
Utilização do óxido de etileno para esterilização de material médico – hospitalar

RÚBIAN MESSIAS DA SILVA (G-UNINGÁ)¹
APARECIDA DE PAULA GONÇALVES SANDRI²
VIVIANE NAKANO(USP)³
SHEILA ALEXANDRA BELINI NISHIYAMA (UNINGÁ)⁴

RESUMO

O óxido de etileno (ETO) foi introduzido no mercado como um agente esterilizante eficaz devido a crescente necessidade de incorporar técnicas com baixas temperaturas à rotina de esterilização de artigos termossensíveis ou hidrossensíveis médico-hospitalares. O principal efeito letal desse gás nos microrganismos é a sua ligação irreversível com as bases nitrogenadas, impedindo a duplicação do material genético e, conseqüentemente, a multiplicação celular. Além disso, o fato de ser um esterilizante gasoso favorece a sua penetração, tornando-o ainda mais eficiente. Entretanto, a manipulação do ETO requer alguns cuidados especiais, por se tratar de um gás potencialmente carcinogênico, teratogênico e extremamente tóxico. Dessa forma, este trabalho teve por objetivo discutir as particularidades da manipulação do ETO, visando à qualificação profissional e o estabelecimento de rigorosos procedimentos de biossegurança, aprimorando execução do trabalho, minimizando-se os riscos oferecidos. Assim, o ETO pode contribuir com segurança para o controle da infecção hospitalar e assegurar a melhoria da assistência ao paciente.

Palavras-chave: Óxido de etileno. Esterilização. Infecção hospitalar.

¹Acadêmica do Curso de Enfermagem, Faculdade Ingá – UNINGÁ –
e-mail rubianms@yahoo.com.br

²Especialista em Infecção Hospitalar e Nutrição (G&s Esterilização de Maringá)

³ Professora Doutora, USP – e-mail vivinkn@usp.br

⁴ Professora Mestre, Faculdade Ingá – UNINGÁ e-mail sheila_belini@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Desde os tempos mais remotos a humanidade vem tentando prover atenção, proteção e cuidados especiais às pessoas enfermas. Os hospitais foram criados para que os pacientes fossem tratados adequadamente e, também, isolados dos demais indivíduos da população, visando diminuir a incidência de disseminação dos agentes infecciosos. Entretanto, ao contrário do esperado, a segregação dos doentes não impediu a disseminação das doenças infecciosas, que continuavam a ocorrer com facilidade, dado às condições propícias do ambiente hospitalar, onde a tríade epidemiológica (agente, hospedeiro e meio ambiente) encontrava-se em íntima correlação, favorecendo ainda mais a transmissão das infecções (FERNANDES, 2000).

As Comissões Controle de Infecção Hospitalar (CCIH) foram criadas em 1976, órgão centralizador do Ministério da Previdência e Assistência Social na época. O objetivo das CCIH é de orientar e monitorar os casos de infecção hospitalar, estabelecendo e divulgando protocolos de conduta para minimizar os riscos de disseminação de microrganismos nesse ambiente, entre pacientes, funcionários e visitantes, principalmente dos organismos que apresentassem aspectos de resistência a tratamentos químicos e físicos e que fossem patogênicos ao homem (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1999).

Nos dias atuais as infecções pós-cirúrgicas e outras adquiridas em hospitais ainda continuam a ter importância tanto do ponto de vista clínico, como econômico, pois a aquisição de infecção hospitalar aumenta o tempo de internação, além da letalidade entre os pacientes (ZANON, 1978; HUTZLER, 1971). Os métodos de esterilização contribuem para o controle da infecção hospitalar, diminuindo os riscos para pacientes e profissionais de se exporem aos microrganismos patogênicos (MATSUYAMA, 1997).

A esterilização deve assegurar a esterilidade de produtos farmacêuticos, médico-hospitalares e alimentícios. A escolha do método mais adequado depende da natureza e da carga microbiana inicialmente presente no item considerado. O calor úmido e seco, a filtração, a radiação e o óxido de etileno podem ser citados como agentes esterilizantes (VESSONI, 1997).

Esses processos tornaram-se cada vez mais confiáveis, entretanto, nem todos são capazes de atender as novas exigências do mercado, devido ao aumento da complexidade dos artigos utilizados em técnicas cada vez menos invasivas. Tornou-se significativo, também, o número de itens a serem reprocessados pelos hospitais, devido ao seu alto custo, sendo

inviável a aquisição dos mesmos em grande número pelas instituições (QUELHAS, 2004). Entretanto, muitos desses materiais não suportam, como as conhecidas ligas metálicas, as elevadas temperaturas necessárias para os processos de esterilização em autoclaves a vapor ou estufas. Dessa maneira, foi necessário incorporar à rotina de esterilização do material médico-hospitalar, técnicas de esterilização com baixas temperaturas (POSSARI, 2003).

