

ESTUDO DA PERFORMANCE DO INDICADOR BIOLÓGICO AUTOCONTIDO CLEAN-TEST UTILIZADO PARA VALIDAÇÃO DE PROCESSO DE ESTERILIZAÇÃO A VAPOR

Thiago José Pelissari; Heron Oliveira dos Santos Lima; Mirela Vanin dos Santos Lima*.

COEAL - Coordenação de Engenharia de Alimentos, UTFPR - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Campo Mourão, PR.

Resumo. Os indicadores biológicos autocontidos Clean-Test são utilizados para monitorar ciclos de esterilização a vapor. Cada bioindicador possui uma população mínima de 10^5 ou 10^6 UFC de esporos bacterianos de *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953. O objetivo deste trabalho foi estudar o comportamento do indicador biológico autocontido Clean-Test utilizado para monitorar e validar sistemas de esterilização a vapor, quanto ao tempo de incubação (24, 48 horas e 7 dias) e a performance de resistência microbiana em diferentes condições de tempo, pressão e temperatura. As análises realizadas iniciaram com a avaliação de lotes de indicadores biológicos através da determinação da população mínima (N_0); determinação do valor D (tempo de redução decimal), determinação dos tempos de sobrevivência e morte dos microrganismos. Então foi estudada a performance de resistência do indicador biológico Clean-Test em diferentes tempos de exposição, temperaturas e pressão de ensaio, bem como a avaliação e análise da relação entre tempo de incubação e taxa de crescimento para os períodos de 24, 48 horas e 7 dias. O comportamento do indicador biológico em relação ao aumento na temperatura e pressão de ensaio mostrou-se inversamente proporcional ao Valor-D (resistência microbiana). O comportamento dos lotes de indicadores biológicos positivos, ao final dos sete dias de incubação, indicou resultados mínimos de 97%, aceitabilidade satisfatória aceitável segundo a Norma ANSI/AAMI/ISO 11138-1:2006. Assim, pode-se concluir que os resultados observados neste trabalho são condizentes com a Norma ANSI/AAMI/ISO 11138-1:2006, pois os lotes de indicadores biológicos avaliados atenderam aos requisitos exigidos por esta norma.

Palavras-chave: Indicador Biológico, Esterilização a vapor, Valor-D.

Clean-Test self-contained biological indicator performance used to steam sterilization process validation. Clean-Test self-contained biological indicators are used to monitor steam sterilization cycles. Each biological indicator has a minimum population of 10^5 or 10^6 UFC bacterial spores of *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953. The purpose of this work was to study the behavior of Clean-Test self-contained biological indicator used to monitor and validate steam sterilization systems, in relation to the incubation time (24, 48 hours and 7 days) and the performance of microbial resistance at different conditions of time, pressure and temperature. The analyses were performed starting with the evaluation of lots of biological indicators by determining the initial population (N_0), determination of D value (decimal reduction time), determination of survival and death times for the microorganisms. Then was studied the resistance performance of the biological indicator Clean-Test at different exposure times, temperatures and pressure, as well as the evaluation and analysis of the relationship between incubation time and growth rate for periods of 24, and 48 hours 7 days. The behavior of biological indicator when the temperature and pressure were increased was inversely proportional to D value (microbial resistance). The lot behavior of positive biological indicators by the end of seven days of incubation indicated minimal results of 97%, satisfactory acceptability which is acceptable according to ANSI/AAMI/ISO 11138-1:(2006) because the lots of biological indicators tested met its requirements.

Keywords: Biological indicator. Steam Sterilization. D-value.

* E-mail: mvanin@utfpr.edu.br

1 Introdução

No grupo dos termófilos, microrganismos resistentes a altas temperaturas (temperatura limite de 65°C), encontram-se o *Bacillus coagulans* e o *Geobacillus stearothermophilus* conhecidos como microrganismos produtores de acidez plana (“flat sour”), formando ácido lático a partir da glucose sem formar gás (PILAR, 2005).

