

## **Avaliação da manutenção da esterilidade de materiais úmidos/molhados após a esterilização por vapor e armazenamento por 30 dias**

Giovana Abrahão de Araújo Moriya<sup>1</sup>

Kazuko Uchikawa Graziano<sup>2</sup>

Consideram-se contaminados os artigos molhados/úmidos, armazenados após autoclavação, não sendo recomendados para uso. O objetivo do estudo foi avaliar a manutenção da esterilidade dos materiais molhados/úmidos, após terem sido submetidos ao processo de esterilização pelo vapor e armazenados por intervalo de 30 dias. Com a finalidade de auxiliar a tomada de decisão em situações emergenciais, foram preparadas 40 caixas cirúrgicas, embaladas em SMS, sendo a metade (experimental) submetida a autoclavação, com fase de secagem interrompida, liberando material molhado/úmido e outras 20 (controle) ao ciclo completo. As partes externas de cada caixa foram propositalmente contaminadas com *Serratia marcescens* e, posteriormente, armazenadas por 30 dias. Após esse período, os conteúdos das caixas foram submetidos a testes de esterilidade, acusando ausência total de crescimento. A presença de umidade dentro das caixas não interferiu na manutenção da esterilidade do seu conteúdo.

Descritores: Esterilização; Instrumentos Cirúrgicos; Contaminação; Infecção Hospitalar.

<sup>1</sup> Enfermeira, Hospital Alemão Oswaldo Cruz. Doutoranda, Programa de Pós-Graduação em Enfermagem na Saúde do Adulto, Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, SP, Brasil. E-mail: gaamoriya@gmail.com.

<sup>2</sup> Enfermeira, Doutor em Enfermagem, Professor Titular, Escola de Enfermagem, Universidade de São Paulo, SP, Brasil. E-mail: kugrazia@usp.br.

## **Sterility Maintenance Assessment of Moist/Wet Material After Steam Sterilization and 30-day Storage**

Moist/wet materials stored after autoclaving are considered contaminated and not recommended for use. This study evaluates the maintenance of sterility in moist/wet material after being submitted to steam sterilization and stored for a period of 30 days. Aiming to support decision-making in emergency situations, 40 surgical boxes packed in nonwoven cloth covering Spunbound, Metblouwn, Spunbound (SMS): half (the experimental group) were placed in an autoclave but the drying phase was interrupted, yielding moist/wet materials and the other half (the negative control group) underwent the complete cycle. The external parts of each surgical box were deliberately contaminated with *Serratia marcescens* and subsequently stored for 30 days. After this period, the boxes' contents were submitted to sterility tests and no growth was observed. The presence of moisture inside the surgical boxes did not interfere with maintaining their sterility.

Descriptors: Sterilization; Surgical Instruments; Contamination; Cross Infection.

### **Evaluación de la mantención de la esterilidad de materiales húmedos/ mojados después de esterilizados con vapor y almacenados por 30 días**

Se consideran como contaminados los objetos mojados/húmedos almacenados después de ser esterilizados en autoclave, no siendo recomendados para uso. El objetivo del estudio fue evaluar la mantención de la esterilidad de los materiales mojados/húmedos después de sometidos al proceso de esterilización por vapor y almacenados por un intervalo de 30 días. Con la finalidad de auxiliar en la toma de decisiones en situaciones de emergencia, fueron preparadas 40 cajas quirúrgicas embaladas en SMS, siendo la mitad (experimental) sometidas a un proceso de esterilización en autoclave, con fase de secado interrumpida, liberando material mojado/húmedo y otras 20 (control) con el ciclo completo. Las partes externas de cada caja fueron intencionalmente contaminadas con *Serratia marcescens* y posteriormente almacenadas por 30 días. Después ese período, los contenidos de las cajas fueron sometidos a pruebas de esterilidad, acusando ausencia total de crecimiento. La presencia de humedad dentro de las cajas no interfirió en la mantención de la esterilidad de su contenido.

Descriptorios: Esterilización; Instrumentos Quirúrgicos; Contaminación; Infección Hospitalaria.

