

**1º Congresso Nacional em
ESTERILIZAÇÃO**

SEC | inevitável mudança

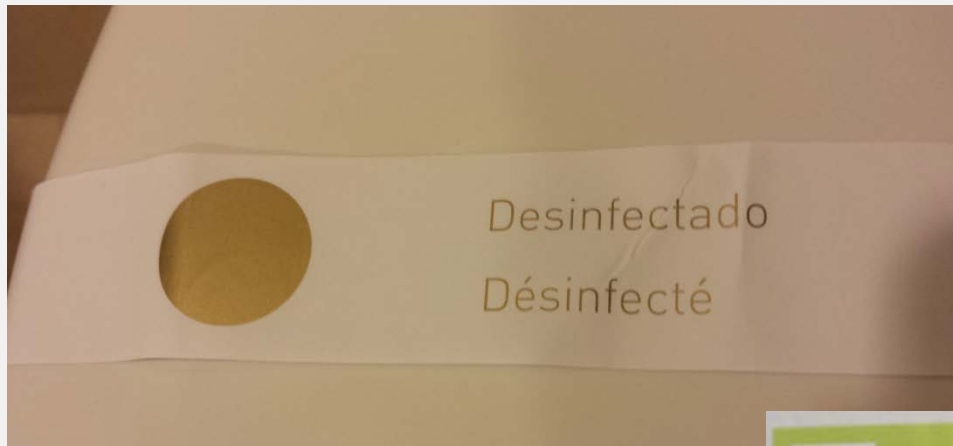


De que falamos quando falamos de Desinfecção, Antissepsia e Esterilização?

Luís Meirinhos Soares

21-10-2016







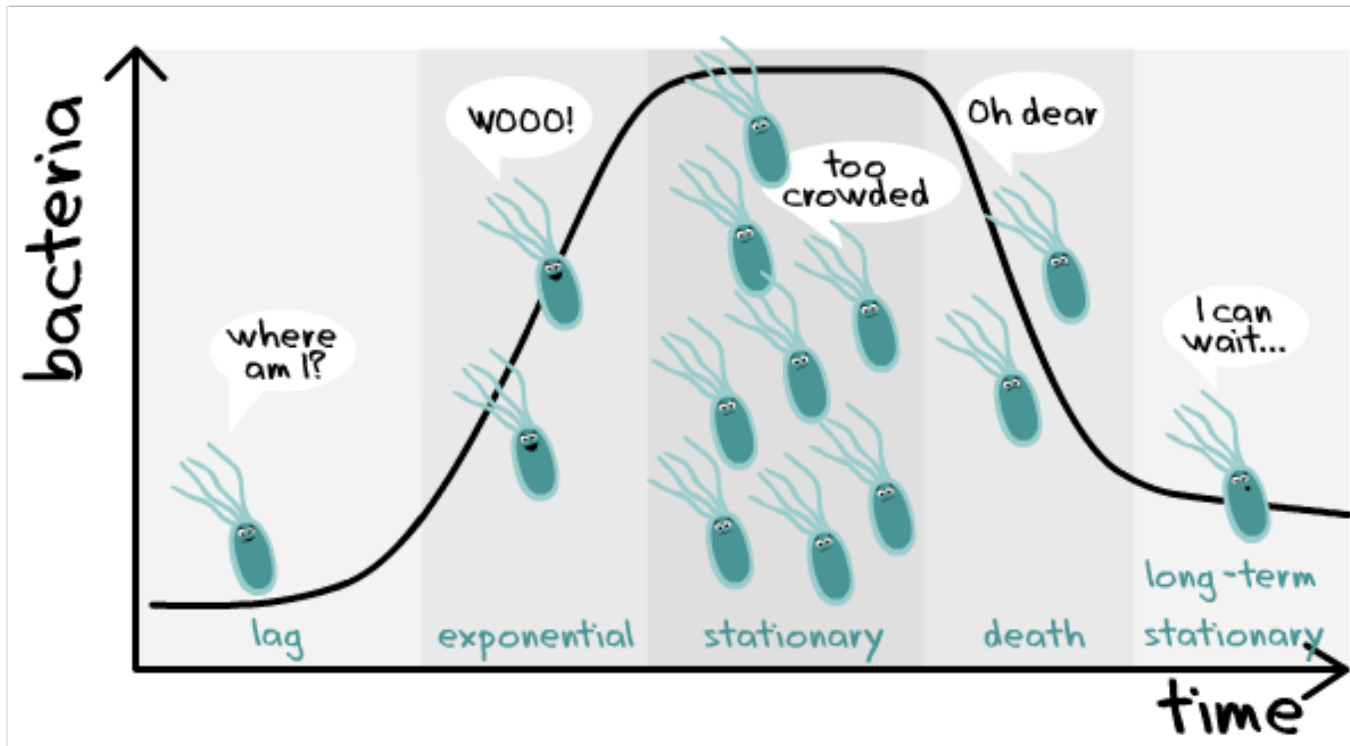
Esterilização, Antissepsia e Desinfecção

1. Comportamento dos Microrganismos
2. Esterilização & Desinfecção
3. Processos de Esterilização
4. SAL - NSE
5. Processos de Desinfecção
6. Selecção de Processo - *Spaulding*
7. Controlo do Processo