Em especial, o *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 é um microrganismo termófilo estrito, cresce a temperaturas maiores que 55°C e não cresce a 37°C, cresce melhor em pH neutro e por isso pode ser empregado como bioindicadores em processo de esterilização (PILAR, 2005).

Esterilização é o processo físico ou químico que destrói ou inativa todas as formas de vida presentes em um determinado material, especialmente microrganismos incluindo bactérias, fungos tanto em suas formas vegetativas como esporuladas e vírus (SCHMIDELL *et al.*, 2001).

O indicador biológico é um parâmetro escolhido para certificar-se de que o nível de esterilidade estabelecido para o produto é alcançado, conferindo a certeza de esterilidade frente à margem de segurança mínima definida de apenas 1 unidade contaminada em 10⁶ unidades do produto processado (NIEHEUS, 2004).

O nível de esterilidade é definido como o número de microrganismos viáveis, que sobrevivem à esterilização por unidade do produto considerado. A definição dos parâmetros operacionais do método de esterilização escolhido determina a margem de segurança do produto ou a probabilidade de falha do sistema (FILHO; PENNA, 2003).

Neste sentido, o indicador biológico consiste de um preparado de um microrganismo específico, resistente a um determinado processo de esterilização, que é utilizado para qualificação de uma operação física de um aparelho de esterilização, no desenvolvimento e estabelecimento de processo de esterilização validado para um artigo específico, e na esterilização de equipamento, material e embalagens para processamento asséptico. É usado também para monitorar um ciclo de esterilização uma vez estabelecido (LETTRARI, 2005).

Os bioindicadores representam uma preparação-padrão com microrganismos específicos de concentração conhecida e definida, resistentes a um agente físico ou químico (PENNA *et al.*, 2002).

Os indicadores biológicos convencionais possuem leitura final negativa em 48 horas e seu resultado é por mudança de coloração do meio de cultura, através da atividade bioquímica do microrganismo *Geobacillus stearothermophilus*, que produz derivados ácidos, provocando modificação de cor do meio de cultura de roxo a amarelo. Uma modificação visual de cor e pH indica falha no processo de esterilização a vapor (3M, 2010).

O uso eficiente dos indicadores biológicos para o monitoramento de um processo de esterilização requer profundo conhecimento do produto a ser esterilizado e suas partes componentes (material e embalagens) e no mínimo uma idéia geral dos prováveis tipos e número de microrganismos constituintes da carga microbiana do produto antes da esterilização (NIEHEUS, 2004).

Para Penna *et al.* (2002), o bioindicador é recomendado para ser utilizado como rotina para monitorar um conjunto de esterilização ou desinfecção do ciclo e, periodicamente, revalidar a data de ciclos previamente documentados. Levando-se em consideração todos estes aspectos, o objetivo deste trabalho foi estudar e analisar o comportamento do indicador biológico Clean-Test utilizado para monitorar e validar sistemas de esterilização a vapor, quanto ao tempo de incubação (24, 48 horas e 7 dias) e a performance de resistência microbiana (*Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953) em diferentes condições de tempo, pressão e temperatura.

2 Metodologia

2.1 Avaliação dos lotes de indicadores biológicos

Três lotes de indicadores biológicos foram avaliados em relação à população inicial de esporos por fita, resistência, tempo de morte e tempo de sobrevivência.

