

Estudo sôbre a ação do parafórmico nas
bactérias em forma esporulada

Sonia Della Torre Salzano *

Introdução

Desde aluna do curso de graduação sentimos dificuldade no estudo de esterilização por agentes químicos, devido à diversidade de opinião dos autores quanto à concentração do agente a ser usado e quanto ao tempo de exposição do material ao agente esterilizante. Naquela altura conhecíamos apenas o Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP, que só usa tais agentes quando absolutamente necessário. Posteriormente, no curso de pós-graduação, visitamos o centro cirúrgico de vários hospitais e a nossa perplexidade aumentou ao verificarmos o largo emprêgo desses agentes e a diversidade de rotinas entre um e outro hospital quanto àqueles dois aspectos, de concentração do agente e de tempo de exposição. Chegamos à conclusão de que possivelmente os hospitais estavam usando em cirurgia, como estéril, material apenas de sinfetado.

Convém aqui lembrar que na desinfecção há destruição somente dos germes vegetativos, ao passo que na esterilização são destruídos tôdas as bactérias, inclusive os esporulados.

* Instrutora de Enfermagem em Centro Cirúrgico da Escola de Enfermagem da USP.

Os dois fatores combinados - não coincidência de opinião entre os autores de livros e artigos sôbre esterilização e a diversidade de usos dos agentes químicos nos hospitais - nos levaram a fazer êste estudo.

Para isso recorremos à boa vontade da Johnson & Johnson do Brasil que nos abriu as portas de seu laboratório, a fim de que tal estudo pudesse ser realizado. Contamos com a cooperação do responsável pelo seu Laboratório de Sorologia, que, além de ceder o material necessário, nos orientou na planificação do trabalho e na sua execução técnica.

O presente artigo contém o resultado dêsse estudo.

Generalidades sôbre esterilização

São dois os meios empregados para a esterilização de material cirúrgico:

- meio físico: vapor d'água sob pressão (autoclave) e calor sêco (estufa),

- meio químico: agentes químicos usados numa determinada concentração.

O tempo de exposição do material cirúrgico ao agente esterilizante varia segundo o meio e, quando empregado o meio químico, segundo o agente usado e a sua concentração.

As bactérias que contaminam o material cirúrgico podem apresentar-se na forma vegetativa e esporulada.

As bactérias, na forma vegetativa, são pouco resistentes aos meios desfavoráveis à sua sobrevivência; qualquer bactéria, na forma vegetativa, é destruída pela água em

ebulição e por certos agentes químicos, em determinada concentração, num período de exposição de 30 minutos.

As bactérias na forma esporulada são extremamente resistentes; para destruí-las por meio físico é necessário empregar o vapor d'água sob pressão ou o calor sêco; a água em ebulição não as destrói, seja qual for o tempo de exposição.

Os agentes físicos são usados mais largamente devido à sua eficiência comprovada. Há entretanto certo tipo de material que não pode ser exposto àqueles agentes por se estragarem quando em contacto com umidade ou com temperaturas elevadas, tais como dermatômetro elétrico, lâminas de bisturi, pontas de bisturi elétrico, instrumentos com lentes, etc. Na esterilização deste material precisamos empregar agentes químicos na forma gasosa, entre os quais o mais popular é talvez o paraformico.

Nos hospitais de nosso conhecimento o paraformico é usado nas mais variadas concentrações, sendo de 18 horas o período de exposição.

No levantamento bibliográfico que fizemos sobre a ação do paraformico só encontramos referências sobre o seu poder como agente de desinfecção. Aliás em várias referências aparece o termo esterilização, mas a leitura desses textos nos levou à conclusão de que a terminologia era inadequada e de que se tratava na realidade de desinfecção e não de esterilização.

O paraformico e outros derivados do metanal

Paraformico é a forma cristalizada do metanal.

O metanal é um gás incolor, de cheiro forte e irritante, muito solúvel n'água, cujas constantes físicas são : peso molecular 30, ponto de fusão 92°C, densidade 0,81.

A solução aquosa do metanal a 40% recebe no comércio o nome de formol ou formalina. Quando em solução o metanal se polimeriza facilmente em presença do ácido sulfúrico (H_2SO_4), convertendo-se em massa cristalina, tri-oximetileno ($H-CHO$)₃, que constitui a parte principal do agente químico. É o aldeído fórmico, comercialmente apresentado sob a forma de pastilhas e denominado parafórmico.

O metanal tem a propriedade de insolubilizar albuminóides (gelatina, gema de ovo, etc.) e de convertê-las em massa dura.

Objetivo dêste estudo:

O objetivo dêste estudo foi verificar em que concentração e em que período de exposição o parafórmico esteriliza material cirúrgico.