A irradiação gama, o plasma de peróxido de hidrogênio, o vapor a baixa temperatura e formaldeído (VBTF) e o óxido de etileno (ETO), são algumas opções para o controle de microrganismos a baixas temperaturas.

Alguns desses processos, entretanto, apresentam limitações restringindo sua utilização em larga escala e, em alguns casos, indicados somente para uso industrial, como a radiação (BURGESS; REICH, 1997). O plasma de peróxido de hidrogênio apresenta como desvantagem seu alto custo e a incompatibilidade com produtos contendo celulose, como o papel, o algodão e a gaze. Outra alternativa, largamente utilizada na Europa desde os anos 60, porém descartada nos Estados Unidos em virtude da sua legislação, é o equipamento que esteriliza a vapor a baixa temperatura e formaldeído (VBTF). Entretanto, segundo Possari; Almeida (2000), a maior desvantagem associada a essa técnica é a grande quantidade de formaldeído que pode ser absorvido pelos artigos médico-hospitalares, principalmente em artigos como papel, papelão e têxteis. Além disso, existem artigos incompatíveis com esse processo, pois há variações de pressão durante o ciclo de esterilização, limitando ainda mais o emprego dessa técnica. O óxido de etileno tem sido utilizado como uma alternativa eficaz e com amplitude de emprego para a esterilização de artigos termossensíveis, a baixas temperaturas.

ÓXIDO DE ETILENO

O ETO é um agente químico de alta eficiência no que se refere a esterilização de artigos médico-hospitalares, age à baixas temperaturas e possui alto poder de penetração, sem ser corrosivo. Trata-se de um gás incolor, de poder virucida, bactericida, fungicida, mais pesado que o ar, volátil, extremamente tóxico, inflamável e explosivo na presença de ar ou oxigênio, solúvel em água, éter, cetona e em pH ácido (RUTALA, 1998; POSSARI, 2003).

Descoberto por Wurtz (1859), foi inicialmente produzido para pulverizar produtos têxteis, drogas, livros e na agricultura como inseticida de atividade ampla. Na indústria do fumo, foi empregado para diminuir o tempo de envelhecimento e reduzir o conteúdo de nicotina (DEMARZO,

1997). A partir de 1949, quando sua ação esporicida foi estabelecida, as indústrias alimentícias passaram a utilizá-lo como agente esterilizante. Somente em 1962, mais de um século após sua descoberta, é que o ETO foi empregado na esterilização de artigos termossensíveis ou hidrossensíveis médico-hospitalares (NOGUEIRA, 1985).

O ETO puro (C_2H_4O) é tóxico, potencialmente cancerígeno, teratogênico, mutagênico e neurotóxico. Apresenta, ainda, características de inflamabilidade e explosividade ao atingir a concentração de 3% no ar, mas essa característica é facilmente superada pela mistura do ETO com gases inertes como o dióxido de carbono (CO_2) ou com hidrocarbonetos fluorados como o diclorofluormetano (CC_2F_2) (POSSARI, 2003).

Devido aos riscos operacionais (inflamabilidade e explosividade) e ocupacionais (mutagenicidade, carcinogenicidade, teratogenia, efeitos abortivos e hemolíticos), a utilização de óxido de etileno como agente esterilizante é regulamentada pelos Ministérios da Saúde e do Trabalho, através da Portaria Interministerial nº. 482, de 16 de abril de 1999. As normas técnicas de treinamento e o uso obrigatório dos equipamentos de proteção proporcionam uma segurança efetiva aos artigos e aos técnicos envolvidos no processo de esterilização (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1999).

As maiores vantagens relacionadas ao uso do ETO como agente esterilizante são associadas ao fato de se tratar de um gás altamente penetrante, com grande difusibilidade e solubilidade, substituindo o calor seco ou o vapor na esterilização de material termossensível, em danificá-los, promovendo um aumento da sua vida útil e proporcionando economia na reposição (LONGHI, 1994).

MECANISMO DE AÇÃO

O ETO provoca a alquilação das cadeias protéicas, ácidos nucléicos, peptídeos, aminoácidos e enzimas. Na alquilação, átomos de hidrogênio (H) são substituídos por radicais C_nH_{2n+1} nos grupos sulfidril (SH-) e hidroxil (HO-), causando injúria e/ou morte de células vegetativas e esporos microbianos. A ligação irreversível do ETO às bases nitrogenadas, impedindo a duplicação do material genético, inviabilizando a síntese protéica e, portanto, a multiplicação celular é considerada seu principal efeito letal (MICHAEL, 1970; PRAT, 1987).