2.1.1 Determinação da população inicial (N₀) de esporos de *Geobacillus stearothermophilus* por fita

Para tanto se adotou como referência o método de contagem da população inicial (N₀) de esporos de *Geobacillus stearothermophilus* em fita segundo sugerido por Gillis (2008). Para cada lote avaliado foram preparados 4 (quatro) tubos de ensaio previamente esterilizados com 10 pérolas de vidro e 5 mL de água destilada estéril, imergindo 1 (uma) fita impregnada com esporos de *Geobacillus stearothermophilus* ATCC 7953 em cada tubo. Em agitador tipo vórtex homogeneizou-se até completa solubilização das fitas. Foram acrescentados mais 5 mL de água destilada estéril e homogeneizado. Então foi realizado o choque térmico aquecendo os tubos à temperatura de 95 a 100 °C por 15 minutos, seguido de resfriamento em banho de gelo (0-4 °C) por 2 (dois) minutos. Cada tubo, portanto foi considerado a diluição 10⁻¹ da fita com esporos. Da diluição 10⁻¹, transferiu-se 1 mL para um tubo contendo 9 mL de água destilada estéril e homogeneizou-se a suspensão e identificou-a como a diluição 10⁻² do inóculo. Esta operação foi repetida até a obtenção da diluição 10⁻⁷ da fita. De todas as diluições, foi retirado 1 mL e transferido para uma placa de Petri e em seguida verteu-se na placa 20 mL de ágar nutritivo. Realizada a homogeneização, incubou-se em estufa a 60 ± 3 °C por 48 horas. Após as

48 horas de incubação foi realizada a contagem das colônias e então registrados os resultados. Para que o bioindicador possa ser considerado viável, o valor de N_0 deve estar entre 10^5 e 10^6 UFC/mL de *Geobacillus stearothermophilus*, caso o resultado de N_0 não se encontre dentro da faixa determinada 10^5 e 10^6 UFC/mL, o lote deve ser descartado.

A Figura 1 apresenta de forma esquemática a metodologia empregada para determinação da população inicial (N_0) de esporos de *Geobacillus stearothermophilus* em fita.

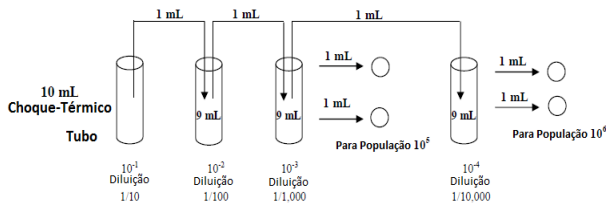


Figura 1: Versão compacta de parte da metodologia empregada para determinação da população inicial (N_0) de esporos de *Geobacillus stearothermophilus* em fitas. Fonte: Gillis, (2008).

2.1.2 Determinação da resistência do indicador biológico: Valor D (tempo de redução decimal por minuto)

Para a determinação do valor D, adaptou-se a metodologia descrita na Norma ANSI/AAMI/ISO 11138-1:2006. Para cada lote de indicador biológico avaliado foram preparados 24 envelopes próprios para esterilização contendo 20 indicadores biológicos em cada envelope. Os testes de resistência foram realizados em autoclave-gravitacional para esterilização a vapor (modelo HE3000, marca Cristófoli) conforme descrito abaixo sendo que, para cada tempo estudado utilizou-se um envelope para esterilização contendo 20 indicadores biológicos de cada lote avaliado.

- 1º teste: tempo variando de 7 a 16 minutos (com intervalos de 1 minuto) para temperatura/pressão referente a $121\text{ }^\circ\text{C}/1,2\text{ kgf/cm}^2$;
- 2º teste: tempo variando de 1 a 7 minutos (com intervalos de 1 minuto) para temperatura/pressão referente a $132\text{ }^\circ\text{C}/1,9\text{ kgf/cm}^2$;
- 3º teste: tempo variando de 1 a 7 minutos (com intervalos de 1 minuto) para temperatura/pressão referente a $134\text{ }^\circ\text{C}/2,1\text{ kgf/cm}^2$.

Após cada esterilização aguardou-se 15 minutos para que os bioindicadores esfriassem e então foi realizada a quebra da ampola de vidro identificando o tempo utilizado e o número do respectivo lote. Incubou-se a $57\text{ }^\circ\text{C} \pm 3\text{ }^\circ\text{C}$ por 48 horas em incubadora pré-aquecida. Após 48 horas de incubação foi realizada a leitura, observando-se a quantidade de bioindicadores

que apresentaram resultados positivos (amarelo) e negativos (violeta) para cada tempo de esterilização e para cada lote avaliado. Os resultados foram registrados e em seguida utilizou-se as equações 1 e 2 para calcular o Valor de D para cada teste e para cada lote avaliado.

$$U_{SK} = U_K - \frac{d}{2} - \frac{d}{n} \times \sum_{i=1}^{K-i} r_i \quad (1)$$

