

PRINCÍPIOS BÁSICOS DE ESTERILIZAÇÃO A VAPOR

Celina Assumpção *

1. *Introdução*

A dificuldade de se encontrar bibliografia nacional, vem ocasionando problemas no que diz respeito aos princípios de esterilização, levando a um crescente aumento nas infecções hospitalares. Podemos observar esse “deficit” através do maior emprego de antibióticos, maior permanência do paciente nos hospitais e um aumento do custo do leito dia. Sentimos então, a necessidade de elaborar este artigo, que tem como objetivo fornecer melhores esclarecimentos neste assunto.

2. *Conceitos de Microbiologia*

2.1 *Características de crescimento dos microorganismos*

A célula viva é um sistema dinâmico, com organização específica imposta pela estrutura genética, que é perpetuada pela assimilação de energia fornecida pelos nutrientes e que possui capacidade de reprodução.

No estudo do crescimento bacteriano é mais importante o número de gerações que ocorrem em certo tempo do que o número de microorganismos.

Em qualquer processo de reprodução é muito importante a presença de enzimas e proteínas como também de moléculas de ácido nucleico, lipídeos e carboidratos. A taxa de crescimento é avaliada pelo número de gerações por hora. Esse crescimento é logarítmico e é medido por unidade de tempo. Ver Fig. 1.

(*) Auxiliar de Ensino da Escola de Enfermagem da Universidade de São Paulo

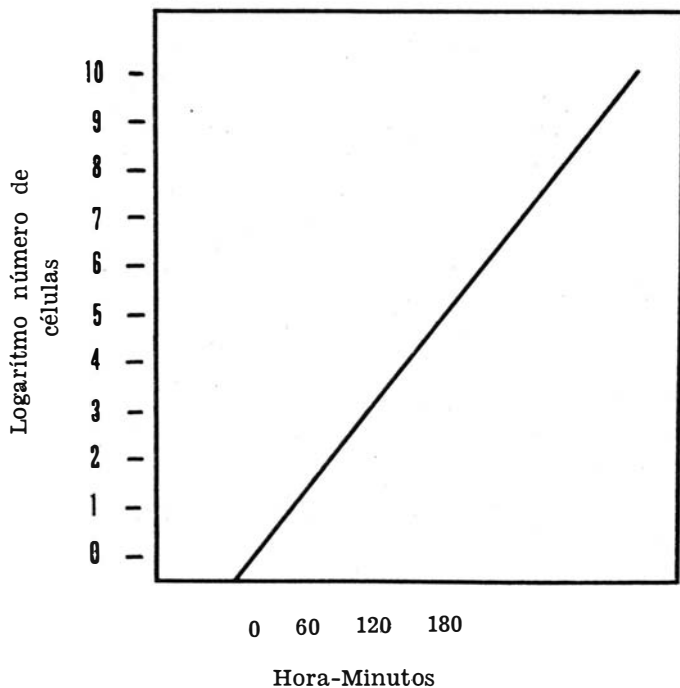


Fig. 1 — Crescimento exponencial de microrganismos. O logaritmo do número de células pela unidade de tempo.

A vida de uma cultura de bactérias é dividida em diversas etapas, sendo estas chamadas de fases de crescimento, as quais podemos demonstrar graficamente através de uma curva. Fig. 2.

Os microrganismos ao se estabelecerem em um meio favorável sofrem uma adaptação e ajustamento às condições do meio. Durante esta fase, não há qualquer aumento sobre o número original. O tempo de duração desta fase depende da natureza do microrganismo e da temperatura, podendo ser de duas ou três horas. Esta fase é a Lag Fase, representada pelo segmento A-B da Fig. 2.

Após a Lag Fase, o número de microrganismos aumenta exponencialmente com o tempo, e caracteriza-se pela taxa máxima de multiplicação das bactérias. Essa taxa varia de acordo com a espécie, meio de cultura, temperatura de incubação e aeração. O logaritmo do número de células existentes dividido pelo tempo, guarda uma relação restrita. Esta fase é a Fase Exponencial representada pelo segmento C-D da Fig. 2.