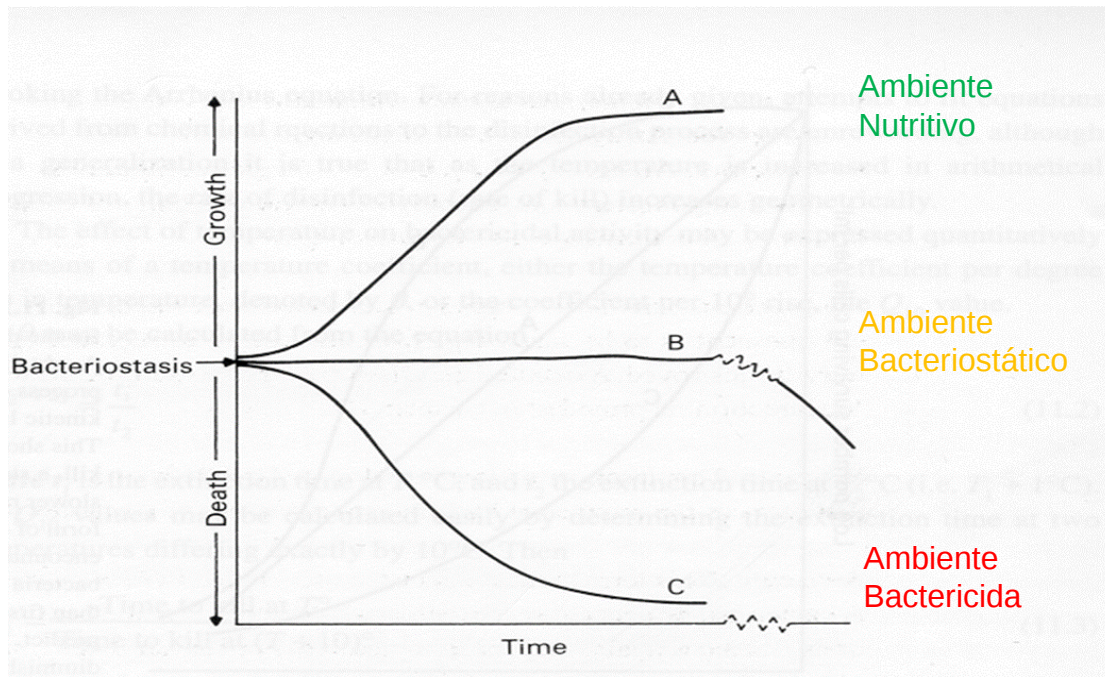
Esterilização, Antissepsia e Desinfecção

- 1. Comportamento dos Microrganismos**
2. Esterilização & Desinfecção
3. Processos de Esterilização
4. SAL - NSE
5. Processos de Desinfecção
6. Selecção de Processo - *Spaulding*
7. Controlo do Processo

1. Cinética do Crescimento Microbiano

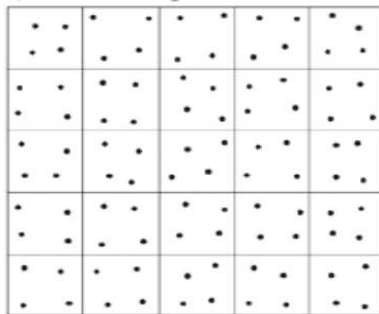


2. Crescimento vs. Ambiente

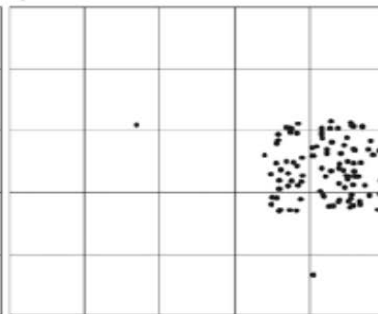


3. Distribuição NÃO-homogênea

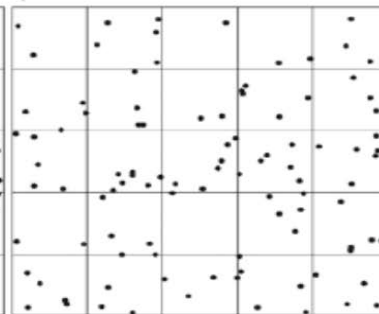
a) almost regular



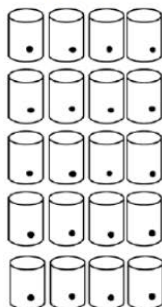
b) one cluster



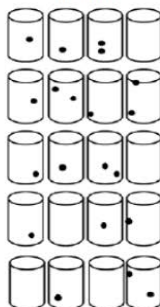
c) random



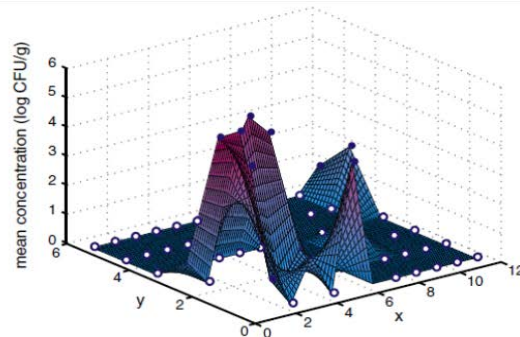
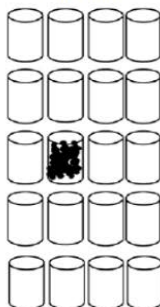
Regular