Onde:

U_{SK} : meio de exposição até a esterilidade (U_{sk}) ou *Limited Spearman-Karber*;

U_K : é a primeira exposição que resulte todas as replicatas estéreis, $r_K = n$;

i : é o tempo de exposição;

d : é o intervalo de tempo entre as exposições;

n : é o número de replicatas em cada exposição;

r_i : é o número de replicatas estéreis em cada exposição;

U_1 : é o primeiro tempo de exposição no qual nenhum indicador biológico é esterilizado, $r = 0$;

U_{K-1} : é o tempo de exposição imediatamente anterior ao U_K ;

$\sum r_i$: é a somatório das replicatas de indicadores biológicos estéreis (r) em todos os tempos de exposição entre U_1 e U_{K-1} .

$$D = \frac{U_{SK}}{\log N_0 + 0,2507} \quad (2)$$

Onde:

U_{SK} : é o meio de exposição até esterilização;

N_0 : é a média de esporos viáveis por indicador biológico determinado através da quantidade total de esporos viáveis.

O valor de D encontrado é o tempo para redução de uma casa decimal por minuto do microrganismo estudado na condição de teste avaliada.

2.1.3 Determinação do tempo de sobrevivência e tempo de morte do microrganismo.

Para a determinação do tempo de sobrevivência e morte, foram adotadas as equações 3 e 4 da metodologia descrita na Norma ANSI/AAMI/ISO 11138-1:(2006) e utilizada para a determinação de N_0 e do valor de D apresentadas anteriormente.

$$\text{Tempo de sobrevivência} = (\log N_0 - 2) \times D \quad (3)$$

$$\text{Tempo de morte} = (\log N_0 + 4) \times D \quad (4)$$

Onde:

N_0 : é a média de esporos viáveis por indicador biológico determinado através da quantidade total de esporos viáveis.

D: tempo para redução de uma casa decimal por minuto do microrganismo.

2.2 Performance de resistência do indicador biológico Clean-Test em diferentes tempos de exposição, temperaturas e pressão de ensaio

Os três lotes de indicadores biológicos avaliados conforme item 2.1, passaram por um segundo estudo com o objetivo de se determinar a performance de resistência do indicador biológico auto-contido Clean-Test, quando exposto à diferentes tempos, temperaturas e pressão de esterilização em autoclave-gravitacional para esterilização a vapor (modelo HE3000, marca Cristófoli).

Para tanto foram realizados três testes utilizando 20 indicadores biológicos de cada lote para cada tempo de exposição:

- 1º teste: tempo variando de 7 a 16 minutos (com intervalos de 1 minuto) para temperatura/pressão referente a 121 °C/1,2 kgf/cm²;

- 2º teste: tempo variando de 1 a 7 minutos (com intervalos de 1 minuto) para temperatura/pressão referente a 132 °C/1,9 kgf/cm²;

- 3º teste: tempo variando de 1 a 7 minutos (com intervalos de 1 minuto) para temperatura/pressão referente a 134 °C/2,1 kgf/cm².

Após cada esterilização aguardou-se 15 minutos para que os bioindicadores esfriassem e então foi realizada a quebra da ampola de vidro identificando o tempo utilizado e o número do respectivo lote.

Incubou-se a 57 °C +/- 3 °C por 48 horas em incubadora pré-aquecida. Após 48 horas de incubação foi realizada a leitura, observando-se a quantidade de bioindicadores que apresentaram resultados positivos (amarelo) e negativos (violeta) para cada tempo de esterilização e para cada lote avaliado.

2.3 Avaliação e análise da relação entre tempo de incubação e taxa de crescimento para períodos entre 24, 48 horas e 7 dias.

Para avaliação e análise da relação entre tempo de incubação e taxa de crescimento para períodos entre 24, 48 horas e 7 dias adotou-se a metodologia proposta pelo documento de orientação *Guidance for Industry and FDA Staff - Biological Indicator (BI)*, 2001, a qual sugere a utilização de pelo menos 100 indicadores biológicos em tempo de 24 horas a 7 dias de incubação. Para tanto 3 lotes de indicadores biológicos Clean-Test, sendo dois lotes 10⁵ UFC/mL e um lote 10⁶ UFC/mL, foram preparados de acordo com os procedimentos de análise da Clean-up.