## **Introdução**

A garantia da esterilidade dos materiais críticos, utilizados na assistência à saúde, e a sua posterior manutenção são indiscutíveis para a qualidade na assistência prestada a pacientes, especialmente sob tratamento cirúrgico<sup>(1-6)</sup>.

Na prática, mesmo em um ciclo de esterilização no qual todas as normas e procedimentos recomendados foram seguidos, a presença de materiais com embalagens úmidas ou conteúdos internos apresentando gotículas de água pode ocorrer. Ressalta-se que, quando o material é

embalado em invólucros não transparentes, a constatação de que o material está molhado/úmido somente é possível no momento da utilização do mesmo.

Apesar de a recomendação da conduta padrão ser a reesterilização de um material molhado/úmido, na prática cotidiana depara-se com algumas situações difíceis de gerenciar como, por exemplo, a do paciente já anestesiado, na sala operatória, e não existir material seguro para substituição, nem a possibilidade de aguardar a reesterilização.

A literatura científica revisada<sup>(7-11)</sup>, apesar de abordar vários aspectos relativos a pacotes molhados/úmidos, deixa um questionamento: o fenômeno da capilaridade (passagem da umidade através da embalagem) é capaz de carrear os microrganismos presentes sobre as embalagens, após 30 dias de acondicionamento?

Frente a essa dúvida, propôs-se desenvolver este estudo com o objetivo de avaliar a manutenção da esterilidade dos materiais molhados/úmidos, após terem sido submetidos ao processo de esterilização pelo vapor e armazenados por intervalo de 30 dias.

Como hipótese desta pesquisa, o estudo pretendeu confirmar a manutenção da esterilidade durante os 30 dias de armazenamento das caixas de instrumental cirúrgico molhadas/úmidas, na presença de microrganismos testes sobre a sua superfície externa, uma vez que a propriedade de barreira microbiana da embalagem não permitiria a contaminação.

Vários estudos têm sido publicados relativos ao processamento de instrumentos cirúrgicos<sup>(12-13)</sup>. Entretanto, nenhum desses artigos aborda a problemática de pacotes molhados/úmidos após autoclavação e armazenamento. Portanto, o presente estudo pretende contribuir, com bases teóricas, para subsidiar as tomadas de decisões referentes ao material molhado/úmido, após esterilização pelo calor, ainda não abordado nos artigos já publicados neste e em outros periódicos.

## Métodos

Esta pesquisa caracterizou-se como experimental (laboratorial e randomizada), onde as condições da prática assistencial foram levadas em consideração. Foram respeitadas as variáveis independentes neste estudo: o material molhado/úmido e o tempo de armazenamento, e a variável dependente: o resultado das culturas microbiológicas.

No Brasil, a maior parte dos serviços de saúde, ao submeter instrumentais cirúrgicos à esterilização pelo vapor, utiliza caixas cirúrgicas inoxidáveis com perfurações nas partes laterais e inferiores e sem tampas, para que sejam garantidas a penetração do vapor e a posterior secagem. Essas caixas são embaladas em invólucros com comprovação de barreira microbiana para permitir o transporte e o armazenamento adequados. Isso posto, foram preparadas, para esta pesquisa, 40 unidades de caixas cirúrgicas de tamanhos variados, reproduzindo a prática profissional, colocando-se no seu interior instrumentais cirúrgicos de diversas especialidades, ocupando 80% da capacidade de cada caixa. Vinte delas

foram aleatoriamente sorteadas como grupo experimental e submetidas à esterilização pelo vapor, interrompendo-se o ciclo no início da fase de secagem. As outras 20 constituíram o grupo do controle negativo e foram submetidas a um ciclo completo de esterilização (pré-vácuo, tempo de exposição/esterilização e secagem).