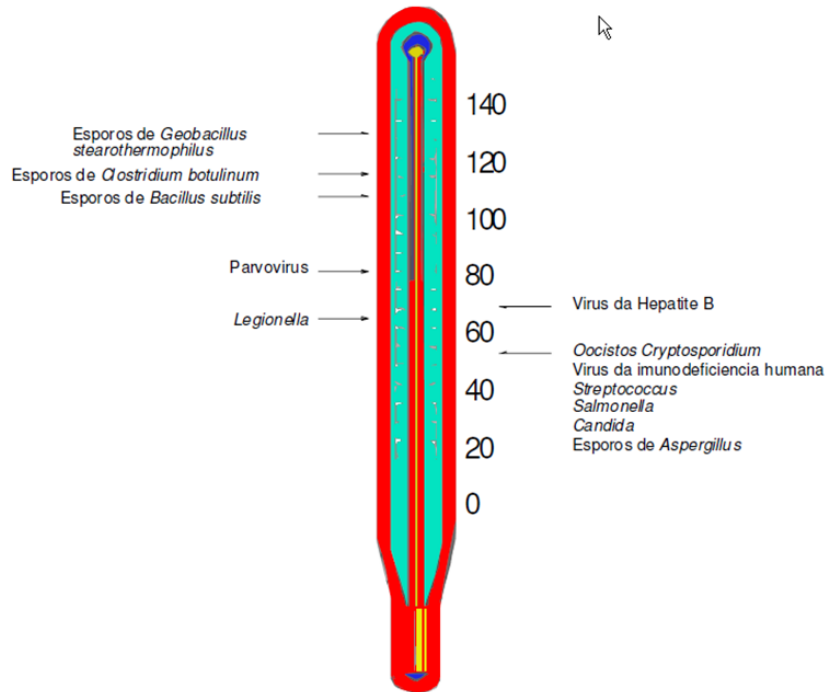
Random



Clustered



4. Distintas Resistências aos Agentes Físicos e Químicos



Temperatura

Esterilização, Antissepsia e Desinfecção

1. Comportamento dos Microrganismos
- 2. Esterilização & Desinfecção**
3. Processos de Esterilização
4. SAL - NSE
5. Processos de Desinfecção
6. Selecção de Processo - *Spaulding*
7. Controlo do Processo

Esterilização & Desinfecção

Esterilização

Processo de destruição ou **eliminação total de todos os microrganismos na forma vegetativa ou esporulada**. Por se tratar de um método probabilístico, a eficácia do resultado final depende do nível de contaminação inicial

Desinfecção:

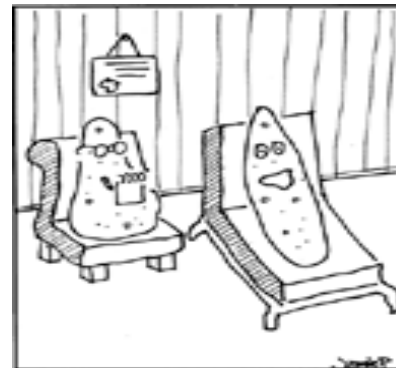
Processo físico (calor, radiação) ou químico (substâncias químicas) utilizado para reduzir a presença de microrganismos viáveis. **Não elimina necessariamente todas as formas vegetativas e pode não afetar as formas esporuladas**

Limpeza

1. Remove resíduos
2. Permite a atuação do agente esterilizante ou desinfetante
3. Previne a formação de Biofilmes

BIOFILME

Comunidade de microrganismos caracterizada pela adesão das células de forma irreversível a um substrato devido à produção de substâncias poliméricas extracelulares (exopolissacáridos).



"I just can't go with the flow anymore."

"I've been thinking about joining a biofilm"

Desinfetantes e Antissépticos

- **Desinfetante**

Substância ou produto químico capaz de reduzir a presença microrganismos de uma superfície (DM). Os desinfetantes são categorizados por níveis de risco, conforme o grau de desinfecção requerido

- **Antisséptico**

Substância ou produto químico capaz de reduzir a presença de microrganismos da superfície da pele ou mucosa.

Processos de Esterilização ou Desinfecção adequados e validados

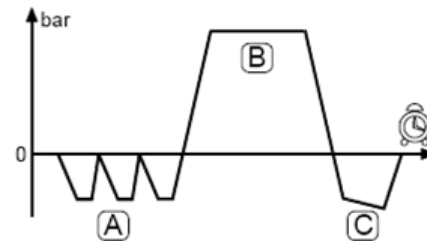
- Pessoal qualificado e convenientemente treinado,
- Utilização de instalações adequadas,
- Utilização de equipamento de produção adequado, (facilmente limpo e esterilizado),
- Respeito pelas precauções necessárias para reduzir o risco de contaminação (biocarga) antes da esterilização,
- Utilização de métodos validados em todas as etapas críticas da produção,
- Monitorização ambiental e controlos em produção.