Para cada lote, 100 indicadores biológicos, foram expostos a ciclos de esterilização a valor de 121 °C/1,2 kgf/cm². As performances dos lotes foram avaliadas pela relação entre tempo de incubação e taxa de

crescimento dos esporos em cada período de incubação (seguido pela alteração de coloração dos indicadores biológicos de púrpura a amarelo). Após sete dias de incubação analisou-se e comparou-se o comportamento dos lotes, considerando uma aceitabilidade satisfatória para os resultados, números maiores que 97% de indicadores biológicos positivos. Esta porcentagem (%) foi calculada utilizando o número de indicadores biológicos positivos em sete dias de incubação como denominador e como numerador o número de indicadores biológicos positivos em 24 horas.

3 Resultados e Discussão

3.1 Avaliação dos lotes de indicadores biológicos

A Tabela 1 apresenta os lotes de indicadores biológicos autocontidos avaliados com as respectivas populações iniciais (N₀), tempos de redução decimal (Valor D) e tempos de sobrevivência e morte.

Os indicadores biológicos autocontidos foram avaliados segundo a metodologia descrita 2.1, e os organismos foram identificados atendendo aos requisitos propostos em atenção a Norma ANSI/AAMI/ISO 11138-1:2006, para fabricação e validação de indicadores biológicos autocontidos para esterilização a vapor.

3.2 Performance de resistência do indicador biológico (IB) autocontido Clean-Test em diferentes tempos de exposição, temperaturas e pressão de ensaio.

A Tabela 2 mostra o número de indicadores biológicos positivos em diferentes tempos de exposição (7-16 minutos) na temperatura referente a 121 °C e pressão de ensaio de 1,2 kgf/cm². A Tabela 3 mostra o número de indicadores biológicos positivos em diferentes tempos de exposição (1-7 minutos) na temperatura referente a 132 °C e pressão de ensaio de 1,9 kgf/cm². A Tabela 4 mostra o número de indicadores biológicos positivos em diferentes tempos de exposição (1-7 minutos) na temperatura referente a 134 °C e pressão de ensaio de 2,1 kgf/cm².

Para Ordóñez (2005), os tratamentos térmicos letais provocam nas populações microbianas homogêneas, decréscimo progressivo e ordenado de suas taxas, tanto mais elevado quanto mais se prolonga o tempo de exposição.

Tabela 1: Lotes de indicadores biológicos autocontidos avaliados: populações Iniciais (N_0), tempo de redução decimal (Valor D) e tempos de sobrevivência e morte.

| Características | Nº Lote CL0902A/11 | Nº Lote CL014B/11 | Nº Lote CL024K/10 |
|--|-----------------------|----------------------|----------------------|
| População – N_0 (UFC) | $2,7 \times 10^5$ | $1,8 \times 10^5$ | $2,4 \times 10^6$ |
| Valor D (121 °C) | 1,7 min | 2,2 min | 2,3 min |
| Tempo de Sobrevivência/Tempo de Morte (121 °C) | 5,9 min/16,0 min | 7,1 min/20,3 min | 10,0 min/24,3 min |
| Valor D (132 °C) | 0,4min | 0,5min | 0,6 min |
| Tempo de Sobrevivência/Tempo de Morte (132 °C) | 1,37 min/4,17 min | 2,02 min/5,02 min | 3,02 min/6,22 min |
| Valor D (134 °C) | 0,3min | 0,4 min | 0,5 min |
| Tempo de Sobrevivência/Tempo de Morte (134 °C) | 1,03min/2,23min | 1,30 min/4,10 min | 2,19 min/5,19 min |

A partir dos resultados apresentados nas Tabelas 2, 3 e 4, observou-se que conforme aumenta-se a temperatura e a pressão do ensaio de esterilização, diminui-se a capacidade do microorganismo de sobreviver ao aumento de temperatura e pressão de ensaio, assegurando que os níveis de esterilidade obtidos durante o processo sejam compatíveis com as características exigidas por exemplo em produtos médico-hospitalares, farmacêuticos e alimentícios.

