimental). São Paulo, 2010.....	61
Quadro 6. Resultados das culturas microbiológicas dos carreadores incubados por tipo de embalagem no 30º dia de armazenamento para o grupo-controle. São Paulo, 2010.....	63
Quadro 7. Resultados das culturas microbiológicas dos carreadores incubados por tipo de embalagem no 30º dia de armazenamento para o grupo-experimental. São Paulo, 2010.....	64
Quadro 8. Valores de temperatura (T°) e umidade relativa do ar (UR%) obtidas nos grupos experimental e controle, no período do experimento. São Paulo, 2009.....	65

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Relação entre o número de carreadores e o poder da amostra. São Paulo, 2008.....	40
Gráfico 2. Número de amostras do controle positivo em que foi observado crescimento bacteriano ao longo do tempo para a embalagem algodão tecido. São Paulo, 2010.....	61
Gráfico 3. Número de amostras do controle positivo em que foi observado crescimento bacteriano ao longo do tempo para a embalagem papel crepado. São Paulo, 2010.....	62
Gráfico 4. Número de amostras do controle positivo em que foi observado crescimento bacteriano ao longo do tempo para a embalagem papel grau cirúrgico. São Paulo, 2010.....	62
Gráfico 5. Número de amostras do controle positivo em que foi observado crescimento bacteriano ao longo do tempo para a embalagem SMS. São Paulo, 2010.....	62
Gráfico 6. Número de amostras do controle positivo em que foi observado crescimento bacteriano ao longo do tempo para os cilindros de porcelana. São Paulo, 2010.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAMI	<i>Association for Advancement of Medical Instrumentation</i>
ABNT	Associação Brasileira de Normas e Técnicas
AIA	<i>American Institute of Architects</i>
AORN	<i>Association of Perioperative Registered Nurses</i>
APECIH	Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar
AOAC	<i>Association of Official Analytical Chemists</i>
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
cm ²	centímetro quadrado
CME	Central de Materiais e Esterilização
daN/cm ²	decanewton por centímetro quadrado
EE-USP	Escola de Enfermagem – Universidade de São Paulo
EUA	Estados Unidos da América
HED	Hospital Estadual de Diadema
g/m ²	grama por metro quadrado
mm	milímetro
NBR	Norma Brasileira
PROCEL	Programa Nacional de Conservação de Energia Elétrica
PS	Pronto Socorro
p/v	peso por volume

SAL	<i>Sterility Assurance Level</i>
SMS	<i>Spunbonded / Meltblown / Spunbonded</i>
SOBECC	Sociedade Brasileira de Enfermeiros de Centro Cirúrgico, Recuperação Anestésica e Central de Materiais e Esterilização
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
T°	Temperatura
UFC/mL	Unidades Formadoras de Colônia por mililitro
UR	Umidade Relativa do Ar

SUMÁRIO

1 – INTRODUÇÃO	17
2 – REFERENCIAL TEÓRICO	21
2.1 – O conceito de Temperatura	21
2.2 – O conceito de Umidade relativa do ar	22
2.3 – A definição de Esterilização	23
2.4 – Síntese das recomendações quanto à temperatura e umidade no ambiente de armazenamento de materiais esterilizados	25
2.5 – Síntese de experimentos realizados nos quais foram observados dados de temperatura e umidade	28
3 – OBJETIVO	36
4 – MATERIAIS E MÉTODOS	37
4.1 – Tipo de estudo	37
4.2 – Locais do estudo	37
4.3 – Detalhamento das fases do experimento	38
4.3.1 – Análise estatística e poder da amostra	38
4.3.2 – Caixas com instrumental	41
4.3.3 – Cilindros de porcelana e argolas de fios de seda	41
4.3.4 – Embalagens	43
4.3.5 – Processo de esterilização	45
4.3.6 – Transporte	46
4.3.7 – Contaminação externa intencional	47
4.3.8 – Armazenamento	51
4.3.9 – Incubação dos carreadores	53
4.3.10 – A temperatura desafio utilizada no experimento	56
5 – RESULTADOS	59
5.1 – Controles positivos - Grupo Controle Comparativo	59
5.2 – Controles positivos - Grupo Experimental	60
6 – DISCUSSÃO	66
7 – CONCLUSÃO	71
8 – CONSIDERAÇÕES FINAIS	72
REFERÊNCIAS	73
ANEXOS	78

1 - INTRODUÇÃO

A Central de Materiais e Esterilização (CME) tem como atribuições recepção, descontaminação, limpeza, desinfecção, preparo, esterilização, bem como o armazenamento e a distribuição de materiais utilizados na assistência à saúde (SÃO PAULO, 1995). Garantir a esterilidade de materiais reprocessados é uma das missões da CME.

Para que os materiais possam ser reutilizados, seu reprocessamento deve abranger limpeza criteriosa, inspeção minuciosa, empacotamento apropriado e esterilização. Cumpridas estas etapas, o armazenamento do material é um dos pontos críticos para manutenção da esterilidade.

Existem várias recomendações quanto ao armazenamento do material esterilizado, como restringir o acesso à área, ambiente ventilado, manter distância de 20 cm – 25 cm do piso, 45 cm do teto e 5 cm das paredes, além de temperatura (T°) e umidade relativa do ar (UR) controladas (CARDO; DRAKE, 1996; JAPP, 1997; BRONZATTI, 2003; AAMI, 2006; AIA, 2006; AORN, 2008; SOBECC, 2009; PADOVEZE et al, 2010).

Embora sejam feitas referências à temperatura e UR, não são encontradas justificativas teóricas embasando tais recomendações que, inclusive, apresentam variações nos valores indicados, de acordo com o autor ou a organização consultados.

A RDC 50 regulamenta a obrigatoriedade de ar condicionado na sala de armazenagem e distribuição de materiais e roupas esterilizados (BRASIL, 2002), embora a prática mostre que nem todas as CMEs são capazes de atender tal norma, seja por questões técnicas, estruturais ou financeiras.

Além da ausência em algumas instituições, outra questão envolvendo o uso de ar condicionado diz respeito ao alto consumo energético imprimido ao edifício, Romero (2001) relata que 60% do consumo energético de setores de comércio e serviço são provenientes do sistema de refrigeração do ar e iluminação. O autor citado relata a importância da redução do consumo energético, por ser esta a melhor alternativa para que sejam evitados problemas com abastecimento, em razão da demanda ser maior que a produção.

O próprio governo já demonstrou preocupação com o excessivo consumo energético, criando programas de regulação do consumo, como o Programa Nacional de Conservação de Energia Elétrica -PROCEL- (ROMERO,2001).

As dificuldades de regulação da temperatura são agravadas pelas salas de guarda e armazenamento de material esterilizado que, frequentemente, são contíguas à área de esterilização onde ficam as autoclaves, que eliminam vapor, após a abertura das portas ao término do processo, elevando constantemente tanto a umidade como a temperatura do ambiente.

A própria autora deste projeto trabalha em uma CME sem ar condicionado, na qual os controles de temperatura estão acima da média preconizada (Tabela 1), gerando dúvidas quanto à manutenção da esterilidade do material armazenado.

Como devem proceder as instituições impossibilitadas de seguir tais recomendações a curto prazo? Estariam todos os seus produtos contaminados quando a temperatura ou a UR estiver fora dos padrões indicados?

Bactérias mesófilas, grupo em que estão inseridas as bactérias de interesse hospitalar, têm sua temperatura ótima de crescimento, variando entre 25°C e 40°C, e no intervalo de 15°C a 25°C, muitas sobrevivem e algumas podem se desenvolver, gerando ainda mais dúvida sobre as recomendações da temperatura que varia de 18°C a 25°C (TORTORA et al,1997), intervalo em que ainda há crescimento bacteriano.

Considerando ainda que esterilização seja um processo que elimina os micro-organismos ao ponto em que não serão detectados mais em meio de cultura padrão onde previamente haviam proliferado, com probabilidade de sobrevivência menor que $1:1.000.000 - 10^{-6}$ (NOGAROTTO, PENNA, 2006), e que as embalagens, além de garantir a penetração do agente esterilizante ainda devem manter a esterilidade do artigo (AAMI; 2006), um material esterilizado não deveria ser influenciado pela temperatura e UR do ambiente em condições normais.

Por exemplo, a validação do papel grau cirúrgico, segundo as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT, 2001), inclui testes de envelhecimento acelerado, nos quais o papel deve resistir inalterado, como barreira microbiana à temperatura de até 50°C e a baixas temperaturas em geladeira por 6 meses. Esta exigência comprova a necessidade de que embalagens sejam capazes de manter o conteúdo interno dos pacotes esterilizados, mesmo em condições ambientais adversas.

Gerando ainda mais controvérsias, estudos que avaliaram a esterilidade de artigos armazenados sob diferentes condições, considerando temperatura e UR demonstraram discordância de resultados (STANDARD et al, 1971; STANDARD et al, 1973; KLAPES et al, 1987; WEBSTER et al, 2003; NEVES et al, 2004).

Não seria um critério de baixa relevância manter temperatura e UR de áreas de armazenamento dentro de valores específicos quando não há comprovação científica para tal necessidade?