Para a esterilização das caixas, utilizou-se uma autoclave microprocessada com pré-vácuo, validada conforme as exigências legais da norma ISO 11134:1994<sup>(14)</sup> à temperatura de 134°C e tempo de exposição de 4 minutos. O monitoramento dos parâmetros mecânicos alcançados, nos ciclos de esterilização, foi realizado pelos registros impressos pelo equipamento. O monitoramento biológico foi realizado por meio do indicador, utilizando o *Geobacillus stearothermophilus* 10<sup>6</sup> U.F.C./mL (3M<sup>®</sup>), e o químico por meio do emulador classe 6 (Brownie<sup>®</sup>), no interior de cada caixa.

A metodologia da Association of Official Analytical Chemists – AOAC<sup>(15)</sup> recomenda o uso de carreadores de cilindros de porcelana para provas de esterilidade, ou fio de sutura cirúrgica de seda número 2 com 6cm de comprimento, formando 2 alças (*loops*). Para este estudo, foram preparados conjuntos de cilindros de porcelana que serviram de material teste a serem inoculados em meio de cultura. Cada conjunto de carreadores, em forma de argola, foi composto por quatro cilindros de porcelana (altura 7mm, diâmetro interno 3mm e diâmetro externo 7mm), unidos por 6cm de fio de sutura cirúrgico (SEDA n°2), podendo-se, assim, considerar 5 carreadores a serem inoculados em cada meio de cultura<sup>(16)</sup>. Em cada caixa foram colocados oito conjuntos de argolas de cilindros de porcelana nas seguintes posições: três na porção superior, duas na porção intermediária e três na porção inferior, totalizando 160 amostras de materiais testes como grupo experimental e 160 como grupo controle negativo.

Esse tamanho amostral foi calculado com assessoria de um profissional bioestatístico, considerando uma proporção esperada de 50%, nível de significância de 5% e poder da amostra de 99,9%.

O número maior de materiais testes nas posições superior e inferior foi justificado pelo fato de serem posições mais vulneráveis à contaminação: a parte superior por estar mais próxima da embalagem e do meio externo, e a inferior, além dos mesmos fatores de risco, por estar em contato com gotículas de água.

As caixas cirúrgicas perfuradas foram embaladas em uma camada de invólucro de tecido não tecido – SMS (*Spunbound, Metblounn, Spunbound*), KC 300 (Kimberly Clark<sup>®</sup>), por ser um tipo de invólucro

compatível com o processo de esterilização pelo vapor, seguir as recomendações da AORN 2004<sup>(17)</sup> e, também, da AAMI 2002<sup>(11)</sup>, e ser embalagem utilizada por muitas instituições assistenciais no Brasil. Apesar da recomendação do fabricante para se utilizar duas camadas do invólucro, alguns hospitais brasileiros, por possuírem poucos recursos financeiros, adotam a prática de utilizar apenas um invólucro. Neste estudo, a intenção foi reproduzir ao máximo a prática profissional, sendo usado, portanto, uma folha de embalagem.

Antes e após a esterilização, todas as caixas foram pesadas, objetivando detectar a presença ou a ausência de umidade (água), considerando-se que a sua presença atribuiria peso maior à caixa de instrumental, após a esterilização.

Em seguida, tanto as caixas do grupo experimental (com a fase de secagem interrompida do ciclo de esterilização) como as caixas do grupo controle negativo (submetidas ao ciclo completo de esterilização) foram propositadamente contaminadas, externamente, com as mãos enluvadas e mergulhadas no caldo de cultura de *Serratia marcescens* ATCC 14756  $10^6$  U.F.C./mL e secos por 3 minutos, em condições ambientais. As mãos enluvadas, então contaminadas, entraram em contato com as faces superior, inferior e laterais das caixas. Posteriormente, as caixas foram armazenadas em prateleiras perfuradas em estantes distintas: uma para caixas do grupo experimental e outra para caixas do controle negativo em um mesmo ambiente, durante 30 dias. O intervalo de 30 dias de armazenamento, apesar de longo, foi propositadamente escolhido para caracterizar um desafio.