Desta maneira o valor D encontrado durante os experimentos, indica que os indicadores biológicos autocontido testados possuem uma boa resistência térmica, sugerindo assim, que os organismos escolhidos atenderam aos requisitos inicialmente propostos.

Tabela 2: Número de indicadores biológicos positivos em diferentes tempos de exposição (temperatura referente a 121 °C; pressão de ensaio de 1,2 kgf/cm²).

| Nº Lote | Tempo de Exposição (minutos) 121 °C/1,2 kgf/cm ² | | | | | | | | | | População (x10 ⁵) | Valor D (min) |
|------------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----------------------------------|------------------|
| | Números de IB positivos de um total de 20 | | | | | | | | | | | |
| | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | | |
| CL0902A/11 | 20 | 17 | 13 | 9 | 5 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | $2,7 \times 10^5$ | 1,7 |
| CL014B/11 | 20 | 20 | 19 | 15 | 15 | 14 | 7 | 3 | 0 | 0 | $1,8 \times 10^5$ | 2,2 |
| CL024K/10 | 20 | 20 | 20 | 20 | 20 | 18 | 17 | 14 | 0 | 0 | $2,4 \times 10^6$ | 2,3 |

Tabela 3: Número de indicadores biológicos positivos em diferentes tempos de exposição (temperatura referente a 132 °C; pressão de ensaio de 1,9 kgf/cm²).

| Nº Lote | Tempo de Exposição (minutos) 132 °C/1,9 kgf/cm ² | | | | | | | População (x10 ⁵) | Valor D (min) |
|------------|---|----|----|---|---|---|---|----------------------------------|------------------|
| | Números de IB positivos de um total de 20 | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | |
| CL0902A/11 | 20 | 12 | 4 | 2 | 1 | 0 | 0 | $2,7 \times 10^5$ | 0,4 |
| CL014B/11 | 20 | 16 | 7 | 4 | 2 | 0 | 0 | $1,8 \times 10^5$ | 0,5 |
| CL024K/10 | 19 | 18 | 14 | 9 | 4 | 0 | 0 | $2,4 \times 10^6$ | 0,6 |

Tabela 4: Número de indicadores biológicos positivos em diferentes tempos de exposição (temperatura referente a 134 °C; pressão de ensaio de 2,1 kgf/cm²).

| Nº Lote | Tempo de Exposição (minutos) 134 °C/2,1 kgf/cm ² | | | | | | | População (x10 ⁵) | Valor D (min) |
|------------|---|----|----|---|---|---|---|-------------------------------|---------------|
| | Números de IB positivos de um total de 20 | | | | | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | | |
| CL0902A/11 | 18 | 4 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2,7x10 ⁵ | 0,3 |
| CL014B/11 | 20 | 7 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1,8x10 ⁵ | 0,4 |
| CL024K/10 | 20 | 19 | 13 | 6 | 1 | 0 | 0 | 2,4x10 ⁶ | 0,5 |

3.3 Avaliação microbiana e análise da relação de tempo de incubação e taxa de crescimento para períodos entre 24, 48 horas e 7 dias.

A Tabela 5 fornece o número de indicadores biológicos (IB) positivos após os períodos de incubação de 24h, 48h e 7 dias e a porcentagem de indicadores biológicos positivos.