É importante salientar que este estudo não pretende desqualificar a importância do cuidado dispensado ao material esterilizado armazenado, como procedimentos que visem à redução da carga microbiológica do ambiente de estocagem, incluindo controle de circulação no ambiente, manuseio mínimo e limpeza.

Frente a estas questões, faz-se necessário um estudo que viabilize identificar a possibilidade de contaminação dos produtos esterilizados e armazenados fora das condições recomendadas de temperatura e UR.

Por meio desse experimento, será possível iniciar a identificação da relevância da temperatura e da UR na armazenagem de materiais esterilizados.

Frente ao exposto, este estudo teve como hipótese que alterações de temperatura e umidade na área de armazenamento do material esterilizado não são considerados fatores determinantes à contaminação do material.

2 - REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 - O Conceito de temperatura

Ferreira (2004) descreve temperatura, como o nível de calor existente no ambiente, resultante da ação dos raios solares.

A movimentação das moléculas de um material, denominada agitação térmica, aumenta com o recebimento de calor. Por aumento da intensidade dos movimentos das moléculas, há variação na temperatura para cima e para baixo quando há diminuição na movimentação das moléculas (OKUNO et al,1992).

As moléculas do ar sofrem esse efeito, percebido na temperatura ambiente.

Geralmente, uma das escalas utilizadas para medição da temperatura, a escala Celsius, atribui o valor zero ao ponto de congelamento da água pura e 100 ao ponto de ebulição (KOTZ; TREICHEL, 2008).

Durante o processo de estocagem, os medicamentos podem sofrer degradações físico-químicas e um dos fatores que podem causar estas alterações, é a temperatura. É importante o conhecimento das condições de armazenamento de medicamentos, como temperatura e umidade ambiente, para que não haja perda de materiais (BOTT; OLIVEIRA, 2007).

A importância desse fator no armazenamento de medicamentos e também de alimentos parece estar bem definida, sobretudo porque é possível relacionar os efeitos degradantes ocorridos nesses produtos pelas alterações na temperatura que não estão bem definidas para as propriedades de biobarreira das embalagens.

2.2 – O conceito de umidade relativa do ar

Ferreira (2004) descreve UR como a “razão entre a pressão de vapor de água na atmosfera e a pressão de vapor saturado na mesma temperatura; qualidade ou estado de úmido ou ligeiramente molhado”.

Pode ser expressa pela relação:

$$\text{UR (\%)} = \frac{\text{Pressão parcial do vapor de água}}{\text{Pressão de vapor saturado}} \times 100$$

“A pressão parcial do vapor de água no ar é geralmente mais baixa que a do vapor de água saturado, a determinada temperatura” (OKUNO et al,1992).

Na literatura, são encontrados artigos avaliando a influência da UR em relação, sobretudo, a alimentos. Não foram verificados estudos que busquem solucionar dúvidas relacionadas à influência desse fator na capacidade de biobarreira das embalagens.

Moriya (2005) realizou um experimento para avaliar a manutenção da esterilidade de pacotes autoclavados, nos quais havia umidade interna residual. Por meio da contaminação externa proposital de pacotes com micro-organismos e posterior armazenamento por 30 dias, o conteúdo das caixas foi submetido à análise microbiológica. Os resultados demonstraram não haver contaminação naqueles embalados em SMS, mesmo quando foram constatadas grandes quantidades de água no interior das caixas. Quando as embalagens foram encharcadas com água destilada esterilizada, as embalagens de algodão tecido mantiveram o conteúdo esterilizado por até 6 horas de armazenamento. Observa-se que a autora não recomenda o uso de artigos molhados ou úmidos, a não ser em situações de urgência mas, reafirma o poder de biobarrera das embalagens nestas condições. O presente estudo não pretende avaliar umidade residual de pacotes, mas também acredita que as embalagens são capazes de proteger o conteúdo esterilizado, mesmo sob condições adversas.

2.3 - A definição de esterilização

O processo de esterilização deve causar danos irreversíveis às células, garantindo a ausência de micro-organismos viáveis, definida como nível de esterilidade (*Sterility Assurance Level* - SAL), sendo este representado pelo valor 10^{-6} (BRUCH; BRUCH, 1971).

O micro-organismo que perde a capacidade de se reproduzir é considerado inviável e aquele artigo que estiver “livre de formas demonstráveis de vida”, é considerado esterilizado (PINTO et al, 2003; NOGAROTO; PENNA, 2006).

Atualmente, o antigo conceito de ausência completa de vida microbiana não é considerado correto sob o ponto de vista estatístico. Sabe-se que, em um processo de esterilização, os micro-organismos não são eliminados concomitantemente. Para redução em 10% da carga inicial de micro-organismos (*bioburden*), é necessário um tempo de exposição (valor D_{10}) ao agente esterilizante a determinada temperatura. Mantidos os parâmetros de temperatura, os 90% dos micro-organismos restantes sofrerão redução de mais 10% em sua carga quando expostos ao mesmo tempo D_{10} e, assim, sucessivamente até atingir o nível 10^{-6} . Desse modo, a destruição térmica dos micro-organismos acontece em escala logarítmica (JOSLYN, 1983).

Vapor saturado sob pressão

O vapor saturado é aquele que contém apenas água em estado gasoso, sendo a forma mais efetiva para o processo de esterilização, evitando assim a umidade residual dos materiais, mas mantendo a umidade necessária ao processo (NAKAMURA et al, 2003).

O calor úmido coagula as proteínas, por meio da quebra das cadeias de hidrogênio que seguram as proteínas em sua estrutura dimensional (TORTORA et al, 1997).

2.4 – Síntese das recomendações quanto à temperatura e umidade no ambiente de armazenamento de materiais esterilizados

Na literatura, são encontradas várias recomendações quanto aos controles que devem ser feitos na área de guarda do material esterilizado, tanto por entidades associativas como por autores independentes. Nenhuma destas orientações é embasada em experimentos ou evidências científicas.

A Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar (APECIH) em seu manual de esterilização recomenda que a área de estocagem tenha controle de umidade relativa do ar entre 35%-70%, e temperatura entre 18°C-22°C. Justifica as recomendações na crença de que estas condições são desfavoráveis ao crescimento microbiano e favoráveis às embalagens, embora assuma a ausência de comprovação científica que confirme a recontaminação dos artigos esterilizados quando estas condições não estiverem presentes (PADOVEZE et al, 2010) e embora o intervalo proposto para a UR seja grande demais.

A Sociedade Brasileira de Enfermeiros de Centro Cirúrgico, Recuperação Anestésica e Central de Materiais e Esterilização (SOBECC,2009), em suas práticas recomendadas, instrui armazenar os materiais esterilizados separados dos não esterilizados, em ambiente bem ventilado, com controle de temperatura em torno de 25°C e umidade relativa do ar entre 30% – 60%, não apresentando também justificativa para estas orientações.

A *Association of Perioperative Registered Nurses* - Estados Unidos da América - EUA (AORN, 2008) recomenda que temperatura, umidade e ventilação estejam de acordo com as políticas locais e estabelece para a área de armazenagem fluxo de ar positivo (para fora), mínimo de trocas de ar de quatro por hora, temperatura menor ou igual a 24°C e umidade inferior ou igual a 70%. Não detalha as razões para a escolha desses valores e utiliza como referências o manual da *Association for Advancement of Medical Instrumentation* (AAMI) - EUA.

A AAMI (2006) recomenda que a temperatura do ambiente de estocagem atinja no máximo 24°C, alegando conforto para os funcionários, além de afirmar que bactérias desenvolvem-se em altas temperaturas, sugere que baixas temperaturas podem diminuir o *bioburden*. Recomenda também que a umidade relativa do ar seja controlada entre 30%-60% nas demais áreas da CME, enquanto na área de armazenamento não deva ultrapassar os 70%. Justifica a recomendação afirmando que a umidade alta promove crescimento microbiano. Não são feitas referências a estudos justificando estas afirmações, apenas orienta que as embalagens sejam mantidas por, pelo menos, 2 horas nas condições acima descritas, alegando que a “experiência” mostra que, quando os pacotes estão muito secos, podem causar superaquecimento e controles biológicos positivos, quando autoclavados.

O *American Institute of Architects* - EUA (AIA, 2006) recomenda que, na área de armazenamento de material esterilizado, o ar flua em direção à área adjacente (para fora), mínimo de quatro trocas de ar por hora, UR no valor máximo de 70% e não especifica a temperatura almejada.

Segundo Cardo e Drake (1996), a temperatura de toda a área de trabalho, incluindo a de guarda de material esterilizado, deve ser mantida entre 18°C e 22° C e a umidade relativa do ar entre 35% e 70%, sem citar o embasamento teórico que justifica a recomendação.

Japp (1997) sugere que as áreas de armazenagem do material esterilizado sejam bem ventiladas, com proteção contra pó, umidade e insetos, bem como temperatura e umidade extremas, recomendando valores entre 18°C – 22° C e UR entre 35% – 50%. Alega que a manutenção de condições ótimas minimiza o potencial de contaminação dos artigos esterilizados, bem como a umidade estabelecida previne danos prematuros aos materiais e selagem das embalagens, embora não relacione as afirmações a estudos científicos comprobatórios.

Quadro 1. Comparação das recomendações de temperatura (T°C) e umidade relativa (UR%) no local de armazenamento dos materiais esterilizados por diferentes autores. São Paulo, 2010.