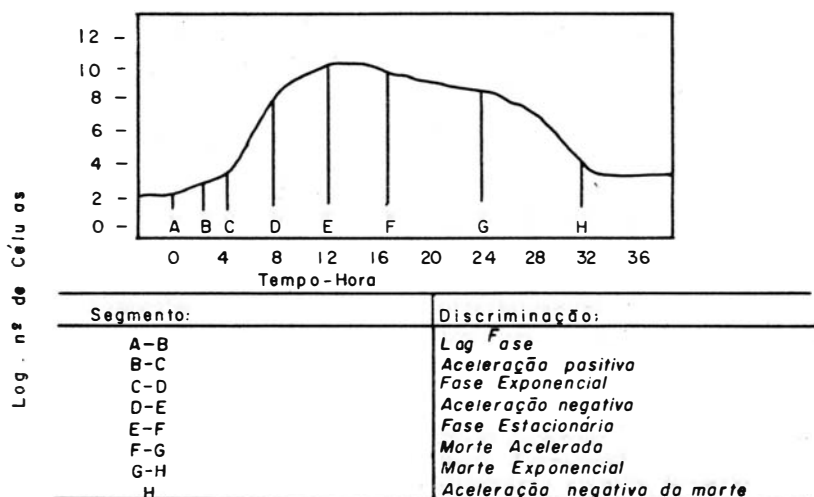


Fig. 2 — Ciclo de vida de uma cultura bacteriana. Logaritmo do número de células pela unidade de tempo.

Por estudos feitos, notou-se que uma cultura microbiana tem seu poder de reprodução auto-limitado depois de certo período de tempo. Esta auto-limitação é devido a fatores como: escassez de nutrientes essenciais, desequilíbrio iônico e aumento de toxinas. Logo após a fase exponencial, o número de microrganismos permanece constante, isto é, há um equilíbrio entre a morte e reprodução das bactérias. As bactérias que possuem capacidade de formar esporos podem perpetuar-se indefinidamente. Esta fase é a máxima estacionária e está representada graficamente pelo segmento E-F da Fig. 2.

A esta fase, segue a fase de morte, em que o aumento progressivo da taxa de mortalidade vai ocasionar um declínio e depois morte da cultura microbiana. A morte dos microrganismos também é exponencial, até a esterilidade; no entanto, o desvio desta é comum, e um certo número de bactérias continuam a viver por um certo tempo. Isto pode ser explicado pelo "canibalismo" — as sobreviventes alimentam-se das substâncias nutritivas resultantes da decomposição dos microrganismos mortos. Esta fase está representada graficamente pelo segmento G-H na Fig. 2.

Quando uma cultura microbiana está em contacto com um agente esterilizante, o número de células decresce de tal maneira

que o logaritmo do número de sobreviventes a qualquer tempo, guarda uma relação restrita, representa na Fig. 3, descendo em linha reta.

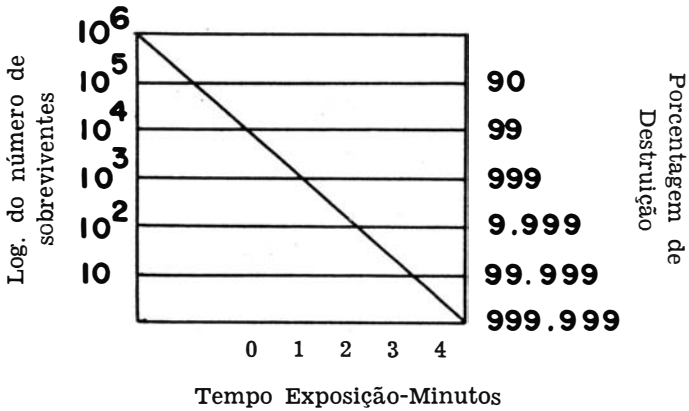


Fig. 3 — Curva de sobreviventes. Número de sobreviventes pelo tempo de exposição ao agente destrutivo.