Esterilização, Antissepsia e Desinfecção

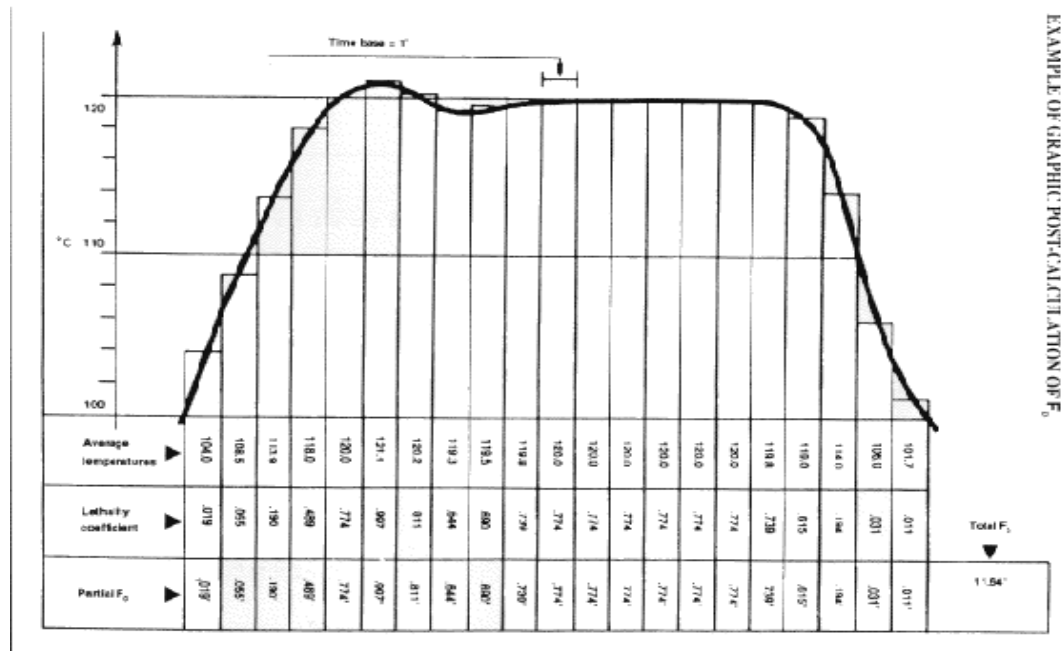
1. Comportamento dos Microrganismos
2. Esterilização & Desinfecção
- 3. Processos de Esterilização**
4. SAL - NSE
5. Processos de Desinfecção
6. Selecção de Processo - *Spaulding*
7. Controlo do Processo

A. Esterilização por calor Húmido

- Em “Autoclave”
- Vapor de água saturado sobre pressão
 - 121°C/15 min.
 - 134°C/4 min.
- Registo de Temperatura/Pressão/Tempo



F₀ - Tempo equivalente de esterilização



$$F_0 = Dt. \Sigma 10^{(T-121)/Z}$$

B. Esterilização por calor seco

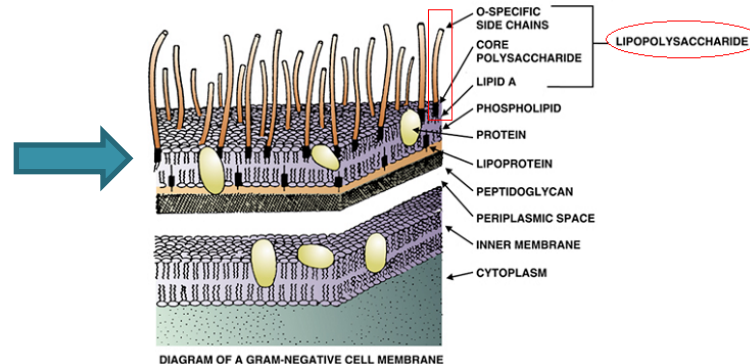
- Geralmente em estufas de ventilação forçada;
- Condições de esterilização: 160°C/ 2h;
- Temperatura / tempo (pressão)



• *Despirogenização*

- Pirogénios (gr. pyrós «fogo» + genos «gerar»)
- Estufa > 220°C/ 2h

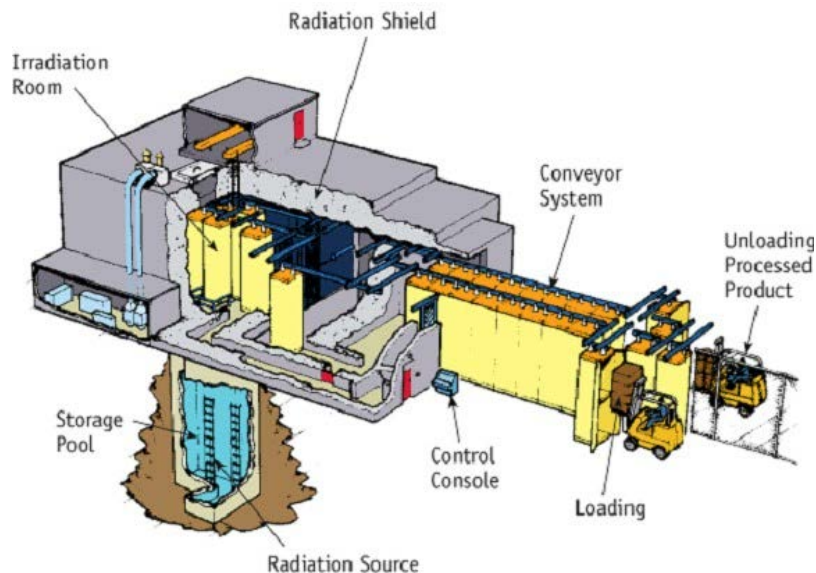
Endotoxinas bacterianas



C. Esterilização por Radiação Ionizante

1. Radiação γ ama ^{60}Co , ^{137}Cs
2. Radiação β eta: feixe de elétrons acelerados
3. Raio-X

- Dose Mínima Absorvida
✓ 25 kGy (*kilogray*)



D. Processos de Redução de Carga Microbiana por Agentes Químicos

- Óxido de Etileno (g)
- Formaldeído (g)
- Ozono (g)
- Ácido Peracético
- Peróxido de Hidrogénio (g, Pl.)

Esterilização, Antissepsia e Desinfecção

1. Comportamento dos Microrganismos
2. Esterilização & Desinfecção
3. Processos de Esterilização
- 4. SAL - NSE**
5. Processos de Desinfecção
6. Selecção de Processo - *Spaulding*
7. Controlo do Processo

Mas... a Esterilidade absoluta não existe - é um conceito probabilístico

*A probabilidade de que uma unidade/embalagem esteja contaminada com microrganismos viáveis e cultiváveis é inferior a uma num milhão
(Sterility Assurance Level = 10^{-6})*

SAL = Sterility Assurance Level ⇔ NSE = Nível de Segurança de Esterilidade

- Não se pode garantir, nem verificar, que todas as unidades de um lote estão estéreis;
- Indica o Grau de segurança com o qual um conjunto de unidades é tornado estéril
- Probabilidade da existência de uma unidade não estéril nessa população

Nível de Segurança de Esterilidade = 10^{-6}

Figure 1. Sterility Assurance Levels for Heat, Gas, or Chemicals.