AUTOR/ANO	T°C	UR%
APECIH, 2010	18-22	35-70
SOBECC, 2009	25	30-60
AORN,2008	24	≤ 70
AIA, 2006	_____	MÁX 70
AAMI, 2006	MÁX 24	30-60
CARDO & DRAKE, 1996	18-22	30-70
JAPP, 1997	18-22	35-50

2.5 – Síntese de experimentos publicados, nos quais foram observados dados quanto ao controle de temperatura e umidade na área de armazenamento de material esterilizado

Experimentos foram realizados, em especial, para avaliar as condições de armazenamento de materiais esterilizados. A seguir, os artigos citados não tinham como objetivo avaliar o potencial contaminante da temperatura e da UR, mas demonstraram contaminação em experimentos onde estes parâmetros foram controlados dentro do preconizado na literatura e não contaminação quando não foram controlados. No mínimo, tais incongruências geram dúvidas quanto à definição da importância desses controles, mesmo que sejam consideradas as falhas encontradas nas metodologias utilizadas.

Em 1971, Standard et al realizaram um experimento com a finalidade de determinar por quanto tempo materiais permaneceriam esterilizados quando embalados em uma camada de campo duplo de algodão, duas camadas de campo duplo de algodão e em papel crepado. Foram esterilizados pacotes contendo um conjunto de gazes em seu interior, separados em diferentes grupos por diferenças de armazenamento e clima do ano, quente ou frio e armazenados em dois hospitais diferentes, em prateleiras abertas e fechadas. Todo transporte dos testes foi realizado dentro de sacos esterilizados a fim de controlar a possível contaminação nessa fase. Também foram abertos pacotes, logo após o transporte, considerados controle da não contaminação no trajeto. Temperatura e UR foram controladas em ambas as áreas de armazenamento. Os pacotes testes foram abertos em capela de fluxo laminar e analisados microbiologicamente nos dias 1,2,3,4 e 6 e após, semanalmente. A incubação para micro-organismos aeróbios e anaeróbios foi realizada por 21 dias. A contaminação ambiental da área de guarda dos materiais também foi avaliada, por meio de placas para cultura dispostas sobre as prateleiras. No 3º dia, observou-se a contaminação de pacotes embalados em uma camada de campo de algodão duplo, e para as outras embalagens nos dias 14, 21, 28 e 56. A contaminação foi mais rápida nas embalagens armazenadas em prateleiras abertas e nos meses quentes, embora algumas embalagens não tenham seguido o padrão de contaminação mais rápido nesses meses. Os organismos mais observados foram *Staphylococcus epidermidis*, *Aspergillus* spp e *Micrococcus* spp. Foram realizados pacotes com várias camadas de gazes para medir a profundidade da penetração dos micro-organismos, um dos pacotes teve até a quinta camada contaminada. Também foram feitos 195 pacotes controle, em dois deles foi observada contaminação. Outros oito pacotes receberam cobertura plástica, nos quais não foi observada contaminação por, pelo menos, 9 meses. Tanto temperatura como UR não variaram significativamente para meses quentes e frios, e apenas levemente entre os hospitais. A temperatura ficou em média em 25°C, e a UR variou entre 35% e 48%. O autor

conclui que não foram observadas evidências que relacionem diretamente as contaminações com alterações atmosféricas, prateleiras abertas trazem mais risco para contaminação dos artigos e contraindicam o uso da embalagem em apenas um campo duplo.

Stadard et al (1973) realizaram outro experimento como complemento do anterior para comparar as embalagens de duas camadas de campo de algodão duplo com uma embalagem de algodão duplo coberta por um campo duplo de papel crepado e com uma de campo duplo coberta por BAR-BAC (um tipo de cobertura de única camada). Neste experimento, 252 pacotes foram esterilizados e armazenados em prateleiras abertas, com controle de temperatura, entre 21,1° C – 26,7° C e UR 30% - 55%. Também foram preparados 108 pacotes controle para o transporte e para a esterilização, bem como foram colhidas amostras para controle do ambiente, por meio de placas para cultura dispersas nas prateleiras da área de armazenamento. Neste estudo, foi observada contaminação no 28º dia para a embalagem de algodão tecido duplo, no 63º nos pacotes envoltos em BAR-BAC e no 77º dia na combinação algodão-crepado, totalizando 40 amostras contaminadas. Dos pacotes controle, um estava contaminado. Os micro-organismos mais observados foram *Aspergillus* spp, *Streptomyces* spp e bacilos Gram positivos esporulados. Os autores consideram a possibilidade de comparação entre esse estudo e o anterior, reafirmando aquelas conclusões.

Klapes et al (1987) observaram lacunas na literatura com respeito ao armazenamento de materiais esterilizados, assim, investigaram diferentes embalagens e distintos locais de armazenamento. Utilizaram como amostra 263 pacotes, contendo compressas cirúrgicas e aventais cirúrgicos. Destes, 192 tiveram acrescentados aos pacotes tiras em aço inox, simulando instrumental cirúrgico. Da amostra total, 72 foram embalados em tecidos novos de algodão; 48 em tecidos em uso e selecionados aleatoriamente; 72 em não tecidos descartáveis; 71 em polipropileno. Metade de cada uma das embalagens também recebeu uma cobertura plástica. Os pacotes foram esterilizados e alocados de maneira randomizada na CME e no Pronto-Socorro (PS), em prateleiras abertas ou fechadas. No intervalo de 1 ano, mensalmente, uma amostra era randomicamente recolhida, aberta em capela de fluxo laminar com técnica asséptica e incubada por 7 dias. Foram realizados dois tipos de pacote controle, um não esterilizado (controle positivo) e um outro aberto logo após a esterilização (controle negativo). Ar ambiente e superfícies também foram analisados. A probabilidade de encontrar um pacote contaminado foi de 0,018 e as diferenças de probabilidade entre as embalagens e tempo não foram significativas, bem como não houve diferença para os pacotes com cobertura plástica. A diferença entre a probabilidade de contaminação na CME (0,019) e no PS (0,015) também não foi considerada significativa, apesar das amostras ambientais do PS terem apresentado maior contaminação. Das 358 amostras, seis estavam contaminadas, que foram consideradas pelas autoras como contaminação acidental. Concluiu-se que o tempo de prateleira de um material esterilizado é mais evento relacionado do que tempo relacionado. As autoras não explicitam dados da temperatura e UR dos ambientes onde os pacotes foram armazenados, mas supõe-se que os diferentes locais tiveram o intuito de comparar condições ideais, CME, e condições pouco controladas, PS.

Webster et al (2003) realizaram um experimento, visando a substituir o prazo de validade de materiais esterilizados pelo controle “evento-relacionado”. Foram preparados 152 pacotes, contendo hastes de cobre, toalhas e bolas de algodão. Estes pacotes foram embalados em dois tipos de não tecido e em papel crepado, distribuídos em cinco áreas do hospital (duas salas operatórias, unidade de cuidado intensivo neonatal e duas divisões pós-natal) e armazenados em prateleiras abertas ou fechadas, com e sem controle de temperatura do ar. Por um período de 2 anos, a cada mês, as amostras eram recolhidas e transferidas para o meio de cultura, onde foram incubadas por 14 dias. Houve perda de 21 itens, mas nove itens que haviam retornado à CME por terem sofrido “eventos”, foram incluídos na amostra, bem como três pacotes encontrados em um carro da comunidade com data de esterilização de 9 anos. Não foi verificada contaminação em nenhuma das amostras analisadas. As autoras concluem ser viável a implementação do sistema de controle da esterilização por evento. Como no artigo anterior, as condições adversas das unidades foram comparadas às condições “ideais” de armazenamento da CME.

No Brasil, Neves et al (2004) realizaram um experimento com o intuito de validar o prazo da esterilização de dois hospitais. Bandejas foram preparadas, contendo instrumental cirúrgico de aço inox, embaladas em campo de algodão, esterilizadas e armazenadas nas CMEs de dois hospitais, sem controle de manipulação, temperatura ou UR, em prateleiras abertas ou fechadas, por 0, 7, 15, 20 e 25 dias. A amostra constituiu-se de 45 instrumentais que, após transferência, em capela de fluxo laminar, para meio de cultura, foram incubados por 72 horas. Houve crescimento de micro-organismos em apenas um instrumental, fato considerado pelas autoras como contaminação acidental. As autoras finalizam recomendando estudos que avaliem a interferência da UR e da temperatura no armazenamento para aprazamento de materiais esterilizados.

Mayworm (1984) relata que, em 1977, foram encontrados artigos embalados em jornais datados de 1943, no porão de um hospital e quando estes artigos sofreram análise laboratorial ainda estavam esterilizados.

A seguir, os experimentos analisados são sintetizados em um quadro para facilitar sua visualização.

Quadro 2. Síntese dos experimentos publicados que envolveram o estudo de temperatura e umidade ambientes no local de armazenamento de materiais esterilizados. São Paulo, 2010.