Para que houvesse certeza de que microrganismos testes *Serratia marcescens* ATCC 14756, empregados neste estudo, sobreviveriam por até 30 dias, sobre a superfície da embalagem utilizada, realizou-se o controle positivo. Para tal, 20 amostras do invólucro SMS foram também contaminadas no mesmo caldo de cultura de *Serratia marcescens* e armazenadas dentro de tubos de ensaio esterilizados, secos e posteriormente lacrados, nas

mesmas prateleiras perfuradas onde as caixas cirúrgicas ficaram armazenadas. A temperatura e a umidade relativa do ar ambiente, do local de armazenamento das caixas, foram controladas por termo-higrômetro (Minipa®) e variaram respectivamente entre 16,5 e 25°C e 51 e 100%.

Após o intervalo de 30 dias, as caixas foram abertas com técnica asséptica, e cada argola de carreadores foi inoculada em 20mL de meio de cultura caseína-soja e incubados por 14 dias<sup>(18)</sup>, em estufa regulada a 22,5°C. A exposição da *Serratia marcescens* à temperatura acima de 30°C provoca a perda da capacidade desse microrganismo de produzir pigmentação característica vermelha, o que dificultaria a sua identificação<sup>(19)</sup>. Com base nesses dados, optou-se por utilizar a temperatura da estufa regulada a 22,5°C, temperatura essa recomendada como ótima para o crescimento das *Serratia marcescens*<sup>(20)</sup>.

A análise dos dados foi quantitativa descritiva, por meio da leitura dos testes de esterilidade, considerando-se o crescimento positivo ou negativo de acordo com a turbidez apresentada pelos tubos em meio caseína-soja, contendo os materiais testes.

Foi planejado utilizar o teste de qui-quadrado de Pearson para comparar as proporções do grupo experimental e controle<sup>(21)</sup>.

## Resultados

A Tabela 1 apresenta, comparativamente, os pesos antes e após a esterilização a vapor das caixas do grupo controle negativo e grupo experimental, com os respectivos valores das diferenças (antes e depois). Pode-se constatar que o peso final (após esterilização) foi maior que o peso inicial (antes da esterilização) no grupo experimental (diferença média -0,14%), permitindo a certificação da presença de umidade no interior das caixas desse grupo e, utilizando o raciocínio inverso, a ausência da umidade no grupo controle negativo (diferença média +0,77%).

Tabela 1 - Comparação dos pesos das caixas de instrumental, antes e após o processo de autoclavagem do controle negativo e do grupo experimental. São Paulo, 2005

Caixa	Controle negativo peso			Grupo experimental peso		
	Antes (kg)	Após (kg)	Diferença (%)	Antes (kg)	Após (kg)	Diferença (%)
1	0,684	0,684	0	0,922	0,926	0,43
2	0,920	0,918	-0,22	0,828	0,832	0,48
3	0,794	0,790	-0,50	1,252	1,26	0,64
4	0,832	0,832	0	1,614	1,628	0,87
5	0,996	0,994	-0,20	1,020	1,030	0,98

Continua...

Tabela 1 - Continuação

Caixa	Controle negativo peso			Grupo experimental peso		
	Antes (kg)	Após (kg)	Diferença (%)	Antes (kg)	Após (kg)	Diferença (%)
6	1,200	1,198	-0,17	1,234	1,240	0,49
7	0,676	0,676	0	1,110	1,116	0,54
8	0,714	0,712	-0,28	0,982	0,990	0,81
9	0,978	0,978	0	0,778	0,784	0,77
10	1,616	1,614	-0,12	0,794	0,798	0,50
11	0,878	0,878	0	5,058	5,132	1,46
12	1,034	1,032	-0,19	4,874	4,908	0,70
13	0,900	0,898	-0,22	3,850	3,872	0,57
14	4,592	4,586	-0,13	2,652	2,676	0,90
15	5,382	5,372	-0,19	4,860	4,912	1,07
16	2,720	2,719	-0,04	5,008	5,046	0,76
17	2,058	2,056	-0,10	4,440	4,470	0,68
18	2,834	2,830	-0,14	4,200	4,248	1,14
19	2,864	2,860	-0,14	3,744	3,780	0,96
20	3,338	3,332	-0,18	2,428	2,464	1,48
Média	1,849	1,846	-0,14	2,452	2,473	0,77

A Tabela 2 apresenta os resultados microbiológicos das culturas dos materiais testes do grupo experimental e do grupo controle negativo, após 30 dias de armazenamento.