2.2 Conceito de morte

Morte microbiana é um conceito estatístico. A morte somente pode ser identificada através do número de sobreviventes após contacto com o agente destrutivo. Porisso, somente poderemos considerar como morte bacteriana, quando inoculamos em um meio de cultura conveniente e sujeito a ambiente ótimo de crescimento, um microorganismo e este é incapaz de se reproduzir. Somente através desse critério prático podemos considerar morto um microorganismo. Aplicado a uma célula individual, morte representa uma cessação irreversível dos processos essenciais para crescimento e reprodução.

Deve-se levar em grande consideração as condições em que esses testes forem feitos, pois a morte de uma célula pode ser causada por inúmeros agentes. O destino da célula depende da sua reserva inerente e sua capacidade de adaptação aos diversos graus de nocividade. Podemos ver na Fig. 2 no segmento H — que a linha gráfica não chega a zero.

2.3 Destruição térmica

Levando em consideração que a temperatura de crescimento das bactérias varia de -5°C a 80°C, a exposição em temperaturas de

gráu mais elevado ocasiona rápida morte dos microrganismos com excessão dos esporos.

O que vai determinar a temperatura de destruição (desnaturação) de cada bactéria é a labilidade térmica de suas proteínas e ácidos nucleicos. Geralmente é de 50°C a 90°C.

O mecanismo de morte ainda não é bem conhecido, mas existem diversas teorias:

1. Tradicional: a morte bacteriana é estritamente relacionada a alterações de proteína envolvendo algumas mudanças protoplasmáticas irreversíveis na célula bacteriana.

2. A morte é devida a inativação de enzimas vitais ou algum sistema enzima-protéico da célula.

3. Mais recentemente: o conceito de morte bacteriana pela ação do calor é atribuída a desnaturação ou coagulação de uma proteína que contenha a estrutura genética da célula. Este efeito está intimamente relacionado com a morte da célula.

LEWTH, S., (1890) e BAKER, H. A., (1933-34) provaram que a proteína coagula a temperatura mais baixa, quanto maior for a umidade. Esse fenômeno é explicado com base em que todas as reações químicas, incluindo coagulação proteica, são catalizados em presença de água. Ver Fig. 4.

Matéria	Quantidade de água	Temperatura de Coagulação
PROTEINA +	50%	56%
	25%	74 °C a 80 °C
	18%	70 °C a 90 °C
	6%	145 °C
	0%	160 °C a 170 °C

Fig. 4 — Experiência de LEWTH e BAKER.

A desnaturação, segundo Chick e Martin, (1910) é uma reação monomolecular com água, isto é, a proteína bacteriana existe em dispersão num estado coloidal; quando sujeita a qualquer ação microbicida como calor úmido, álcool ou fenol, as proteínas se coagulam, (precipitam) e perdem a sua função. Poderemos fazer uma analogia com o ovo; quando cru e sujeito ao calor se precipita, e torna-se duro.

Quando a exposição ao calor não é prolongada suficientemente, a bactéria restabelece as condições em que a sua proteína é estável, voltando a ter as mesmas características de antes da exposição ao agente destruidor. Isto chamamos de desnaturação reversível.

Quando a exposição ao calor é prolongada, não há restauração das condições nas quais a proteína é estável. As reações envolvendo desnaturação são extremamente complexas e pouco compreendidas.

A resistência dos microrganismos a agentes destrutivos formam a base de todos os meios de esterilização. O nosso conhecimento atualmente dos "porquês" e "como" algumas células são mais resistentes, ainda é muito limitado. Sendo assim, temos de dar muita importância ao complexo mecanismo celular responsável pelo restabelecimento das condições de sobrevivência, da célula. Existem três possibilidades segundo Wyss (1957), quando a influência nociva atinge o sistema celular:

1. O sistema rompe e o organismo morre ou falha na capacidade de produzir descendentes.
2. O sistema evolui com resistência.
3. O sistema muda, por auto-acomodação temporária ou permanente.

Tanto os vírus como as formas vegetativas, têm o seu limite de resistência ao calor variando desde 50°C em exposição ao vapor aquecido, até 150°C em exposição ao calor seco. No entanto, entre os vírus, existe maior variação entre as temperaturas letais de acordo com os diferentes tipos de vírus.