Título	Autor	Periódico	Ano	Embalagem	Metodologia	Resultado
Microbial penetration of muslin and paper-wrapped sterile packs stored on open shelves and in closed cabinets	Standard	Applied Microbiology	1971	Algodão e papel crepado	armazenamento em dois hospitais diferentes; prateleiras abertas e fechadas. Análise microbiológica diária até o 6º dia e após, semanalmente	não foram observadas evidências que relacionem contaminação com alterações atmosféricas
Microbial penetration through three types of double wrappers for sterile packs	Standard	Applied Microbiology	1973	Algodão, papel crepado e cobertura	armazenamento em prateleiras abertas e fechadas por até 77 dias	as conclusões do experimento anterior foram confirmadas
Sterile shelf life and expiration dating	Mayworm	Journal of hospital supply	1984	Jornal	materiais encontrados abandonados, provavelmente por 34 anos, e analisados microbiologicamente	não foi observada nenhuma contaminação nos materiais encontrados
Effect of long-term storage on sterile status of devices in surgical packs	Klapes	Infection Control	1987	Campos de algodão novos, campos de algodão em uso, SMS, polipropileno e cobertura	armazenamento em CME e PS em prateleiras abertas e fechadas pelo período de 1 ano. Mensalmente, uma amostra era recolhida e analisada	as contaminações encontradas foram consideradas acidentais, e o tempo de prateleira mais relacionado aos eventos ocorridos aos materiais
Rethinking Sterilization practices: evidence for event-related outdating	Webster	Infection Control an Hospital Epidemiology	2003	SMS e papel crepado	armazenamento em cinco diferentes áreas de um hospital, em prateleiras abertas e fechadas pelo período de 2 anos. Mensalmente amostras eram analisadas	não foi encontrada contaminação em nenhuma das amostras
Artigos esterilizados em calor úmido: validação do sistema de guarda	Neves	Revista Brasileira de enfermagem	2004	Algodão	armazenamento em dois CMEs de hospitais diferentes em prateleiras abertas e fechadas por um período de até 25 dias	as autoras recomendam estudos que avaliem a importância da T e UR no armazenamento

Isto posto, considerando que o controle de umidade relativa do ar e temperatura do ambiente de armazenamento de material esterilizado na CME gera polêmicas e infrações sanitárias quando não cumprido, justifica-se a relevância da realização da presente investigação.

3 - OBJETIVO

Avaliar e analisar os efeitos da alta umidade e da alta temperatura ambientais na contaminação do conteúdo de caixas cirúrgicas acondicionadas em diferentes embalagens (papel grau cirúrgico, algodão tecido, SMS e papel crepado) esterilizadas em autoclave e armazenadas.

4 – MATERIAL E MÉTODO

4.1 – Tipo de estudo

Foi realizado um estudo experimental laboratorial.

4.2 – Locais do estudo

A limpeza, preparo, embalagem e autoclavação das caixas cirúrgicas foram realizados no Hospital Estadual de Diadema (HED) – hospital público, geral, com 228 leitos da cidade de Diadema (SP).

A contaminação externa, armazenamento e os testes microbiológicos foram realizados no Laboratório de Ensaios Microbiológicos do Departamento de Enfermagem Médico-Cirúrgica da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo (EE-USP).

4.3 – Detalhamento das fases do experimento

Um estudo experimental foi realizado com caixas contendo instrumental cirúrgico e carreadores de porcelana (conjunto de cilindros de porcelana e fio de seda) propícios para a aderência bacteriana e passíveis de semeadura direta em meios de cultura, as caixas foram embaladas em campo de algodão tecido, papel crepado, SMS e papel grau cirúrgico, depois autoclavadas, contaminadas externa e intencionalmente com *Serratia marcescens* 10⁶ UFC/ml e armazenadas em estufa com temperatura em torno de 35°C e UR em torno de 75% (grupo-experimental). Este grupo foi comparado com um grupo-controle armazenado em temperatura em torno de 20°C e UR em torno de 70%. Após o período de 1 mês de armazenamento, os carreadores foram retirados do interior das caixas e incubados para verificação do crescimento bacteriano.

4.3.1- Análise estatística e poder da amostra

Com a ajuda de um profissional estatístico¹, determinou-se o tamanho amostral de 30 carreadores para cada embalagem de cada um dos grupos - controle comparativo e experimental, sendo cada carreador composto de quatro cilindros de porcelana e uma argola de fio de seda. Foram necessários 960 cilindros de porcelana e 240 argolas de fio de seda. Para cada embalagem, foi estabelecido um número de uma caixa cirúrgica, totalizando 8 caixas e resultando um tamanho amostral total de 240 carreadores.

¹ Dra Eutália Aparecida Candido de Araújo

Figura 1. Esquema demonstrando a distribuição dos carreadores para cada grupo e cada embalagem. São Paulo, 2010.

O tamanho da amostra assim calculada teve poder de 99,9%, sendo α de 5%.

Gráfico 1. Relação entre o número de carreadores e o poder da amostra. São Paulo, 2008.

Para esta pesquisa, foram consideradas as variáveis:

Independentes: embalagens, temperatura e umidade.

Dependentes: os resultados das culturas microbiológicas.

4.3.2 – Caixas com instrumentais cirúrgicos

As caixas em aço inox medindo, aproximadamente 18x8x3 cm e 30x15x8 cm, contendo instrumental de aço inox, ocupando 80% da capacidade de cada estojo, foram submetidas a processo de limpeza mecânica em lavadoras termodesinfectoras.

Estas lavadoras possuem em seu programa um enxágue inicial com água fria, seguido de lavagem com detergente enzimático, enxágue com água morna e desinfecção (5 minutos a 85° C); na etapa final é feito o enxágue com o lubrificante próprio para instrumentais Premix® (BAUMER, 1999).

Após a lavagem, o instrumental foi inspecionado quanto à limpeza e disposto nos estojos/caixas, sobre o campo absorvente. Em todas as caixas, foram colocados integradores químicos classe 5.

4.3.3 – Cilindros de porcelana e argolas de fios de sutura de seda

A *Association of Official Analytical Chemists* - EUA - (AOAC,2003) recomenda cilindros de porcelana, como carreadores para testes *in vitro*. Devem possuir medidas, aproximadas, de 10 mm de altura, 8 mm de diâmetro externo e 6 mm de diâmetro interno. Além de serem porosos, facilitando adesão de micro-organismos, são de tamanho pequeno, facilitando a manipulação e possibilitando a semeadura direta do carreador no meio de cultura.

Os cilindros foram lavados em detergente enzimático. Após fricção, foram abundantemente enxaguados com água de torneira, sendo o último enxágue com água destilada e secos em estufa a 70°C.

A mesma Associação também propõe argolas de fios de sutura de seda tamanho 3 como carreadores, medindo 65 mm cada pedaço de fio, este recebe um nó nas extremidades, formando uma argola.

Antes do fechamento da argola, os cilindros de porcelana foram introduzidos nos fios, formando um conjunto de carreadores, composto por quatro cilindros e um fio de sutura de seda, totalizando o equivalente a cinco carreadores.

Figura 2. Fios de seda e cilindros de porcelana formando uma argola, representando os carreadores. São Paulo, 2009.

4.3.4 – Embalagens

As embalagens selecionadas refletem as mais utilizadas na prática hospitalar.

Papel grau cirúrgico

Neste estudo, as embalagens de papel grau cirúrgico utilizadas seguiram as características descritas na NBR 14.990-1 a 11 (ABNT, 2005):

- poros de 0,22 microm de diâmetro e porosidade de 15 segundos por 10 cm³ de ar, no mínimo
- gramatura de 60 a 80 g/m²
- resistência à tração e perfuração
- pH entre 6 e 7
- quantidade máxima de amido de 1,5%
- capacidade de absorção de água nas duas faces de no máximo 30g/m³
- umidade máxima de 7%
- porcentagem de cloreto inferior a 0,05%

Campo de algodão tecido

Neste estudo, as embalagens de campos duplos de algodão tecido utilizadas seguiram as definições estabelecidas na NBR 14.028 (ABNT, 1997):

- tecidos 100% de algodão
- padrão sarja 2/1
- gramatura de 210 g/m²
- 5% de urdume de 40 fios por polegada quadrada no sentido longitudinal
- trama de 17 fios por polegada quadrada no sentido transversal
- textura de, quase, 40 a 56 fios por cm²
- solidez (desbotamento) de 3 a 4 à lavagem e ao hipoclorito
- 4% de encolhimento
- 12,5 daN/cm² de resistência à tração no urdume
- 5,5 daN/cm² de resistência na trama
- espessura de 0,40 mm $\pm$ 0,05

Spunbonded / Meltblown / Spunbonded (SMS)

As embalagens de não tecido (SMS) utilizadas seguiram o preconizado na NBR 13.370 (2002).

Esta embalagem é uma estrutura constituída de fibras ou filamentos consolidados por fricção, adesão, coesão ou combinações desses métodos. Devem ser características da embalagem ser barreira microbiana entre 99%-100%, alta permeabilidade a agentes esterilizantes e alta resistência mecânica (ABNT, 2002).

Papel Crepado

Estas embalagens possuem superfície encrespada que confere flexibilidade, devem ser compostas de celulose tratada, com poder de filtração microbiana de cerca 99%, flexíveis, hidrorrepelentes e biodegradáveis (PEREIRA, 2010).