Tabela 2 - Distribuição dos resultados das culturas microbiológicas, segundo a localização das argolas de cilindros de porcelana nas caixas dos grupos experimental e controle negativo, após 30 dias de armazenamento. São Paulo, 2005

Localização das argolas nas caixas	Experimental	Controle negativo
	Resultado após 30 dias armazenamento	Resultado após 30 dias armazenamento
Inferior	-/60*	-/60*
Intermediária	-/40*	-/40*
Superior	-/60*	-/60*
Total	-/160*	-/160*

\*nº total de crescimento positivo/nº total de amostras

Em relação ao grupo controle positivo, houve 100% de crescimento das culturas microbiológicas.

## Discussão

Um dos fundamentos de vários autores<sup>(7-11)</sup> para não recomendar o uso dos materiais que se apresentam úmidos, após a esterilização pelo vapor, pode estar relacionado à premissa da proliferação de microrganismos em ambientes úmidos sem que haja comprovação para tal possibilidade.

Os resultados apresentados na Tabela 2 mostram que, mesmo com a umidade presente, após 30 dias, não houve proliferação de microrganismos.

Acredita-se que isso tenha ocorrido devido à água da umidade residual também estar igualmente esterilizada como o material, e que as condições de acondicionamento das caixas e seu armazenamento também foram adequados. Nesse contexto, a efetividade da propriedade de barreira microbiológica da embalagem assume papel definidor e fundamental na manutenção ou não da esterilidade do conteúdo interno<sup>(22)</sup>. Neste trabalho, a embalagem utilizada SMS KC 300 mostrou ser biobarreira efetiva para os materiais armazenados durante 30 dias, mesmo tendo havido contato com intensa contaminação externa com microrganismos testes. Complementa-se que, no ciclo *flash* da esterilização a vapor, há consenso da utilização imediata dos materiais molhados porque se acredita que a água está igualmente isenta de microrganismos como os materiais.

Outro fundamento para que os autores<sup>(7-11)</sup> condenem a utilização dos materiais molhados/úmidos pode estar relacionado ao fenômeno da capilaridade pela passagem da umidade através da embalagem, carreando microrganismos. É sabido que bactérias e fungos crescem em ambientes úmidos e em temperaturas ambiente. O fato de os fungos não terem sido utilizados nesses experimentos, justifica-se pelo seu tamanho celular bem maior que o tamanho celular das bactérias<sup>(23)</sup>. O tamanho do menor vírus conhecido é 500 vezes maior do que o tamanho da molécula da água<sup>(24)</sup>. Por esse referencial teórico, a passagem da água através de uma embalagem de materiais críticos não significa necessariamente a passagem de microrganismos.

Os resultados deste experimento comprovaram a hipótese inicial da pesquisa. Durante os 30 dias de

armazenamento dos materiais molhados/úmidos, os microrganismos testes, presentes o tempo todo na superfície externa das caixas cirúrgicas, não atravessaram as embalagens contaminando o seu interior.

A terceira fundamentação que pode ter embasado o posicionamento dos autores<sup>(7-11)</sup>, para considerarem que os materiais molhados/úmidos são contaminados durante o seu intervalo de armazenamento, é a ocorrência de microfuros nas embalagens molhadas/úmidas por terem se tornado mais frágeis e, portanto, ocasionarem a quebra da biobarreira. Isso é plausível, porém, essa possibilidade não foi constatada neste experimento.

Apesar de inicialmente o teste de qui-quadrado de Pearson ter sido planejado para comparar as proporções do grupo experimental e controle negativo, todos os crescimentos estavam ausentes, portanto, não houve indicação para comparar proporções por meio de inferências estatísticas.

Reforça-se que não foram encontradas pesquisas que tivessem investigado o mesmo fenômeno para discutir comparativamente os resultados.