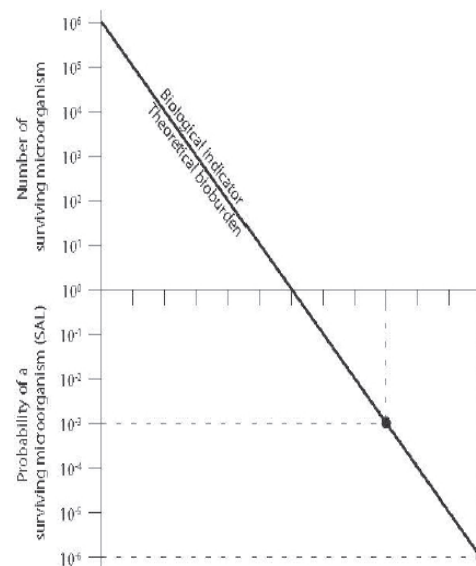
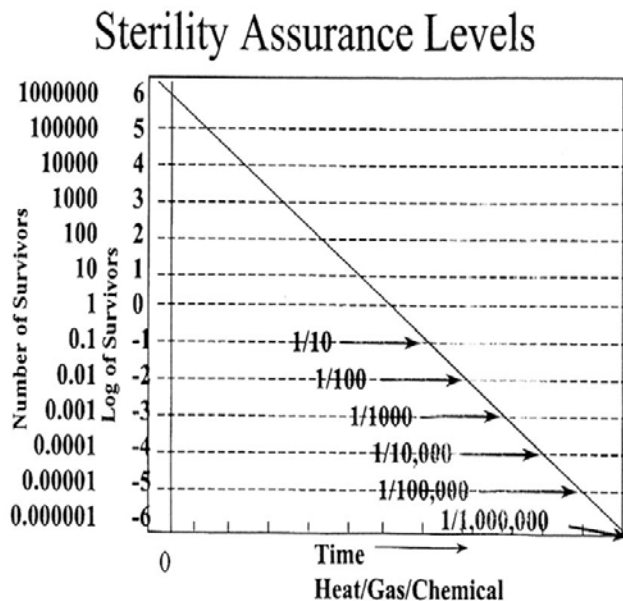


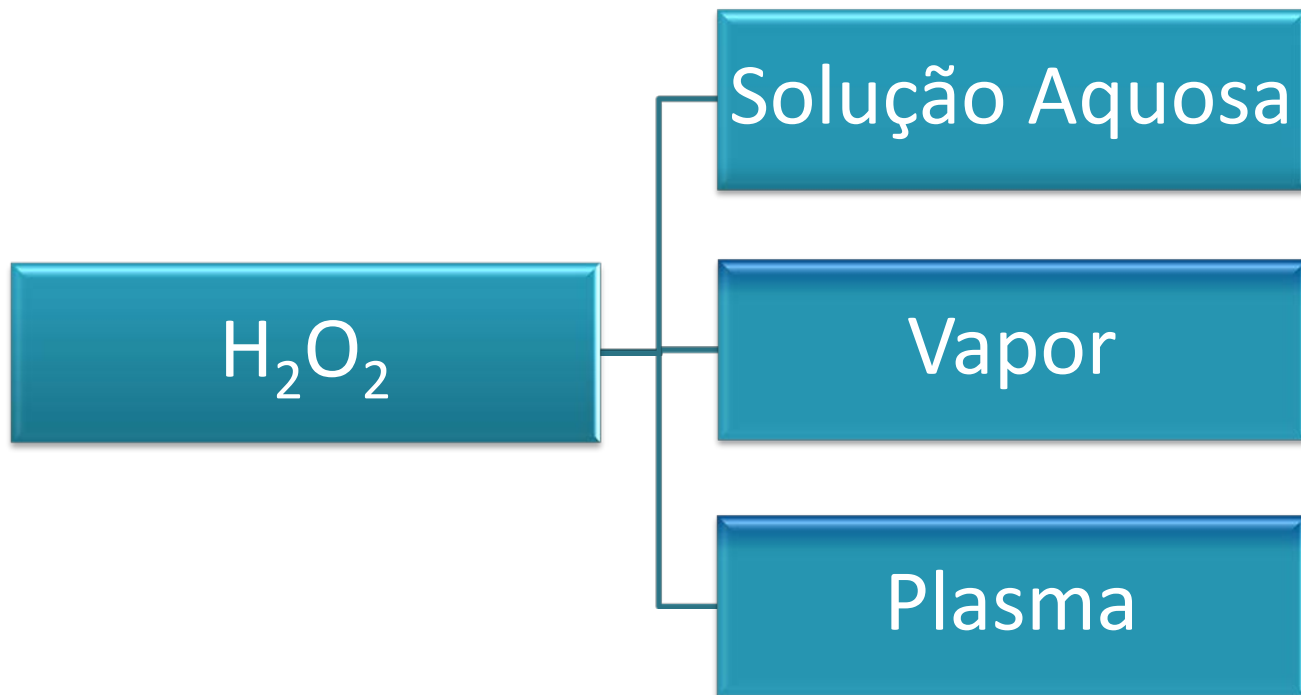
Figure 1. Semilog plot of theoretical microbial inactivation and the probability of a surviving microorganism (SAL). The straight-line relationship reflects the assumption that a homogeneous population of microorganisms subjected to a sterilizing agent decreases exponentially with time at a uniform rate.⁴

Esterilização

NSE 10^{-6}

Desinfecção

Esterilizante e/ou Desinfetante?