4.3.5 - Processo de esterilização

O calor úmido (autoclaves) é considerado o melhor, mais antigo e mais reconhecido método para esterilização para materiais termorresistentes, (TORTORA et al,1997; NOGAROTO; PENNA, 2006; RUTALA et al, 2008) sendo por isso escolhido para este experimento.

As caixas cirúrgicas foram submetidas à esterilização em autoclave de vapor saturado sob pressão, com controle microbiológico do processo por meio de testes biológicos comerciais, bem como controle químico com teste Bowie-Dick e integradores classe 5 (ANEXO A e B).

A autoclave utilizada possui ciclo de esterilização de 5 minutos a 134°C, e anualmente, é realizada qualificação térmica por empresa terceirizada, por meio de instalação de termopares no interior da câmara vazia e com carga em três ciclos distintos, conforme recomendação (ABNT, 2010).

4.3.6 – Transporte

Após esterilização e esfriamento dos pacotes, estes foram acondicionados, por meio de manipulação com luvas esterilizadas em sacos plásticos esterilizados. Os sacos foram armazenados em caixas plásticas, previamente desinfetadas com álcool a 70% p/v, com controle de temperatura em torno de 22° C e UR em torno de 65% por meio de termohigrômetro e transportadas no mesmo dia para o laboratório da EE-USP, seguindo as recomendações para transporte de artigos esterilizados por empresas terceirizadas (BRASIL, 1999).

4.3.7 – Contaminação externa intencional

A *Serratia marcescens* é um micro-organismo oportunista, Gram negativo, inicialmente considerado não patogênico e utilizado para estudar formas de transmissão entre bactérias. Apenas na década de 60, foi descoberto como causador de doenças nosocomiais. Causa infecções do trato urinário e respiratório, bem como celulites, queratites, endocardites, osteomielites e peritonites, coloniza cateteres, sondas e soluções salinas. Resistente a inúmeras drogas, é um micro-organismo de difícil tratamento (EISENSTEIN, 1990; ALCAMO, 1996; FERNANDES, 2000).

Além de sua importância como agente infeccioso hospitalar, o pigmento vermelho característico da *Serratia marcescens* ainda faz deste um micro-organismo de escolha para experimentos, pela facilidade de identificação, sem necessitar de provas bioquímicas.

A escolha deste micro-organismo também visa à biossegurança da pesquisadora, uma vez que a patogenicidade está relacionada à imunodeficiência, além de ser um dos micro-organismos recomendados para avaliar a eficácia de antissépticos pelo *Food and Drug Administration* - EUA (FDA, 1994), foi utilizado com segurança em um experimento no qual as mãos não enluvadas dos participantes entraram em contato direto com uma suspensão desse micro-organismo, em uma concentração de 10^8 UFC/mL (KAWAGOE, 2004).

No laboratório da EE-USP, as caixas embaladas e esterilizadas foram contaminadas externa e intencionalmente.

O caldo com inóculo de *Serratia marcescens* ATCC 14756 na concentração de 10^6 UFC/mL foi despejado dentro de uma bacia previamente esterilizada, e a pesquisadora paramentada com máscara, gorro, avental esterilizado e luvas esterilizadas imergiu as mãos no caldo, aguardou a secagem por 1 minuto, fazendo movimentos leves e horizontais.

Figura 3. Contaminação das mãos enluvadas no caldo de *Serratia marcescens*. São Paulo, 2009.

Figura 4. Secagem das mãos enluvadas contaminadas por meio de movimentos horizontais. São Paulo, 2009.

Uma auxiliar, paramentada com luva esterilizada, escolheu aleatoriamente uma caixa e entregou à pesquisadora que a manipulou externamente nas regiões superior, inferior e laterais, por 1 minuto. O procedimento foi repetido nas oito caixas e para cada caixa foi realizada a troca das luvas da pesquisadora e feita nova imersão no caldo.

Figura 5. Contaminação por compressão das mãos enluvadas contaminadas na caixa embalada em papel grau cirúrgico. São Paulo, 2009.

Figura 6. Contaminação por compressão das mãos enluvadas contaminadas na caixa embalada em SMS. São Paulo, 2009.

Figura 7. Contaminação por compressão das mãos enluvadas contaminadas na caixa embalada em algodão. São Paulo, 2009.

Figura 8. Contaminação por compressão das mãos enluvadas contaminadas na caixa embalada em papel crepado. São Paulo, 2009.

4.3.8 – Temperatura desafio utilizada no experimento

Optou-se por 35°C como temperatura desafio para o experimento, uma vez que tal valor encontra-se acima da média observada na prática (Quadro 3), mas está abaixo de 40°C, valor considerado limite ótimo para crescimento de bactérias mesófilas (TORTORA et al,1997), o que não inviabilizaria o crescimento do micro-organismo escolhido para o experimento.

Os dados do Quadro 3 demonstram os valores de temperatura obtidos na sala de guarda de materiais esterilizados de uma CME sem climatização. Estes dados serviram como parâmetro para escolha da temperatura desafio para o grupo-experimental.

Quadro 3. Valores de temperaturas observadas na área de armazenamento de material esterilizado de uma CME, nos meses de janeiro, julho e outubro em 2008, nos períodos da manhã, tarde e noite. São Paulo, 2008.

	janeiro			julho			outubro		
dia	m	t	n	m	t	n	m	t	n
1	30	32,1	28,1	22,7	-	26,6	26,1	-	27
2	28	30,2	27,4	27	28	27	24	25,3	25,2
3	30	29,7	-	27	28	27	27,7	27,3	27,4
4	30	-	30,5	-	27	25,5	26,8	28,2	28,2
5	30	-	-	-	-	27	24,3	28	28,2
6	30	29,5	30,5	24,1	-	25,6	27,8	28,2	28,2
7	30	26,7	-	25,2	-	26,7	27,8	23,4	26,2
8	29,7	-	28,5	28	26,7	26,6	24,1	24,6	24,6
9	27	27,5	28,5	26	26,8	26,6	23,7	24,6	26,4
10	28,7	-	30	26,8	26,7	26,8	24	25,9	26,4
11	29,2	-	-	26,8	26,8	25,4	25	25,9	-
12	30	-	-	-	26,8	-	-	25,9	25,9
13	31	-	28,5	25,6	28,6	24,6	26	28,5	26,9
14	28	-	-	25,9	26,8	26,4	27,9	30	29
15	28,7	-	28,2	25,9	26	-	28	30,4	30
16	27,6	28,9	29	25,5	25,8	26,7	27,1	29,2	30,4
17	26,3	-	28,9	25,4	26,7	24,3	27,4	26,7	29,2
18	26,5	-	-	24,6	27,1	27,3	25,5	-	26,7
19	29	-	29,1	25	27,8	-	-	26,7	-
20	26,5	-	28,6	27,2	27,4	27,5	24,1	27,1	26,2
21	27	27,3	27,1	25	26,9	25	24,7	28,1	27,1
22	26,7	26,9	27,3	26	27,4	27,8	26,6	29,8	26,2
23	27	26,5	27,2	28	26,5	27,7	28,2	29,8	-
24	27,2	29	28	26,8	26,8	-	29,3	29,8	28,2
25	27,3	26,8	27	26,3	28,1	27,8	29,6	-	29,8
26	27	27,2	27,6	27,3	-	26	28,7	29,4	28
27	26	27,3	26,6	25	-	26,2	29,7	30	30,2
28	25,6	26,9	27,2	26	26,3	26,7	30	-	-
29	27	26,8	26,8	26,7	25	25,4	30	30	-
30	27	26,6	26,6	27	-	-	-	30	30
31	27	27,6	27,1	27	-	-	27,7	-	27
μ	28,0	27,9	28	26	26,9	26,4	26,9	27,8	27,6

Legenda: m - manhã, t - tarde, n - noite, μ - média.

4.3.9 – Armazenamento

Após a contaminação externa intencional, as amostras foram divididas aleatoriamente em dois grupos e armazenadas por 30 dias em estufa controlada por termômetro digital próxima a 35°C e umidade relativa do ar controlada por higrômetro em torno de 75%. Esta UR foi alcançada por meio de quatro recipientes de boca larga (cubas rim) repletos de água esterilizada, considerado como grupo-experimental, identificado com etiquetas de cor verde.

Figura 9. Armazenamento das caixas embaladas e contaminadas em estufa (grupo-experimental). São Paulo, 2009.

A outra metade foi armazenada nas condições recomendadas pela literatura, que são temperatura em torno de 20° C e umidade relativa do ar em no máximo 70%. Foram dispostos pacotes de gel sílica próximos às caixas. Este constituiu o grupo-controle comparativo, identificado com etiquetas de cor azul, que foi criado para possibilitar a comparação entre a sobrevivência dos micro-organismos em um ambiente com as condições recomendadas em literatura e o grupo-experimental, com condições desafiantes de armazenamento.

Figura 10. Armazenamento das caixas embaladas e contaminadas em ambiente (grupo-controle). São Paulo, 2009.

Como controle positivo, a fim de constatar a viabilidade do micro-organismo teste até o final do prazo estabelecido para o experimento, 60 amostras de cada uma das quatro embalagens e também carreadores foram previamente esterilizados e, então, contaminados no caldo de *Serratia marcescens* e armazenadas junto ao grupo-experimental e quatro amostras de cada uma das embalagens e carreadores foram armazenados junto ao grupo-controle.

