

TRIAGEM DE CILINDROS CARREADORES PARA A EXECUÇÃO DO MÉTODO DA DILUIÇÃO DE USO DE SANEANTES

Alan Dias Batista¹, Bruna Peres Sabagh², Maria Helena Simões Villas Bôas²

¹Programa de Residência Multiprofissional em Saúde na área de Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro - RJ, Brasil

²Setor de Saneantes, Departamento de Microbiologia, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro - RJ, Brasil

Introdução

Produtos Saneantes são aquelas preparações ou substâncias que possuem a finalidade de serem aplicados em superfícies inanimadas, objetos, tecidos e ambientes para realizar ações de desinfecção, limpeza, desinfestação, sanitização e desodorização, além da desinfecção de água para o consumo humano, hortifrutícolas e piscinas. Esses produtos são regulamentados e fiscalizados pela Vigilância Sanitária, uma vez que podem causar grande impacto na saúde coletiva em casos de desvios de qualidade, por serem amplamente utilizados nas indústrias alimentícia, em hospitais e em estabelecimentos relacionados com o atendimento à saúde.

O Setor de Saneantes do Departamento de Microbiologia do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), é responsável por realizar análises referentes ao controle de qualidade microbiológico de produtos saneantes, executando ensaios analíticos que buscam investigar a eficácia dos produtos enviados para análise através dos parâmetros de qualidade estabelecidos na legislação brasileira pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Dessa forma, o Setor gera laudos de alta confiabilidade, indicando se os produtos analisados estão cumprindo ou não os padrões exigidos para sua comercialização em território nacional. Para realizar o controle de qualidade desses produtos, são utilizadas uma série de Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) que descrevem as metodologias necessárias para que eles possam ser analisados nas várias formulações encontradas no mercado e se adequando a todos os parâmetros requeridos pela legislação. O Método da Diluição de Uso é um método de análise bastante utilizado pelo Setor de Saneantes, que estabelece a metodologia a ser adotada para avaliar a atividade bactericida de desinfetantes e, portanto, garantir sua ação de desinfecção. A metodologia utiliza cilindros carreadores que são contaminados por microrganismos, com o objetivo de simular superfícies contaminadas a serem desinfetadas. No entanto, esses cilindros precisam passar por uma etapa de triagem para garantir que não possuam danos, ranhuras, orifícios ou lascas em sua superfície, o que pode alterar o resultado do ensaio através da interferência na ação do desinfetante, impedindo que o mesmo atue sobre os microrganismos na superfície do cilindro carreador.

Objetivo

- Executar a etapa de triagem de cilindros carreadores seguindo a metodologia descrita pelo POP Método da Diluição de Uso do INCQS (65-3240-011 rev. 03), buscando garantir a confiabilidade do uso dos cilindros na execução das análises do método em questão através da identificação de carreadores possivelmente danificados.

Metodologia

1. Microrganismo

Foi utilizado o microrganismo de referência *Staphylococcus aureus* INCQS 00039 (ATCC 6538) para a triagem dos cilindros carreadores, conforme preconizado pelo POP 65-3240-011 do INCQS.

2. Solução padrão

Como solução padrão para desinfecção foi utilizado o Herquat 3500, cloreto de alquil dimetil benzil amônio, em uma solução de 500 ppm.

3. Triagem dos cilindros

A metodologia consiste na contaminação de baterias de 20 cilindros carreadores de aço inox com *S. aureus*, simulando uma superfície a ser descontaminada. Os cilindros então entram em contato com a solução padrão de 500 ppm, nas condições de uso preconizadas pelo POP 65-3240-011, 20±1°C por 10 minutos. Após o término do tempo de contato, os mesmos são transferidos para uma subcultura com tubos contendo meio de cultura com neutralizante do desinfetante por um período de no mínimo 40 minutos de neutralização. Os cilindros são então transferidos para uma resubcultura, com uma nova série de tubos com meio de cultura neutralizante. Os tubos de subcultura e resubcultura são incubados a 36 ± 1°C, por 48 ± 2h. A avaliação do resultado é feita através da presença ou ausência de crescimento bacteriano nos tubos e o resultado considerado válido se os controles de esterilidade, viabilidade e a densidade microbiana média dos cilindros estiverem conformes.

Cultura de *S. aureus* e contaminação dos cilindros carreadores

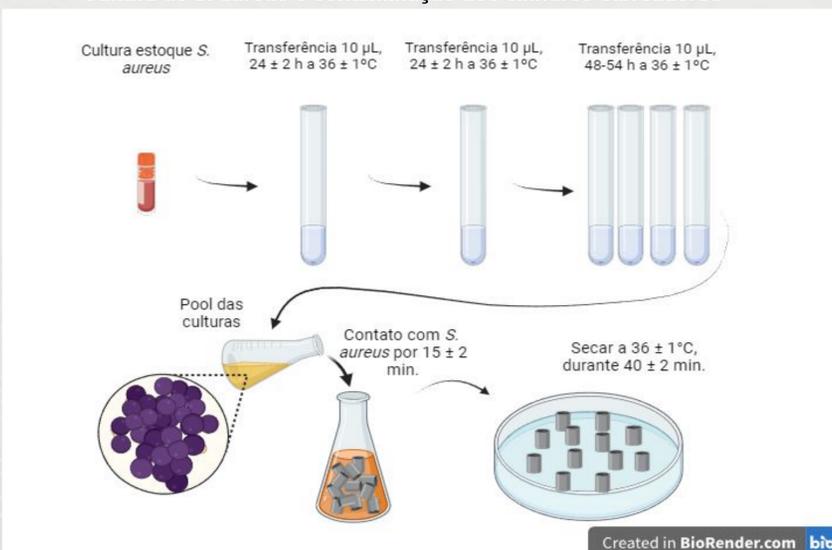


Figura 1. Representação esquemática da ativação da cultura de *S. aureus* e contaminação dos cilindros carreadores.