Processos de Esterilização Normalizados

SAL 1×10^{-6}

- A. Descritos em Normas (e.g. *ISO/TC 198 - Sterilization of health care products*)
- B. Caracterizáveis por parâmetros de processo:
 - Tempo, Temperatura, Pressão, Humidade, Concentração de Agente Químico, Dose de radiação)
- C. Independentes de Marca/Modelo Específico de Equipamento/Fabricante

Processos Normalizados

- A. Calor Húmido: ISO 17665-1:2006**
- B. Calor Seco: ISO 20857:2010**
- C. Radiações ionizantes: Gama (γ) Beta (β): ISO 11137-1:2006**
- D. Óxido de Etileno: ISO 11135:2014**
- E. Formaldeído + vapor: ISO 25424:2009**

Processos em Normalização (SAL 10-?)

- Peróxido de Hidrogénio (Vapor, Plasma, etc.)
- Ácido Peracético
- Ozono (+ Peróxido de Hidrogénio)
- Dióxido de azoto

- Processos sem Norma específica

ISO 14937 Sterilization of medical devices - General requirements for characterization of a sterilizing agent and the development, validation and routine control of a sterilization process for medical devices

Esterilização, Antissepsia e Desinfecção

1. Comportamento dos Microrganismos
2. Esterilização & Desinfecção
3. Processos de Esterilização
4. SAL - NSE
- 5. Processos de Desinfecção**
6. Selecção de Processo - *Spaulding*
7. Controlo do Processo

Classificação de Desinfetantes

- **Nível elevado** – destrói todos os microrganismos incluindo esporos (embora não todos).
- **Nível médio** – destrói bactérias vegetativas, micobactérias, maioria dos vírus e fungos.
- **Nível baixo** – destrói as bactérias Gram positivo, algumas Gram negativo, vírus lipídicos e alguns fungos.

Classificação de Desinfetantes ou dos Processos de Desinfecção?

- Nível elevado – destrói todos os microrganismos incluindo esporos (embora não todos).
 - Nível médio – destrói bactérias vegetativas, micobactérias, maioria dos vírus e fungos.
 - Nível baixo – destrói as bactérias Gram positivas, algumas Gram negativas, vírus lipídicos e alguns fungos.
-
-  Na utilização dos desinfetantes deve-se ter sempre em conta as indicações do fabricante no que se refere às diluições, manuseamento, conservação e prazos de validade

Desinfetantes de nível elevado

Um desinfetante que, desde que utilizado de acordo com as instruções do fabricante, elimina todos os microrganismos vegetativos, micobactérias, vírus não-lipídicos e lipídicos, esporos fúngicos e alguns esporos bacterianos, **embora não todos.**

Ex: Glutaraldeído (2%, 20 min.): Concentração/Tempo

[Reprocessing of Reusable Medical Devices \) FDA-Cleared Sterilants and High Level Disinfectants with General Claims for Processing Reusable Medical and Dental Devices - March 2015.htm](#)

Desinfetantes: Nível Médio e Baixo

Classe de Composto	Utilização	Local de ação	Exemplo
Alcoóis	Desinfetante e antiséptico de uso geral	Membrana citoplasmática, proteínas	Etanol (70%), Isopropanol (70%)
Compostos de Iodo	Antiséptico	Proteínas	Iodopovidona 10%
Compostos fenólicos	Desinfetante de uso geral	Membrana citoplasmática, proteínas, ADN	Clorocresol (0,5mg/mL), Cloroxilenol(0,5mg/mL),
Biguanidinas	Antiséptico	Membrana citoplasmática, proteínas	Gluconato de clorhexidina (0,5%)
Quaternários de Amônio	Desinfetante, Antiséptico de uso geral	Membrana celular	0,2mg/g

Seleção de um Processo de Redução da Carga Microbiana?

Deve ter em conta o seguinte:

1. **Concentração** da população microbiana
2. Duração do **tempo de contacto** com os microrganismos
3. **Resistência** à Temperatura/Agente Químico dos MOs
4. **Características dos microrganismos** presentes na amostra
5. **Natureza do material** a esterilizar:
 - a) Composição Química
 - b) Reactividade Química
 - c) Características Mecânicas (estáticas/dinâmicas)
 - d) Porosidade, Dimensões internas (lúmen)
 - e) Função/complexidade

Esterilização, Antissepsia e Desinfecção

1. Comportamento dos Microrganismos
2. Esterilização & Desinfecção
3. Processos de Esterilização
4. SAL - NSE
5. Processos de Desinfecção
- 6. Seleção de Processo vs Risco - *Spaulding***
7. Controlo do Processo

Sistema de classificação de *Spaulding*

Define os dispositivos médicos (DM) de acordo com o Risco de infecção:

- ELEVADO: Material crítico
- MÉDIO: Material semicrítico
- BAIXO: Material não crítico

Classificação de Spaulding, baseada em Alvarado, e DGS

Orientação nº 008/2012 (Adaptação LMS)