Figura 11. Contaminação das amostras de embalagens para controle positivo. São Paulo, 2009.

Figura 12. Placas contendo as amostras de embalagens contaminadas. São Paulo, 2009.

4.3.10 – Incubação dos carreadores

Após o período de armazenamento de 30 dias, a inoculação direta dos conjuntos de carreadores foi realizada nos tubos de ensaio, contendo *Tryptic Soy Broth* (TSB) como meio de cultura (PROBAC®).

A transferência dos cilindros foi feita de maneira asséptica, em capela de fluxo laminar, previamente desinfetada com álcool a 70% p/v.

A pesquisadora, paramentada com gorro, máscara, avental esterilizado e luvas esterilizadas recebia da auxiliar, paramentada com gorro, máscara, avental esterilizado e luvas esterilizadas a caixa. Esta era aberta dentro da capela, e os carreadores eram retirados um a um e, então, despejados dentro dos tubos de ensaio que eram segurados pela auxiliar que, após a transferência, tampava o tubo e identificava-os para diferenciação das embalagens e grupos.

Nesse momento, também eram retirados os integradores classe 5 de dentro das caixas e confirmado o bom desempenho da autoclave. (ANEXO B)

Figura 13. Carreadores incubados em caldo TSB. São Paulo, 2009.

Figura 14. Carreadores retirados do interior das caixas do grupo controle incubados em caldo TSB. São Paulo, 2009.

Figura 15. Carreadores retirados do interior das caixas do grupo experimental incubados em caldo TSB. São Paulo, 2009.

Os tubos foram incubados por 72 horas, aproximadamente, a 22°C.

5 – RESULTADOS

5.1 – Controles Positivos - Grupo-controle

Semanalmente, as amostras de embalagens eram inoculadas em meio TSB (PROBAC®) certificado (ANEXO C) e mantidas em temperatura ambiente por 72 horas sendo verificada a turbidez do meio como confirmação do crescimento microbiano. Após 72 horas, as amostras eram semeadas em meio *Tryptic Soy Agar* (TSA) - PROBAC® - onde era confirmada a presença de *Serratia marcescens* por meio da coloração avermelhada da amostra.

Figura 16. Placas de Petri com crescimento característico de *Serratia marcescens*. São Paulo, 2009.

Quadro 4. Resultados do controle de viabilidade do micro-organismo teste em temperatura ambiente (grupo-controle positivo). São Paulo, 2010.

amostra	resultado
algodão	4/4*
papel crepado	4/4
papel grau cirurgico	4/4
SMS	4/4
cilindro	4/4

* numerador: crescimento positivo
denominador: total de amostras

Em condições “controladas”, não houve redução da viabilidade dos micro-organismos nos controles positivos durante os 30 dias de armazenamento, e todas as amostras apresentaram crescimento satisfatório.

5.2 – Controles Positivos - Grupo-experimental

Periodicamente, as amostras de embalagens foram inoculadas em meio TSB (PROBAC®) e mantidas em temperatura ambiente por 72 horas, sendo verificada a turbidez do meio, como confirmação da presença do micro-organismo. Após 72 horas, as amostras eram semeadas em meio TSA (PROBAC®) onde era confirmada a presença de *Serratia marcescens* por meio da coloração avermelhada da amostra.

Quadro 5. Resultados do controle de viabilidade do micro-organismo teste em estufa (grupo-experimental). São Paulo, 2010.

amostra	resultado
algodão	60/60*
papel crepado	27/60
papel grau cirurgico	47/60
SMS	34/60
cilindro	30/60

* numerador: crescimento positivo
denominador: total de amostras

Excetuando-se a embalagem de algodão, todas as amostras utilizadas como controle positivo apresentaram declínio no número de micro-organismos viáveis com o passar do tempo, o que não descaracterizou a ameaça, na qual as embalagens estiveram submetidas até o final do período estipulado para o experimento.

Gráfico 2. Número de amostras do controle positivo em que foi observado crescimento bacteriano, ao longo do tempo para a embalagem algodão. São Paulo, 2010.

Gráfico 3. Número de amostras do controle positivo em que foi observado crescimento bacteriano, ao longo do tempo para a embalagem de papel crepado. São Paulo, 2010.

Gráfico 4. Número de amostras do controle positivo em que foi observado crescimento bacteriano, ao longo do tempo para a embalagem de papel grau cirúrgico. São Paulo, 2010.

Gráfico 5. Número de amostras do controle positivo em que foi observado crescimento bacteriano, ao longo do tempo para a embalagem SMS. São Paulo, 2010.

Gráfico 6. Número de amostras do controle positivo em que foi observado crescimento bacteriano, ao longo do tempo para os cilindros de porcelana. São Paulo, 2010.

Quadro 6. Resultados das culturas microbiológicas dos carreadores incubados por tipo de embalagem no 30º dia de armazenamento para o grupo-controle. São Paulo, 2010.

embalagem	resultado
algodão	-/30*
papel crepado	-/30
papel grau cirúrgico	-/30
SMS	-/30

* numerador: crescimento positivo
denominador: total de amostras

Quadro 7. Resultados das culturas microbiológicas dos carreadores incubados por tipo de embalagem no 30º dia de armazenamento para o grupo-experimental. São Paulo, 2010.

embalagem	resultado
algodão	-/30*
papel crepado	-/30
papel grau cirúrgico	-/30
SMS	-/30

* numerador: crescimento positivo
denominador: total de amostras

Tanto nas amostras do grupo-controle como do grupo-experimental não foi observada contaminação em nenhum dos carreadores armazenados no interior das caixas, inclusive, naquelas embalados em algodão tecido, que não apresentaram declínio no número de micro-organismos viáveis.

A seguir, os dados do Quadro 8 apresentam as temperaturas e UR dos grupos-controle e experimental. Para o grupo-experimental, a temperatura média foi de 32,8°C, o desvio-padrão 2,83, e as temperaturas máxima 34,9°C e mínima 24,8°C. A umidade relativa do ar média controlada por higrômetro foi de 75,8%, o desvio-padrão de 1,44 e a umidade máxima, 78% e a mínima 71%.

Para o grupo-controle, a temperatura média foi 21,6°C, o desvio-padrão 0,57 e as temperaturas máxima, 22,7°C e mínima, 20,8°C. A umidade relativa do ar média foi 68,4%, o desvio-padrão, 4,82 e a UR máxima, 70% e a mínima 61%.

Quadro 8. Valores de temperatura (T°) e umidade relativa do ar (UR%) obtidos nos grupos-experimental e controle, no período do experimento. São Paulo, 2010.

Experimental			Controle	
T°	UR%	dia	T°	UR%
24,8	71	1	21,7	61
28,6	77	2	21,7	57
28,2	76	3	21,6	58
28,2	75	4	20,9	59
28,6	74	5	21,1	70
28,6	75	6	21	61
28,6	74	7	21	61
33	78	8	21,2	61
33,2	75	9	22	66
33	77	10	22,3	64
33,2	77	11	22,2	69
34	76	12	21,5	61
34,1	78	13	21	59
34,1	76	14	20,9	59
34,2	76	15	21	65
34,2	76	16	20,9	64
34,2	77	17	20,8	69
34,6	76	18	21,3	64
34,6	76	19	21,3	61
34,6	76	20	21,3	63
34,6	75	21	21,3	66
34,4	74	22	21,3	66
34,8	75	23	21,4	64
34,8	75	24	21,8	65
34,6	76	25	21,9	65
34,8	76	26	22,2	61
34,9	75	27	22,3	62
34,8	76	28	22,6	64
34,6	77	29	22,7	70
34,6	77	30	22,4	70

6 – DISCUSSÃO

Conforme esperado, segundo a hipótese desta pesquisa, os resultados demonstraram a capacidade das embalagens de proteger o conteúdo esterilizado, mesmo frente a uma carga desafiadora inoculada sobre a embalagem e em condições ambientais de temperatura e UR fora das recomendações.

Os resultados negativos para crescimento microbiológico dos produtos “armazenados” em um carro por 9 anos e incluídos no experimento de Webster et al (2003) prenunciavam a possibilidade dos resultados encontrados no presente experimento, uma vez que aquele experimento ocorreu em um país com clima subtropical onde “temperaturas e níveis de umidade podem ser extremos em certas épocas do ano”.

Os experimentos de Standard et al (1971,1973) utilizaram campo de algodão como embalagem e observaram contaminação nos 3º (1971) e 28º (1973) dias. Os resultados do presente estudo foram na direção oposta, constatando que a embalagem de algodão foi capaz de manter a esterilidade do conteúdo por 30 dias, mesmo sob condições ambientais desafiantes e inóculo presente diretamente na embalagem.

Ressalta-se aqui que a embalagem de algodão possivelmente manteve o maior número de carga microbiana entre os controles positivos, possibilitando inferir que mesmo sendo esta embalagem capaz de manter em sua trama uma elevada carga de micro-organismos, também foi capaz de proteger o conteúdo esterilizado, atestando a segurança do uso dessa embalagem, como observado por Rodrigues et al (2006) em seu experimento para avaliar o desempenho dos campos de algodão reprocessados.