Tabela 5: Número de indicadores biológicos positivos em 24h, 48h e 7 dias e % de IB positivos.

| Nº Lote | 24h | 48h | 7 dias | % de IB positivos |
|------------|-----|-----|--------|-------------------|
| CL0902A/11 | 42 | 43 | 43 | 97,67 |
| CL014B/11 | 38 | 39 | 39 | 97,43 |
| CL024K/10 | 58 | 59 | 59 | 98,30 |

Segundo a Norma ANSI/AAMI/ISO 11138-1:2006, após sete dias de incubação é analisado e comparado o comportamento dos lotes, considerando resultados aceitáveis um percentual mínimo de 97% da relação do

número de indicadores biológicos autocontidos positivos no período de 24 h de incubação para número de indicadores biológicos autocontidos ao final de 7 dias. Esta porcentagem (%) é calculada a partir do número de indicadores biológicos autocontidos positivos em sete dias de incubação como denominador e como numerador o número de indicadores biológicos positivos em 24 horas.

Desta forma a partir dos resultados obtidos e apresentados nas Tabelas 2, 3, 4 e 5, verifica-se que o tempo de exposição é inversamente proporcional a taxa de crescimento dos microorganismos para períodos de 24 h, 48 h e 7 dias, ou seja, quanto maior for o tempo de exposição aplicado ao tratamento menor foi a taxa de crescimento dos microorganismos e vice-versa.

Por fim, diante dos resultados obtidos é possível sugerir que para os três lotes de indicadores biológicos autocontidos testados, estes atendem as especificações sugeridas segundo a Norma ANSI/AAMI/ISO 11138-1:2006, e portanto, podem ser empregados no monitoramento de processo de esterilização a vapor.

4 Conclusão

A partir dos resultados obtidos foi possível concluir que a padronização de indicadores biológicos e o controle dos parâmetros do processo de esterilização devem ser rigorosos, pois o grande número de variáveis de esterilização afeta diretamente a resistência do microrganismo *Geobacillus stearothermophilus* tornando o processo bastante crítico, conforme sugerido pela diferença nos valores encontrados para Valor D nos testes realizados.

Destaca-se também que a metodologia empregada foi adequada para o experimento, sugerindo ainda que a validação dos lotes atenderam às normas de fabricação e validação de indicadores biológicos autocontidos para esterilização a vapor e, portanto, podem ser utilizados para validação de ciclos de esterilização em escalas industriais.

5 Referências

- ANSI/AAMI/ISO 11138-1:2006. **Sterilization health care products – Biological indicators Part 1: General requirements.** March, 2006.
- FILHO, G. C. S.; PENNA, T. C.V. Validação do processamento térmico de um produto protéico vegetal enlatado. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.** São Paulo, v. 39, n. 4, p. 391-401, 2003.
- GUIDANCE DOCUMENTS (MEDICAL DEVICES AND RADIATION-EMITTING PRODUCTS). **Guidance for Industry and FDA Staff - Biological Indicator (BI).** May, 2001.
- GILLIS, J. R. Smart-Read EZTest Steam. **Technical Report.** Rev. 02, SGM Part. p. 1-7, July 2008.
- LETTRARI, J. **Determinação dos parâmetros microbiológicos Bioindicador “Clean-Test”.** 2005. 41f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Curso Superior de Tecnologia em Alimentos. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campo Mourão, 2005.
- NIEHEUS, R. C. **Autoclaves Verticais: uma Proposta de Sistema para Garantia do Processo de Esterilização.** 2004. 74f. Dissertação (Mestrado em engenharia Elétrica) - Programa de Pós Graduação em Engenharia Elétrica, Universidade Federal de Santa Catarina, 2004.

ORDÓÑES, J. A. **Tecnologia de Alimentos**. Porto Alegre, v. 2, Artmed, 2005.

PENNA, T. C. V.; ISHII, M.; MACHOSHVILI, I. A.; MARQUES, M. The effect of bioindicator preparation and storage on thermal resistance of *Bacillus stearothermophilus* spores. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. São Paulo, v. 98, p. 525-538, 2002.

PILAR, R. de M. **Microbiologia dos Processos Alimentares**. São Paulo: Varela, 2005.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U. de A; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotecnologia Industrial**. São Paulo: Edgard Blucher Ltda., 2001.

3M. Indicador Biológico. Disponível em: <http://www.nascecme.com.br/artigos/INDICADOR%20BIOLOGICO%20RESPOSTA%20EMPRESA%203M%5B1%5D.pdf>. Acesso em: 09/11/2010.