RISCO <i>Tipo de DM</i>	Definições	Processo de Processamento Recomendado
ELEVADO <i>Material crítico</i>	Todo aquele que penetra nos tecidos subepiteliais, no sistema vascular e outros órgãos isentos de flora microbiana própria (estéreis), bem como todo o que esteja diretamente ligado com eles. ex. pinças de biópsia; esfínterótomos	“Esterilização” esporicida químico com tempo de contacto prolongado
MÉDIO <i>Material semicrítico</i>	É todo aquele que entra em contacto com as membranas mucosas ou com a pele não íntegra mas geralmente não penetra tecidos estéreis. ex: endoscópios , laringoscópios, tubos endotraqueiais (excepto instrumentos usados na vagina ou colo do útero)	Desinfecção de nível elevado: esporicida químico com tempo de contacto curto
BAIXO <i>Material não crítico</i>	É todo aquele que entra em contacto apenas com a pele íntegra ou que não entra em contacto direto com o doente.	ex: Termómetros, Desinfecção de nível intermédio
		ex: Estetoscópios Desinfecção de nível reduzido

CONTROLO DE QUALIDADE DA ESTERILIZAÇÃO

1. Controlo do **Parâmetros do Processo** :
Temperatura, Pressão, Humidade, Concentração
2. Utilização de **Indicadores Biológicos e/ou Químicos**: colocados nos locais menos favoráveis à penetração do agente esterilizante
3. Controlo dos **Dispositivos Médicos Esterilizados**:
Ensaio de Esterilidade: Destrutivo!

Esterilização, Antissepsia e Desinfecção

1. Comportamento dos Microrganismos
2. Esterilização & Desinfecção
3. Processos de Esterilização
4. SAL - NSE
5. Processos de Desinfecção
6. Selecção de Processo - *Spaulding*
- 7. Controlo do Processo**

Avaliação Laboratorial de um Processo de Esterilização

Ensaio de Esterilidade

Farmacopeia Portuguesa 9, Capítulo 2.6.1

2.6. MÉTODOS BIOLÓGICOS

2.6.1. ESTERILIDADE

O ensaio aplica-se às substâncias, preparações e produtos que, segundo a Farmacopeia, são estéreis. Todavia, um resultado favorável significa apenas que nenhum microrganismo contaminante foi detectado na amostra examinada nas condições de ensaio. As indicações complementares sobre as regras a aplicar para estabelecer a esterilidade de um lote são dadas no fim deste texto.

Ensaio de Esterilidade

Definições

Ensaio de Esterilidade (EE)

- Segundo as EP 8 e FP 9, o ensaio de esterilidade *“aplica-se às substâncias, preparações e produtos que são estéreis. Todavia, um resultado favorável significa apenas que nenhum microrganismo contaminante foi detetado na amostra examinada nas condições de ensaio.”*

Qual o nível de segurança proporcionado por um resultado satisfatório de um Ensaio de Esterilidade?

Avaliação da qualidade
de um lote



- homogeneidade do lote
- condições de produção
- eficácia do plano de amostragem

Define-se lote como uma coleção homogênea de recipientes fechados, preparados de tal modo que o risco de contaminação, para cada uma das unidades nele contidas, seja o mesmo.

Precauções contra a contaminação microbiana - controlo ambiental

Onde podem ser feitos os Ensaios de Esterilidade?

As condições asséticas necessárias aos EE podem ser alcançadas:

- Em câmara de fluxo de ar laminar (CFL) de classe A, localizada numa sala limpa de classe B



- Em isolador



Ensaio de Esterilidade (EE)

Meios de cultura e condições de incubação

- A escolha do meio de cultura correto para a incubação dos EE é muito importante e deve suportar o crescimento de uma grande variedade de microrganismos, incluindo bactérias aeróbicas, anaeróbicas, fungos e leveduras.

- Condições de incubação segundo a Farmacopeia

Meio de cultura	Alvo da pesquisa	Temperatura Incubação	Tempo de Incubação	Leituras
Meio líquido de tioglicolato* (Tio)	Bactérias anaeróbicas e bactérias aeróbicas	30-35°C	14 dias	< 7 dias 7 dias 14 dias (14+4 dias)
Meio com peptonas de caseína e de soja* (TSB)	Fungos, leveduras e bactérias aeróbicas	20-25°C	14 dias	



A incubação deve ser feita no escuro para não haver alterações das características dos meios de cultura e porque os microrganismos são sensíveis à luz.

- Podem ser utilizados meios alternativos, tendo em conta a natureza da amostra a ensaiar, desde que validados

- No caso de amostras com propriedades antimicrobianas, podem ser incorporados nos meios de cultura ou nas soluções de lavagem (no caso do método de filtração por membrana), substâncias neutralizantes.

Tipo de agente antimicrobiano	Inativador	Concentração
Compostos fenólicos	Laurilsulfato de sódio	4g/L
	Polissorbato 80	30 a 3 g/L
	Lecitina de gema de ovo	5 a 50 mL/L
Compostos organomercuriais	Tioglicolato de sódio	0,5 a 5 g/L
Compostos halogenados	Tiosulfato de sódio	5 g/L
Compostos com função amônio quaternário	Gema de ovo	5 a 50 mL/L

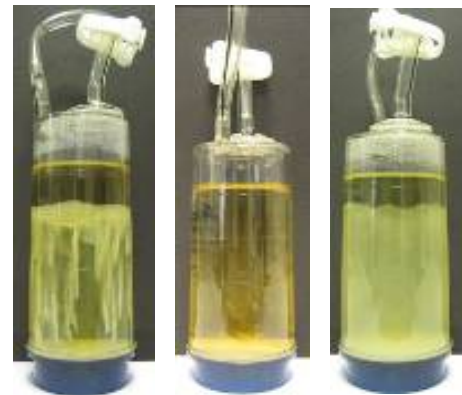
EE - Meios de cultura e incubação

Controlos a fazer nos EE

Ensaio de conformidade

Demonstração, para cada tipo de produto submetido a ensaio, que a combinação dos meios e metodologia de ensaio permite criar condições que:

- ♦ favoreçam o crescimento dos eventuais contaminantes presentes, no produto a ser analisado.
- ♦ permitam neutralizar ou eliminar eventuais propriedades antimicrobianas da amostra.
- ♦ não contribuam para o crescimento de outros microrganismos, que não os existentes no produto.