Os organismos vivos mais resistentes são os esporos. O processo de vida continua em taxa mínima, contendo uma grande quantidade de enzimas ativas que possibilitam a transformação da célula em estado latente em forma vegetativa em curto período de tempo. Exemplo: esporos de *Anthraxis* secos, foram encontrados viáveis depois de seis anos.

3. *Princípios de esterilização por vapor*

Vapor aquecido sob forma de vapor saturado sob pressão é o meio mais seguro de destruição de todas as formas vivas microbianas. O poder de ação está baseado em dois fatores: umidade e calor:

Vantagens:

1. Aquecimento rápido e boa penetração nos tecidos;
2. Destruição das bactérias mais resistentes (esporos) em breve intervalo de tempo;
3. Fácil avaliação do desgaste do material;
4. Não há residuo tóxico durante o processo de esterilização;
5. Agente esterilizante mais econômico.

Limitações:

1. Eliminação incompleta de ar da autoclave ocasiona diminuição da temperatura e impede a esterilização. O ar não permite a expansão do vapor.

2. Qualquer defeito de aparelho, ou uso incorreto pode acarretar super aquecimento do ar e diminuição do poder microbicida.

3. Método impróprio para esterilização de óleos, anidros, pós e graxas.

Para o bom conhecimento da esterilização é necessário compreender as propriedades físicas e térmicas em que se baseiam a produção e controle do calor.

3.1 *Calor e temperatura*

Calor é uma forma de energia que está relacionada com o movimento das moléculas ou átomos de um corpo. Poderia ser interpretada como a energia mecânica resultante desta movimentação.

A temperatura seria a percepção sensitiva de calor ou frio, logo a temperatura mede a intensidade do calor segundo uma escala escolhida de Fahrenheit ou Celsius.

Quando existe diferença de temperatura entre dois objetos ou entre o objeto e o meio, o calor é transferido do de maior calor para o de menor, analogamente ao escoamento de líquidos que é do ponto de maior pressão ou de menor pressão. A quantidade de calor transmitida e a velocidade de transmissão do calor de um objeto quente a outro frio, vai depender da diferença de temperatura entre eles e o tipo de material de que é constituído.

Nessa transferência de calor é que está baseada a esterilização, pois existe uma troca de energia entre o agente esterilizante e o objeto externo ou receptor de calor.

Existem três métodos pelo qual o calor pode ser transferido:

a) *condução*: transferência por contato íntimo, por impacto molecular;

b) *Convecção*: transferência do calor pela circulação do próprio gás ou líquido (só gases e líquidos);

c) *radiação*: transferência de calor de um objeto a outro sem o aquecimento do espaço entre os dois.

3.2 Pressão atmosférica e pressão diferencial

Sendo a pressão uma propriedade fundamental ao se trabalhar com uma substância, (vácuo, pressão atmosférica e pressão diferencial), deve ter influência direta no comportamento de um gás, vapor ou líquido, quando estes estão encerrados em uma autoclave.

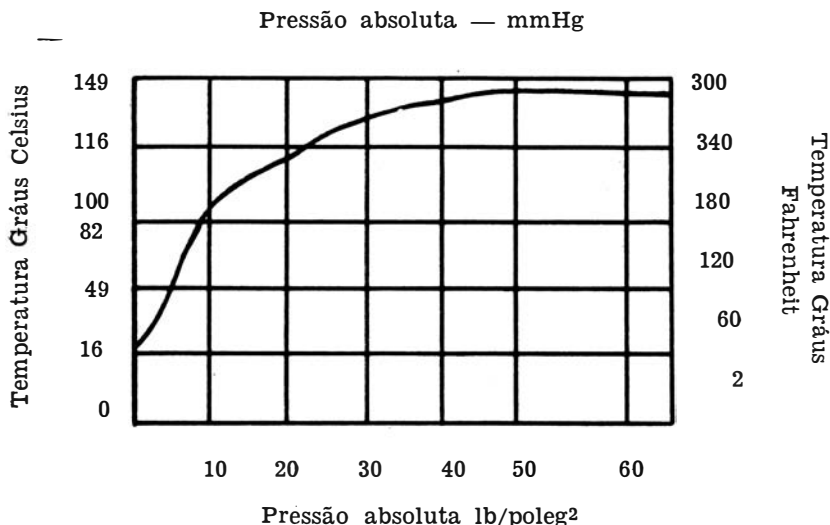
a) *Pressão atmosférica*: Devido as suas variações em relação a altitudes, temperatura ambiente, ventos, etc., deve ser adotado de maneira a não ser influenciada por estes.