Contato com o desinfetante e neutralização nas subculturas e resubculturas

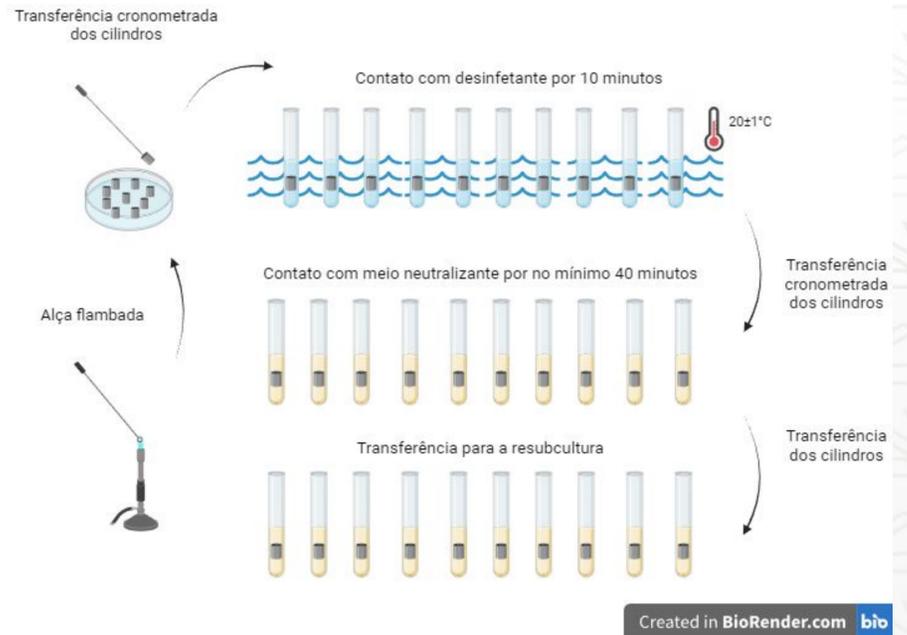


Figura 2. Esquema relatando o fluxo de processos para realizar o contato dos cilindros carreadores contaminados com o Herquat 3500, até sua neutralização na subcultura e resubcultura.

Preparo das diluições e contagem de unidades formadoras de colônias (UFC)

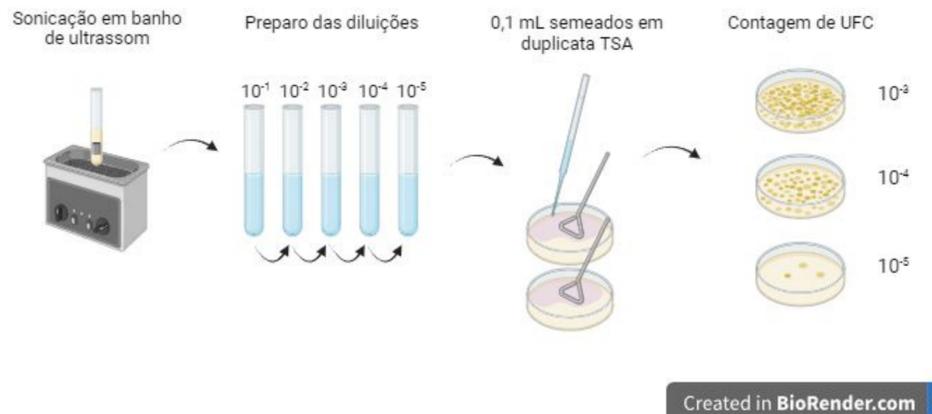


Figura 3. Representação esquemática do preparo de diluições seriadas e sementeira de 0,1 mL em placas para contagem de UFC. As contagens são utilizadas para determinar a densidade microbiana média dos cilindros.

Resultados e Perspectivas

Foram realizadas duas baterias de 20 cilindros, totalizando 40 cilindros triados. Desse total, apenas 2 indicaram crescimento nos respectivos tubos de resubcultura, 18R e 28R.

Sub.	Tubos: 1 a 40	Total carreadores positivos
1.ª	Nenhum dos tubos de subcultura apresentou crescimento.	18R e 28R
2.ª	Os tubos 18R e 28R da resubcultura apresentaram crescimento. Não foi observado crescimento nos demais tubos.	

Quadro 1. Resultado da triagem do total de 40 cilindros carreadores, demonstrando ausência de crescimento nos tubos inoculados da subcultura e crescimento bacteriano nos tubos 18R e 28R da resubcultura.

Para validar os resultados obtidos, foram analisados os controles de viabilidade do meio de subcultura, controle de esterilidade do meio de subcultura, esterilidade de água purificada utilizada para diluir o desinfetante, esterilidade dos lotes de pipetas utilizadas, esterilidade dos cilindros carreadores, esterilidade da solução tampão fosfato utilizada nas diluições seriadas e esterilidade do meio de cultura Agar Tripton de Soja (TSA). Todos os controles apresentaram conformidade. Além disso, através da contagem de UFC foi possível determinar a densidade microbiana média dos 4 cilindros amostrados, com valores de log médio da densidade microbiana de 6,96, 6,79, 6,73 e 6,76. O resultado também é conforme com o que é preconizado no POP 65-3240-011, onde para *S. aureus* o log médio deve estar entre 6,0 e 7,0. Com a validação dos resultados, os cilindros carreadores que apresentaram crescimento microbiano nos respectivos tubos de resubcultura em que foram inoculados foram descartados. Os demais 38 cilindros foram triados com sucesso e estão prontos para serem usados em futuras análises de amostras de produtos pelo Setor de Saneantes do Departamento de Microbiologia.