EE - Meios de cultura e condições de incubação

Controlos a fazer nos EE

- Avaliação da Esterilidade e Fertilidade dos Meios de Cultura

♦ Esterilidade*

incubação de um frasco de cada lote de meio

* Se os

Meio de Cultura	Temperatura de incubação	Tempo de Incubação
Tio	30-35°C	14 dias
TSB	20-25°C	14 dias

do respetivo certificado.

♦ Fertilidade

inoculando diretamente uma alíquota (≥ 10 mL) do meio de cultura com um inóculo inferior a 100 UFC do microrganismo

	Microorganismos	Meio de Cultura	Condições de Incubação
Bactérias aeróbias	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	Tio	30-35°C / 3d
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	TSB	20-25°C / 3d
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	Tio	30-35°C / 3d
Bactéria anaeróbia	<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 19404	Tio	30-35°C / 3d
Levedura	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	TSB	20-25°C / 5d
Fungo	<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	TSB	20-25°C / 5d

- Padrão Negativo

Feito segundo a mesma metodologia do ensaio na ausência do produto a analisar.

- Padrão Positivo

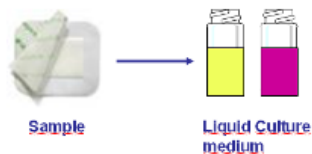
Feito segundo a mesma metodologia do ensaio na ausência do produto a analisar, inoculando diretamente o meio de cultura apropriado (sementeira direta) ou a solução de lavagem (filtração por membrana) com um inóculo inferior a 100 UFC do microrganismo a testar.

EE - Metodologia de ensaio

2 metodologias

- Filtração através de membrana
- Sementeira Direta
- Sempre que a natureza da amostra assim o permita deve ser utilizado o método de filtração por membrana. Se as amostras não forem filtráveis, deverá então recorrer-se à técnica de sementeira direta dos meios de cultura, com o produto a ensaiar.

Método de filtração através de membrana	Sementeira direta no meio de cultura
as soluções aquosas/alcoólicas os sólidos solúveis os óleos e soluções oleosas as pomadas e cremes	os líquidos oleosos as pomadas e cremes (não miscíveis em solventes não tóxicos) material de penso e de sutura outros dispositivos médicos



EE- Quantidade mínima de embalagens de amostra a analisar por lote

- No caso dos dispositivos médicos, a quantidade mínima de amostra a utilizar para cada meio de cultura poderá variar consoante o dispositivo seja:

- ♦ **Material de Penso** - Todo o material destinado a contactar com feridas



- ♦ **Material de Sutura** - Todo o material utilizado em cirurgia com o objetivo de aproximar os tecidos durante o tempo de cicatrização



- ♦ **Outros dispositivos** - Todos aqueles que não são englobados pelos grupos anteriores. Deste grupo também fazem parte os diversos tipos de soluções, cujas quantidades mínimas a analisar deverão seguir o descrito para os medicamentos.



Quantidades mínimas de dispositivos médicos a examinar no ensaio de esterilidade, por cada meio de cultura*.

Quantidade por recipiente	Quantidade mínima de preparação a utilizar para cada meio
<i>Material de Penso / Algodão / Compressas (embalados)</i>	100 mg por embalagem
<i>Material de sutura e outro material de uso único embalado individualmente</i>	Dispositivo inteiro
<i>Outros Dispositivos Médicos</i>	Dispositivo inteiro, cortado em pedaços ou desmontado

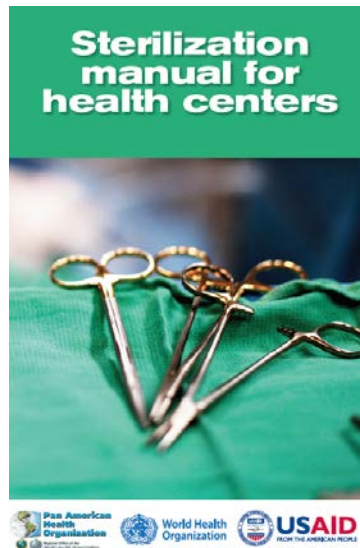
Número mínimo de unidades de dispositivos médicos a analisar*.

Amostras	Número de unidades / lote	N.º mínimo de unidades a analisar por meio de cultura
Dispositivos Médicos no Geral*	• ≤ 100	10 %, mas não menos de 4 (o que for maior)
	• > 100 e ≤ 500	10
	• > 500	2 %, mas não mais de 20 (o que for menor)

*Segundo a USP



**Guideline for Disinfection and Sterilization
in Healthcare Facilities, 2008**



**Reprocessing Medical Devices in
Health Care Settings: Validation
Methods and Labeling
Guidance for Industry and Food and
Drug Administration Staff**

Document issued on: March 17, 2015

Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks

SCENIHR

The Safety of Reprocessed Medical Devices Marketed for
Single-Use



- on consumer safety
- on emerging and newly identified health risks
- on health and environmental risks



Esterilização

NSE 10^{-6}

Desinfecção

Obrigado

luis.soares@infarmed.pt

Questões?