$$1 \text{ at} = 15 \text{ lb/pol}^2 = 1 \text{ Kg/cm}^2 = 760 \text{ mm/Hg}$$

b) *Pressão diferencial*: mede a diferença entre a pressão interna de uma câmara e a pressão atmosférica, quando existe gás ou líquido em forma de vapor inserido nesta. Ela pode ser medida por libras por polegadas ao quadrado ou atmosferas.

3.3 Vapor saturado

Vapor em estado de saturação está no limiar entre as duas fases de agregação, líquida e gasosa. O vapor saturado, por ter volume constante e baseando-se na lei de Charles, não pode aumentar ou diminuir a temperatura sem que haja um aumento ou diminuição respectiva da pressão e vice-versa, isto é, a pressão é diretamente proporcional a temperatura quando o volume é constante. Ver Fig. 5.



Cada temperatura corresponde uma pressão.

TEMPERATURA \ PRESSÃO	ATMOSFERA	1B/POL. ²
100 °C	0	0
121 °C	1	15
126 °C	1.35	20
132 °C	1.80	27

Fig. 5 — Relação entre a temperatura e pressão do vapor saturado.

3.4 Remoção de ar da autoclave.

A remoção de ar da autoclave é feita por meio de vácuo parcial. Uma completa evacuação de ar de um compartimento, define um vácuo perfeito.

Quando não há remoção total ou pelo menos de 93% de ar, podem acontecer duas coisas:

1. O ar restante não permite a entrada de vapor na sua área.
2. Poderá haver super aquecimento do ar, sem umidade, o que não matará microrganismo e queimará o material.

3.5 Efeito da gravidade em uma autoclave

Sabendo-se que o ar quente é mais leve que o frio, podemos dizer que o vapor ao entrar, sob pressão, na câmara interna da autoclave, irá comprimir o ar frio para a parte inferior da câmara interna; devido a isto, a válvula de expulsão do ar ou mistura de ar e vapor deve ser colocada na parte inferior da autoclave e contrária a entrada deste vapor.

Geralmente o ar não se mistura com o vapor e quando o faz não se conhece ainda o tempo gasto para tal, por isso há formação de bolsas de ar dentro da autoclave.

Em vista disso é importante considerar certos detalhes em relação a presença de ar na autoclave:

1. O ar reduz grandemente a temperatura máxima do vapor, sendo esta abaixo da do vapor saturado, deixando de obedecer a lei do vapor saturado citada anteriormente.

2. Durante o período normal de esterilização, a temperatura nas partes mais baixas do compartimento vai ser substancialmente mais baixa que nas partes mais altas, devido à diferença de gravidade específica, e resistência da mistura de ar e vapor. Por isso o termometro deve ser colocado em contato com a válvula de escape.

3. A temperatura máxima só pode ser alcançada após um tempo muito prolongado de exposição, ocasionando um retardamento na penetração de vapor no material poroso.

3.6 *Condensação e calor latente*

Calor latente é o calor necessário para converter uma unidade de água em vapor, na mesma temperatura. Exemplo: Uma grama de água na temperatura de 100°C necessita 524 calorias para passar a vapor nesta mesma temperatura.

O processo de condensação faz uso do calor latente do vapor. Logo 1 g. de vapor ao se condensar desprende 524 calorias (que estavam armazenadas no vapor).

3.7 *Contacto direto com o vapor*

Toda a esterilização por vapor é baseada no contato direto do vapor com todo o material, inclusive fibras ou partículas no material de densidade, e o processo de condensação se realiza nesse nível.