Possivelmente, a trama do tecido de algodão propicie melhores condições para a aderência dos micro-organismos, talvez pela sua própria configuração, porém, comprovou ser biobarreira eficaz.

A queda mais acentuada no número de amostras positivas do controle foi observada para a embalagem de papel crepado, seguida do SMS e papel grau cirúrgico, sem que estejam elucidados os motivos para as diferenças dos resultados apresentados.

Sabe-se que as bactérias apresentam quatro fases de crescimento : Lag, Logarítima, Estacionária e Morte. Após a fase de crescimento (Logaritmica), a bactéria entra na fase estacionária. Quando os nutrientes do meio começam a ficar escassos, não há crescimento e segue-se a fase de declínio, caracterizada pelas mortes celulares (ALTERTHUM, 2005).

Os declínios no número de micro-organismos nas culturas positivas representados nos Gráficos 2, 3 e 5 ocorreram provavelmente em decorrência das fases de morte natural do crescimento bacteriano.

Outros experimentos não encontraram prevalência ou diferença na possibilidade de contaminação quando compararam diferentes tipos de embalagem, como papel grau cirúrgico, crepe e SMS (KLAPES et al, 1987; BRITO et al, 2002 ; WEBSTER et al, 2003; RUTALA et al, 2006), supõe-se que, independente da capacidade de proporcionar aderência e viabilidade microbiana, as embalagens testadas foram eficazes como barreira mesmo em condições subótimas, fato comprovado pela ausência de contaminação dos carreadores do interior das caixas armazenadas.

Esta pesquisa laboratorial experimental não considerou os eventos relacionados a que os materiais, normalmente, armazenados na prática assistencial se submetem. Exceção feita à manipulação do material com mãos muito contaminadas, reproduzidas no experimento com a contaminação externa desafio com *Serratia marscecens*. Mas, os manuseios frequentes que podem fragilizar a capacidade de biobarreira das embalagens, não foram incluídos, como variáveis independentes neste estudo.

A ausência completa de contaminação dos carreadores retirados das caixas dos grupos experimental e controle comparativo e transferidos para o meio de cultura, atesta a possibilidade da aplicação dessa metodologia, contrariando o proposto por Dunkelberg; Wedwkind (2004), de que este método de transferência leva à contaminação acidental das amostras, como nos experimentos de Klapes et al (1987); Neves et al (2004); Standard et al (1971; 1973) embora este último não tenha considerado esta possibilidade, sendo, inclusive, criticado, posteriormente, por não considerar tal eventualidade (KLAPES et al, 1987; BUTT et al, 1991).

A utilização do método de contaminação intencional com micro-organismo e carga conhecidos contorna a possibilidade da análise errônea dos dados na ocorrência de contaminação acidental, uma vez que se sabe o micro-organismo que está sendo procurado.

A não inoculação prévia de um micro-organismo conhecido observada nos experimentos apresentados na revisão de literatura (KLAPES et al, 1987; WEBSTER et al, 2003; NEVES et al, 2004) gera dúvidas de resultado e permite apenas inferir que as contaminações encontradas possam ter sido acidentais, atestando a importância do método escolhido no presente estudo.

É importante observar que o experimento foi realizado, visando apenas às consequências da temperatura e da UR ao material, desconsiderando os recursos humanos que trabalham na CME. O termo conforto térmico é definido, como “um estado de espírito que reflete satisfação com o ambiente térmico que envolve a pessoa” (ASHRAE, 2004). Um estudo realizado por Rezende (2003) demonstrou que condições adversas no ambiente de trabalho, como temperatura e umidade muito altas ou muito baixas, propiciam o surgimento de doenças ocupacionais e desconforto, o que poderia desencadear baixa produtividade e rotatividade elevada de trabalhadores. O ambiente quente também afeta a percepção e o controle motor (BONFIN, 1999).

A legislação exige que o ambiente de trabalho assegure conforto ambiental, considerando que trabalhadores que necessitam de atenção constante no desenvolvimento de suas tarefas, devem trabalhar a temperaturas que variam entre 20°C e 23°C. (BRASIL, 1990). Os dados aqui levantados demonstram que as justificativas fundamentadas na possibilidade de contaminação das embalagens pelas condições climáticas não procede, o que difere de permear a necessidade de climatização para conforto dos trabalhadores.

A capacidade de manutenção da biobarreira observada para todas as embalagens, confirmada pela ausência de contaminação dos carreadores, mesmo sob ameaça, caracterizada pela constante presença de micro-organismos sobre a embalagem, confirma a hipótese inicial do experimento e reforça a premissa de que as recomendações de associações e autores são baseadas em “bom senso” e transposição de conceitos utilizados na indústria farmacêutica e alimentícia e não em fatos científicos comprováveis.

Ressalta-se, porém, que as embalagens não apresentam as mesmas características dos alimentos e drogas que em prazo mais curto estão sujeitos à decomposição e alterações influenciados por alterações atmosféricas.

A *Serratia marcescens* manteve-se presente e ativa nos controles positivos quando em condições ambientais consideradas “ideais”, fato comprovado pelo não declínio no número de amostras positivas ao longo dos 30 dias.

O fato corrobora a dúvida inicial quanto à necessidade de temperatura e umidade baixas para evitar o crescimento dos micro-organismos, visto que as condições adversas demonstraram-se mais desafiantes na manutenção das bactérias do que as condições recomendadas e vai contra as justificativas apresentadas pela AAMI (2006) para manutenção de baixas temperaturas na sala de guarda de material, pois alta temperatura e alta umidade favoreceriam o crescimento bacteriano.

7 – CONCLUSÃO

Este experimento permitiu confirmar a hipótese de pesquisa de que as condições aqui especificadas umidade relativa do ar e temperatura elevadas não interferem na capacidade de biobarreira das embalagens estudadas.

8 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

A escolha de um caminho metodológico consistente e as respostas trazidas pelos resultados deste experimento permitem o preenchimento de uma lacuna na literatura nacional e internacional a respeito do efeito das condições ambientais no armazenamento dos materiais esterilizados.

Os dados aqui apresentados auxiliarão a subsidiar a readequação da legislação que hoje exige controle rigoroso do ambiente na área de armazenamento do material esterilizado, bem como das recomendações, considerando a possível fragilização da barreira microbiana das embalagens, o que na prática pode incorrer em punições às instituições que não estiverem adequadas.

As respostas encontradas permeiam-se também na qualidade das embalagens utilizadas neste experimento, embora na prática não seja incomum profissionais encontrarem problemas nos invólucros, como evidências de déficits de asseio em suas produções. O fato pode ser justificado pela não obrigatoriedade do controle de qualidade para cada lote lançado no mercado, e sim, apenas no momento da notificação/registro na ANVISA, esta falha pode levar ao problema citado e minar a segurança dos resultados.

Considerou-se como limitação do experimento a não quantificação dos micro-organismos viáveis nas amostras de controle positivo, sendo feita apenas a análise qualitativa da presença ou ausência da *Serratia marcescens* nas embalagens. Uma análise quantitativa proporcionaria avaliar estatisticamente o nível da ameaça sofrida para cada embalagem ao final do prazo definido no experimento e possibilitaria discutir a maior ou menor aderência e a permanência dos micro-organismos em cada uma delas.

REFERÊNCIAS

AAMI. Association for advancement of medical instrumentation. American National Standards - Comprehensive guide to steam sterilization and sterility assurance in health care facilities, 2006.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Roupa Hospitalar - confecção de campo duplo: NBR 14.028. Rio de Janeiro, 1997.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Papel grau cirúrgico para fabricação de embalagens de artigos odonto-médico-hospitalares a serem esterilizados a vapor saturado sobre pressão ou por radiação: NBR12.946. Rio de Janeiro, 2001.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Não-tecido: terminologia: NBR 13.370. Rio de Janeiro, 2002.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. Sistemas e materiais de embalagem para produtos de saúde: NBR 14.990. Rio de Janeiro, 2005.

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. 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: NBR 17.665-1. Rio de Janeiro, 2010.

AIA. American institute of architects. Guidelines for Design and Construction of Health Care Facilities, 2006.

ALCAMO, IE. Fundamentals of microbiology. Ed Benjamin Cummings. 5ª ed. 1996.

ALTERTHUM F. Crescimento bacteriano. In: TRABULSI, LR; ALTERTHUM F. Microbiologia. São Paulo. Atheneu. 2005. cap 4, p 31-36.

AOAC. Association of official analytical chemists. Official methods of analysis. Washington, 2003. chapter 6, p12.

AORN. Association of perioperative registered nurses. Perioperative Standards and Recommended Practices, 2008.

ASHRAE. American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers. Standard 55: Thermal environmental conditions for human occupancy. Atlanta. 2004.

BAUMER. Termodesinfetadora – Manual do usuário. 1999.

BONFIN, IP. Estudo de nível de atenção durante o exercício em diferentes intensidades e ambiente termoneutro ou quente e úmido. [dissertação]. Belo Horizonte (BH). Universidade Federal de Minas Gerais. 1999.

BOTT, RF; OLIVEIRA, WP. Storage conditions for stability testing of pharmaceuticals in hot and humid regions. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 33:339-401, 2007.

BUTT, WE; JUNIOR, DVB; MAYHEW, RB; SCHWARTZ, RS. Evaluation of the shelf life of sterile instruments packs. *Oral Surgery, Oral Med*, 1991, vol 6 p 650-654.