Material utilizado

As bactérias por nós utilizadas neste estudo foram o B. Subtilis e o C. Sporógenes, ambos em forma esporulada. A nossa escolha recaiu sobre êstes dois tipos por serem frequentemente encontrados em material cirúrgico e ambos de difícil destruição.

Além das culturas bacterianas utilizamos mais o

seguinte material:

- pastilhas de 0,5 mg de aldeído fórmico (para fó r m i c o);
- caixas plásticas de 160cm³ com tampas ajusta veis;
- caixa metálica de 800 cm³ com tampa ajustável ;
- lâminas de bisturi;
- meios de cultura: Tioglicolato e Eugenbroth;
- pinças anatômica;
- compressas de gase para forrar as caixas;
- placas de Petri;
- esparadrapo para vedar as caixas

Preparo do material e técnica empregada

O *B. subtilis* foi semeado em meio da Eugenbroth e o *C. sporógenes* em meio semi-sólido de Tioglicolato. Os tu bo s com a suspensão, após semeadura, foram incubados a 37°C durante 7 dias.

Para destruição das formas vegetativas foram os tubos posteriormente colocados em banho-maria durante 7 mi nu to s à temperatura de 80 ° C.

A fim de verificar a viabilidade dos esporos foi feita a passagem de uma pequena quantidade das suspensões de

Eugenbroth + *B. subtilis* e o Tioglicolato + *C. sporógenes* para novos meios de cultura esterilizados. Depois de 24 horas já havia grande quantidade de *B. subtilis* e *C. sporógenes* nos respectivos meios de cultura.

De posse da prova de que tínhamos boa cultura , tanto de bacilo como do clostridium, contaminamos lâminas de bisturi com *B. subtilis* e as colocamos numa placa de Petri esterilizada; repetimos a operação para o *C. sporógenes*. Estas placas foram conservadas à temperatura ambiente para que o esfregão recebido pelas lâminas secasse.

De cada placa de Petri foi retirada uma lâmina contaminada e transferida para um tubo contendo Tioglicolato, a fim de servir como testemunho da contaminação pela bactéria. Depois de 72 horas havia crescimento nos dois tubos, provando-se , desta forma, a contaminação das lâminas.

Passamos então à fase das experiências sobre esterilização.

Primeira experiência com paraformico

O plano foi o seguinte: utilizar as concentrações de 3,4, 5 e 6 grs. de paraformico (respectivamente 1,9 - 2,5 - 3 e 3,7%) e, de acôrdo com a literatura especializada e o uso generalizado nos hospitais, manter o tempo de exposição de 18 hs. No fundo de 8 caixas (160cm³) foram colocadas pastilhas de paraformico nas concentrações acima referidas, sendo duas caixas para cada concentração.

Tomando os cuidados habituais de assepsia foram transferidas, das placas de Petri para as caixas com paraformico, duas lâminas contaminadas com *B. subtilis* para cada concentração; o mesmo foi feito com o *C. sporógenes*. Fechadas as caixas e vedadas com esparadrapo foram estas conservadas à temperatura ambiente.

Após 18 horas de exposição foram as lâminas retiradas das caixas e colocadas em tubos de ensaio contendo Tioglicolato, a fim de ser feita a prova se as lâminas haviam sido esterilizadas ou não.

O meio de cultura escolhido foi o Tioglicolato por dois motivos importantes: primeiro por ser êle um ótimo meio de cultura para o desenvolvimento do B. subtilis e do C. sporógenes e segundo, por ter ação neutralizante sobre o paraformico. É de suma importância essa neutralização do paraformico, pois, quando êle não é neutralizado, continua agindo no meio de cultura; mesmo no caso do material não estar esterilizado os microorganismos não se desenvolvem, dando assim um falso resultado.

Os meios de cultura com as lâminas foram incubados a 37° C.

Após 72 horas foi realizada a primeira leitura que revelou o seguinte resultado.

Concentração de paraformico	1, 9% (3g)		2, 5% (4g)		3% (5g)		3, 7% (6g)	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Tipos de germes								
<u>B. subtilis</u>	+	+	+	+	+	+	+	+
<u>C. sporógenes</u>	+	+	-	-	-	-	-	-

Como vemos o B. subtilis neste caso se mostra mais resistente que o C. sporógenes. Em todos os meios de cultura que continham as lâminas contaminadas anteriormente com o B. subtilis houve crescimento, portanto êle resistiu à ação do paraformico a essas concentrações. O C. sporógenes cresceu nos meios de cultura cuja lâmina anteriormente ficou exposta à concentração de 1, 9% e não cresceu nas demais, o que nos mostra a destruição dos C. sporógenes a partir de 2, 5% de concentração de paraformico. Este resultado não se

alterou nas leituras de seis dias subsequentes. Conclusão: O material não foi esterilizado nessas concentrações de paraformico no caso do B. subtilis e foi esterilizado nas concentrações a partir de 2, 5% no caso do C. sporógenes.