Os materiais de superfície também são sujeitos ao mesmo processo de condensação. Nesses objetos não há penetração através do material e o metal frio condensa o vapor até que o instrumento aquecido atinja a temperatura do vapor. Esse processo facilita a esterilização, sendo o tempo de exposição bem menor.

4. *Mecanismo de esterilização por vapor*

O mecanismo de esterilização por vapor se baseia em todos os princípios já citados; no entanto, os dois princípios mais importantes são o calor latente e o contacto direto com o vapor ou umidade.

O vapor sob pressão penetra nas substâncias porosas e leva consigo calor.

Esse vapor ao entrar em contacto com a superfície fria do material, se condensa libertando o calor latente. Este calor é o responsável pela desnaturação dos microrganismos que lá existem.

Após a condensação do vapor, devido ao constante contacto com vapor e temperaturas altas, a água formada tornará a voltar ao estado gasoso e o calor latente será absorvido novamente a fim de possibilitar essa mudança de estado. Essa troca de calor entre o meio e o objeto a ser esterilizado é a base da esterilização. Para que isso seja possível, há necessidade de se estabelecer padrões no preparo e acondicionamento do material a ser esterilizado, principalmente no que diz respeito ao tamanho do pacote de material de densidade. Este deve ser no máximo de 55cm x 33cm x 22cm para que possibilite o contacto e troca de vapor no tempo estipulado. Sendo material de superfície, esta preocupação não é necessária, pois facilmente o vapor entrará em contacto com a superfície do material.

Para que se obtenha uma esterilização a vapor existem componentes básicos que são necessários; estes podem ser acrescentados de outros dependendo da evolução tecnológica ou aperfeiçoamento dos aparelhos, mas sem eles não haverá esterilização a vapor. São eles:

- a) Câmara resistente à pressão, com porta de segurança.
- b) Válvula de entrada de vapor saturado.
- c) Saída de ar.
- d) Válvula que permita a saída de ar, ar misturado com vapor, e retenção de vapor puro.
- e) Termometro colocado junto à Válvula de escape do vapor.

O mecanismo de funcionamento de uma autoclave, não será por nós abordado, por sabermos que cada firma construtora de autoclaves tem a sua maneira de seguir esses princípios aqui citados.

RESUMO

O microrganismo é um ser vivo que tem suas leis de crescimento e morte. Como todos os seres vivos, sua luta pela sobrevivência é grande e muitos são os meios com que a natureza os dotou para preservarem sua espécie diante de agentes nocivos. A sua resistência ao calor e umidade varia de acordo com as diferentes espécies, o que dificulta a sua destruição. Muitos foram os estudiosos que pes-

quizarem os meios pelos quais podem ser destruídos e conseguiram estabelecer princípios e normas a serem seguidos a fim de provocar a morte dos microrganismos pelo calor e umidade.

Para se obter uma esterilização pelo vapor, é condição "sine qua non" que os princípios como de calor latente, contacto com o vapor, pressão atmosférica, Lei de Charles e outros sejam seguidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHICK, H., and MARTINS, C. J. apud PERKINS, J. *Principles and methods of sterilization in health sciences* 5^a ed. Illinois, Charles C. Thomas, 1969, p. 66.
- FLITTER, *An introduction to physics in nursing* Saint Jonis, Mosby, 1962.
- FROBISHER, M. *Microbiologia médica* 3.^a ed. Barcelona, Salvat, 1964.
- LEWITH, S. apud PERKINS, J. *Principles and methods of sterilization in health sciences* 5.^a ed. Illinois, Charles C. Thomas, 1969, p. 286-287.
- MATTOS, L. U. *Princípios de física e química aplicados à enfermagem* Rio de Janeiro, ABEn, 1970.
- MOORE, W. J. *Físico-química* Rio de Janeiro, ao Leitor Técnico e Ed. da USP, 1968.
- PERKINS, J. *Principles and methods of sterilization in health sciences* 5.^a ed. Illinois, Charles C. Thomas, 1969.
- WYSS, O apud PERKINS, J. *Principles and methods of sterilization in health sciences* 5.^a ed. Illinois, Charles C. Thomas, 1969, p. 74.