## Conclusão

A presença de umidade no interior das caixas cirúrgicas perfuradas, embaladas em uma folha de SMS, e submetidas à esterilização pelo vapor, não interferiu na manutenção da esterilidade de seu conteúdo, mesmo após 30 dias de armazenamento.

Diante do desenho utilizado para a pesquisa, com tamanho amostral adequado (poder de 99,9%), o resultado deste trabalho poderá sustentar uma tomada de decisão na prática de, eventualmente, serem utilizados materiais molhados/úmidos, sem que haja o risco de prejuízo para a assistência qualificada e ética aos pacientes.

Não se pretende com os resultados deste trabalho contrariar as recomendações clássicas de que os materiais devam sair secos após os processos completos de esterilização pelo vapor; mas, apenas trazer evidências científicas para auxiliar a tomada de decisão nas situações emergenciais como, por exemplo, o paciente já se encontrar anestesiado na sala de cirurgia e não existir material seco para pronta substituição de um molhado, cuja constatação se deu no momento do seu uso.

## Referências

1. Chu NS, Chan-Meyers H, Ghazanfari N, Antonoplos P. Levels of naturally occurring microorganisms on surgical instruments after clinical use and after washing. *Am J Infect Control*. 1999;27(4):315-9.
2. Pinto FMG, Queiroz RS, Barreto CS, Jenné LMM, Graziano KU. Analysis of the microbial load in instruments used in orthopedic surgeries. *Am J Infect Control*. 2010 April; 38(3):229-33. Epub 2009 Nov 12.
3. Rutala WA, Weber DJ. Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee. Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities [online]. [Cited 2009 Sep 21]. Center for Diseases Controle and Prevention. HICPAC; 2008. Available from: [http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/guidelines/Disinfection\\_Nov\\_2008.pdf](http://www.cdc.gov/ncidod/dhqp/pdf/guidelines/Disinfection_Nov_2008.pdf). (21 set 2009)
4. Rutala WA, Weber DJ. How to assess risk of disease transmission to patients when there is a failure to follow recommended disinfection and sterilization guidelines. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2007; 28(2):146-55.
5. Recomendações práticas em processos de esterilização em estabelecimentos de saúde - esterilização a calor: guia elaborado por enfermeiros brasileiros. Campinas: Komedi; 2000.
6. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR) [homepage na internet]. Consulta Pública nº 34, de 3 de junho de 2009. Brasília. [acesso em: 4 junho 2009]. Disponível em: URL [http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP\[26720-3-0\].PDF](http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP[26720-3-0].PDF).
7. Lee SA. Steam Sterilization: troubleshooting wet pack problem. In: Reichert M, Young JH. *Sterilization technology for the health care facility*. 2nd ed. Gaithersburg: Maryland; 1997. p. 155-66.
8. Karle DA, Ryan P. Guidelines for evaluating wet packs. *AORN J*. 1983; 38(2):244-56.
9. Moses RF. Why is a little water such a big deal? *Mater Manage. Health Care*. 1994; 3(3):68-70.
10. Strauss R. Eliminating stained instruments by controlling steam quality. *J Hosp Supply Process Distrib*. 1984 Jan-Feb; 2(1):30-2.
11. Association for the Advancement of Medical Instrumentation (AAMI). *American National Standard. Steam sterilization and sterility assurance in health care facilities*. Arlington; 2002.
12. Pereira MS, Moriya TM, GIR E. Infecção hospitalar nos hospitais escola: uma análise sobre seu controle. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*. 1996; 4(1):145-62.
13. Graziano KU, Balsamo AC, Lopes CLBC, Zotelli MFM, Couto AT, Phascoal MLH. Critérios para avaliação das dificuldades na limpeza de artigos de uso único. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*. 2006; 14(1):70-6.
14. International Standard Organization. *Sterilization of health care products – Requirements for validation and routine control – Industrial moist heat sterilization*. ISO 11134:1994.
15. Association of Official Analytical Chemists (AOAC). *Methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 15th ed. Washington; 1995. p. 65-77.