BRASIL. Ministério de Trabalho e Emprego. Norma Regulamentadora Nº17. Ergonomia. 1990.

BRASIL. Portaria Interministerial 482 de 16 de Abril de 1999. Aprova o Regulamento Técnico e seus Anexos, objeto desta Portaria, contendo disposições sobre os procedimentos de instalações de Unidade de Esterilização por óxido de etileno e suas misturas e seu uso, bem como, de acordo com as suas competências, estabelecer as ações sob a responsabilidade do Ministério da Saúde e do Trabalho e Emprego. DOU, seção I, p. 15, Brasília, 19 de Abril de 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC nº 50 de 21 de fevereiro de 2002. Dispõe sobre o regulamento técnico para planejamento, programação, elaboração e avaliação de projetos físicos de estabelecimentos assistenciais de saúde. Diário oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 14 de novembro de 2002.

BRITO, MFP; GALVÃO, CM; FRANÇOLIN, L; ROTTA, CSG. Validação do processo de esterilização de artigos médico-hospitalares segundo diferentes embalagens. *Rev Bras Enferm*, 2002. vol 55, nº4, p 414-419.

BRONZATTI, JAG. Aspectos legais referentes a esterilização - Parte I: Legislação nacional. In: APECIH. Limpeza, Desinfecção e Esterilização de artigos em serviços de saúde. São Paulo, 2003.

BRUCH, C.W.; BRUCH, M.K. Sterilization. In: MARTIN, E.W.; EASTON, P. *Husa's Pharmaceutical Dispensing*. Marck Publish, 1971.

CARDO, DM; DRAKE, A. Central Sterile Supply. In: MAYHALL, CG. *Hospital Epidemiology and Infection Control*. Ed Willians and Wilkins. 1996. cap 57, p 709-805.

DUNKELBERG H, WEDWKIND S. Preliminary results for a new final package test to asses the quality of sterile package systmes. Infection Control and Hospital Epidemiology. 2004; vol 25; nº1, p 26-9.

EISENSTEIN, BI. Enterobacteriaceae. In: MANDELL, GLM; DOUGLAS RG; BENNETT JE. Principles and practice of infectious desease. Ed Churchill Livingstone. 3ª ed. 1990.

FDA. Food and Drug Administration. Tentative final monograph for healthcare antiseptic drugs products, proposed rule. Federal register, 1994;59;31441-52.

FERNANDES, AT. Infecção Hospitalar e sua Interfaces na Área da Saúde.São Paulo. Atheneu. 2000.

FERREIRA, ABH. Novo Dicionário Aurélio de Língua Portuguesa. 3ª ed. Curitiba: Positivo, 2004.

JAPP, NF. Packaging: Shelf life. In: REICHERT, M; YOUNG JH. Sterilization technology for the Health Care Facility. Ed Aspen. 1997.

JOSLYN, L. Sterilization heat. In: BLOCK, SS. Disinfection, Sterilization and Preservation. Ed Lea & Febiger. 1983. cap 1, p 3-46.

KAWAGOE, JY. Higiene das mãos: comparação da eficácia antimicrobiana do álcool – formulação gel e líquida – nas mãos com matéria orgânica [tese]. São Paulo (SP): Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo; 2004.

KLAPES, A; GREENE VW; LANGHOLZ , AC; HUNSTIGER, C. Effect of long-term storage on sterile status of devices in surgical packs. Infection Control, 1987, vol.8, Nº 7.

KOTZ, JC; TREICHEL, PM. Química geral 1 e reações químicas. 5ª ed. São Paulo: Cengage Learning, 2008.

MAYWORM, D. Sterile shelf life and expiration dating. Journal of hospital supply. Nov/Dec,v2, n6, 1984.

MORIYA, GAA. Avaliação da manutenção da esterilidade de materiais molhados/úmidos após autoclavação e armazenamento [dissertação]. São Paulo (SP): Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo; 2005.

NAKAMURA, MHY; PADOVEZE, MC; QUELHAS, MC; KOCSSIS, E. Esterilização por vapor saturado sob pressão. In: APECIH. Esterilização de artigos em unidades de saúde. São Paulo, 2003.

NEVES, ZCP; MELO, DS; SOUZA, ACS; TIPPLE, AFV; RODRIGUES, MAV. Artigos esterilizados em calor úmido: validação do sistema de guarda. Revista Brasileira de enfermagem 2004. vol. , mar-abr, Nº 57(2), p 152-6.

NOGAROTO SL; PENNA TCV. Desinfecção e esterilização. São Paulo: Atheneu. 2006.

OKUNO, E; CALDAS I; CHOW C. Física para Ciências biológicas e biomédicas. São Paulo: Habra, 1992.

PADOVEZE, MC; QUELHAS, MC; NAKAMURA, MH; VIEIRA, KMR. Recursos Humanos e área física na CME. In: APECIH. Limpeza, Desinfecção e Esterilização de artigos em serviços de saúde. São Paulo, 2010.

PEREIRA, MCO. Preparo, embalagem, transporte e armazenagem. In: APECIH. Esterilização de artigos em unidades de saúde. São Paulo, 2010.

PINTO, TJA; KANEKO, TM; OHARA, MT; Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos. 2ª ed .São Paulo: Atheneu, 2003.

POSSARI, JF. Centro de Material e Esterilização – Planejamento e Gestão. São Paulo: látrica, 2003.

REZENDE, MP. Agravos a saúde de auxiliares de enfermagem resultantes da exposição ocupacional a riscos físicos. [dissertação]. Riberão Preto (SP): Escola de Enfermagem de Riberão Preto da USP. 2003.

RODRIGUES, E; LEVIN, AS; SUMIKO IS; MENDES, CF; BARBOSA, B; GRAZIANO, KU. Evaluation of the use and re-use of cotton fabrics as medical and hospital wraps. Braz. J. Microbiol. vol 37. São Paulo. Apr/June. 2006.

ROMERO, MA. Eficiência energética e arquitetura: dois conceitos inseparáveis. Climatização, v.2, n.6, p.20-24, fev. 2001.

RUTALA, WA; MORELLI, L; WEBER, DJ; THOMANN, CA. Effects os long-term storage on sterility of medical supplies. Am J Infect Control. 2006, vol 34(4), p 248.

RUTALA, WA; WEBER, DJ; HICPAC (Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee). Sterilization. In: CDC. Guideline for Desinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, 2008.

SÃO PAULO. Resolução SS-374 de 15 de dezembro de 1995. Altera a norma técnica sobre organização do centro de material e noções de esterilização. Diário oficial do Estado de São Paulo, São Paulo, 16 de dezembro de 1995. Seção I.

SOBECC. Sociedade brasileira de enfermeiros de centro cirúrgico, recuperação anestésica e central de materiais e esterilização. Práticas Recomendadas, 2009.

STANDARD, PG; MACKEL, DC; MALLISON, GF: Microbial penetration of muslin and paper-wrapped sterile packs stored on open shelves and in closed cabinets. Appl Microbiol. 1971; 22:432-437.

STANDARD, PG; MALLISON, GF;MACKEL, DC: Microbial penetration through three types of double wrappers for sterile packs. Appl Microbiol. 1973; 26:59-62.

TORTORA, GJ; FUNKE, BR; CASE, CL. Microbiology an introduction, ed Benjamin Cummings, 6ª ed, 1997.

WEBSTER, J; LLOYD, W; HO P; BURRIDGE, C; GEORGE, N. Rethinking Sterilization practices: evidence for event-related outdateding. Infection Control an Hospital Epidemiology 2003, vol. 24, nº 8, p 622-623.

WEBSTER, J; RADKE, E; NARELLE, G; FAOAGALI, J; HARRIS, M. Barrier properties and cost implications of a single versus a double wrap for storing sterile instrument packs. Am J Infect Control. 2005, vol 33, nº 6, p 348-352.

ANEXOS

ANEXO A. Integradores químicos e indicadores biológicos utilizados para atestar a esterilidade do ciclo de esterilização no experimento.

ANEXO B. Folha do teste Bowie-Dick atestando o bom funcionamento da bomba de vácuo da autoclave utilizada no experimento.

ANEXO C. Certificado de qualidade enviado pela empresa PROBAC® atestando a esterilidade e boas condições dos meios utilizadas para inoculação das amostras do experimento.

PROBAC DO BRASIL

CERTIFICADO DE QUALIDADE

PRODUTO: CALDO TSB

DATA PRODUÇÃO	LOTE TSBT5 071309	DATA-ANÁLISE FINAL
13/07/09	Validade: 6 meses	16/07/09

<i>TESTE DE ESTERILIDADE</i>	Aprovado
----------------------------------	----------

<i>TESTE</i>	<i>BACTÉRIAS TESTADAS</i>	
<i>MICROBIOLÓGICO</i>	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>S. aureus</i> ATCC 25923
	+	+
<i>Crescimento</i>		

<i>CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS</i>	<i>SUPERFÍCIE</i>	<i>COR</i>
	N	N

OBSERVAÇÕES / COMENTÁRIOS:
N = Normal

Biomédico analista:

Data: Julho/2009

Rosana P. C. Fernandes
CRM 4618