Com êste resultado verificamos que é variável a resistência dos dois tipos de esporos. Como em geral, ao lidarmos com material a ser esterilizado, não sabemos qual o tipo de contaminação, não podemos recomendar as concentrações acima utilizados.

Por êste motivo partimos para uma segunda experiência.

Segunda experiência com paraformico

O preparo do material e a técnica usada foram os mesmos da experiência anterior.

Aumentamos a concentração do paraformico para 5% (8g) em 3 caixas e 6% (10g) em outras 3, para cada tipo de bactéria.

Os meios de cultura foram incubados a 37°C e, a pós 72 horas, foi o seguinte o resultado da leitura:

Concentração de para <u>for</u> mico	5% (8g)			6% (10g)		
	1	2	3	1	2	3
Tipo de germem						
B. subtilis	+	+	+	+	+	+
C. sporógenes	-	-	-	-	-	-

Esta leitura não se alterou nos 6 dias subsequentes

tes.

Verificamos pois que, no período de exposição de 18 horas, sendo usadas altas concentrações de paraformico (5 e 6 %), à temperatura ambiente, houve destruição dos C. sporógenes mas não do B. subtilis; portanto o material não foi esterilizado.

Partimos então para uma nova experiência.

Terceira experiência com o paraformico -

Como as concentrações de paraformico já haviam sido bastante altas, sem resultado satisfatório, resolvemos lançar mão da combinação do meio químico com um meio físico, o calor seco, em temperatura não muito elevada -50°C -

Utilizamos o paraformico na concentração mais baixa da segunda experiência -5%- . Em uma caixa metálica de 800 cm³ de volume colocamos 40g de paraformico; nestas foram dispostas três lâminas contaminadas com B. subtilis de um lado e três contaminadas com C. sporógenes de outro . A caixa foi colocada na estufa a 50°. A fim de evitar tanto quanto possível o estrago do material, foi usado um período de exposição de apenas duas horas.

Os meios de cultura foram posteriormente incubados a 37°C. O resultado, após 72 horas, demonstrou a destruição total dos esporos.

Repetimos esta experiência 6 vezes, todas com idêntico resultado.

Conclusões

Pelo nosso estudo de laboratório verificamos que o paraformico à temperatura ambiente, em concentrações elevadas, num período de exposição de dezoito horas, não esteriliza material.

Por outro lado verificamos que o paraformico, quando na estufa a 50°C, com período de exposição de duas horas e numa concentração de 5% esteriliza o material cirúrgico. (A essa temperatura de 50°C os materiais elétricos não se estragam).

Sugestões

1 - Todos os hospitais que usam o paraformico , à temperatura ambiente, para esterilização de materiais elétricos, que façam seus testes biológicos para se certificarem se há ou não esterilização.

2 - Quando em dúvida sobre esterilização, a enfermeira deve lançar mão dos testes biológicos, pois são os únicos dignos de confiança até a presente data.

3 - Nunca introduzir um novo processo de esterilização sem testar sua eficiência em testes sucessivos.

Referências Bibliográficas

- BIER, O.G. - Bacteriologia e imunologia. São Paulo, Melhoramentos, 1965.
- CORBETT, C.E. - Elementos de farmacodinâmica. São Paulo, Artes Médicas, 1966.
- HARMER, B. y HENDERSON, V. - Tratado de enferm^uria teórica y practica. México, La Prensa Médica Mexicana, 1965.
- FROBISHER, M. - Microbiologia y patologia para enfermeras. México, Interamericana, 1962.
- HATCHER, R.A. - Useful drugs. Chicago, Medical Association, 1947.
- LOBO, B. - Microbiologia. Rio de Janeiro, Ed. Nacional, s. d.
- MINGÓIA, Q. - Química farmacêutica. São Paulo, Melhoramentos, 1967.
- REDDISH, G.F. - Antiseptics, desifectants, fungicides and chemical and physical sterilization. Philadelphia, Febiger, 1954.
- VALETTE, G. - Manual de farmacodinâmica. Barcelona, Toray Masson, 1966.
- OSOL, A. and FARRAR, G.E. - The dispensatory of the United States of America. 25th. ed. Philadelphia,

Lippincott, 1955.

SALZANO, S. D. T. - Ação do
paraformico sôbre as
bactérias na forma espo
rulada. Revista da
cola de Enfermagem da
USP, 2 (2): , set.
1968.