Em determinadas condições o ETO tem sido empregado como um agente esterilizante eficaz, com bom poder de penetração em temperatura relativamente baixa, além disso, não corrói nem danifica metais, papel, plástico, borracha, couro, madeira ou lã. Contudo, a sua eficácia depende

da combinação de quatro elementos essenciais: concentração de óxido de etileno, temperatura, umidade, tempo de exposição e aeração, assegurando-se assim a utilização do ETO como agente esterilizante. A concentração mínima de gás recomendada para esterilização é de 450 mg/l, a temperatura empregada geralmente está entre 21 – 60°C, que pode, às vezes, danificar artigos muito sensíveis ao calor. A umidade relativa é de 40% a 60%. Nesse caso há a necessidade de um período de exposição mais longo ou aumento da concentração e a pressão entre 0,5 a 1 Kg/cm². O tempo de exposição pode variar de 3 a 4 horas e está relacionado aos parâmetros estabelecidos de acordo com a carga (contaminação relativa, densidade, conteúdo) e a permeabilidade do ETO (VESSONI, 2001; POSSARI, 2003). A aeração mecânica pode ocorrer dentro da própria câmara de esterilização, após o ciclo, ou em equipamento separado com trocas de ar, por um período de 4 horas e posteriormente, uma aeração ambiental, em área fechada, com sistema de ventilação e exaustão, por um período de 24 horas.

Atualmente, o ETO é utilizado para esterilização principalmente de artigos e dispositivos médico-hospitalares que não podem ser expostos ao calor (termossensíveis) e ou à umidade (hidrossensíveis). Dentre os artigos que podem ser esterilizados por esse gás, incluem-se instrumentos de uso intravenoso e de uso cardiopulmonar em anestesiologia, os de monitorização invasiva, telescópios (citoscópios, broncoscópios), materiais elétricos (eletrodos, fios elétricos), plásticos (cateteres, equips), de borracha (luvas cirúrgicas, cânula endotraqueal), máquinas (marcapassos), motores e bombas, entre outros. Entretanto, materiais de PVC (cloreto de povinil) são impermeáveis ao ETO, dessa forma só podem ser esterilizados pelo ETO se houver a certeza que o gás ficará em contato com toda superfície (VESSONI, 1994).

ETAPAS DO PROCESSO DE ESTERILIZAÇÃO COM O ÓXIDO DE ETILENO

As etapas do processo de esterilização com o ETO incluem limpeza, desinfecção, acondicionamento, esterilização e validação.

A LIMPEZA é uma etapa fundamental no processamento de qualquer artigo, pois é o procedimento mecânico que reduz a carga microbiana e a quantidade de matéria orgânica no material que será submetido à esterilização. A presença de elevada carga microbiana ou mesmo de sujidades podem comprometer a eficiência da esterilização.

Os materiais formados por vários componentes devem ser desmontados antes do início desse processo para que todas as superfícies sejam adequadamente limpas. Tanto a limpeza manual quanto a automatizada necessitam de água e detergente. Atualmente tem sido utilizado com bons resultados detergentes enzimáticos (são compostos basicamente por enzimas, surfactantes e solubilizantes) que são agentes limpadores de alta eficiência e agem sobre a matéria orgânica, decompondo sangue, pus e fluídos corpóreos presentes nos artigos. Além de promoverem limpeza adequada, estes produtos não são corrosivos, são atóxicos e biodegradáveis.

Para artigos de conformação complexa, a limpeza manual é a indicada, pois as máquinas não conseguem particularizar a limpeza nas reentrâncias destes artigos. Para isso, escovas com cerdas macias, pressão de ar e água e outros recursos, como hastes de algodão ajudam a remover as sujidades (APECIH, 1999).

Durante a limpeza do material todo profissional responsável por esse setor deverá fazer uso de EPIs (equipamentos de proteção individual) adequados a sua atividade. Os riscos inerentes a essa atividade são decorrentes das doenças de alta transmissibilidade, como hepatites (tanto a B como a C) e síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) que podem ser veiculadas através do material processado. Esses equipamentos não protegem os manipuladores dos acidentes com perfurocortantes, mas protege do contato da matéria orgânica contaminada com as mucosas e com a pele que apresentar microfissuras. Neste sentido, as EPIs obrigatórias para a limpeza desses artigos são luvas grossas de borracha de cano longo, confortáveis para o manuseio dos materiais, óculos de proteção ou máscara facial, pois há constatação de aquisição de HIV (vírus da imunodeficiência adquirida) e HBV (vírus da hepatite) por respingos de matéria orgânica em mucosa ocular. Outros EPIs desejáveis para o procedimento de limpeza incluem máscara, gorro, avental impermeável e cobertura para calçados ou botas de borracha (GARNER, 1986).

O processo de DESINFECÇÃO promove a destruição de microrganismos em objetos inanimados com exceção de esporos bacterianos. Este processo visa reduzir a carga microbiana presente nos objetos que serão posteriormente esterilizados pelo ETO, são utilizados para a desinfecção agentes químicos ou físicos (RUTALA, 1997). Entretanto, é válido ressaltar que alguns fatores podem alterar a eficácia dos procedimentos de desinfecção. A atividade antimicrobiana dos agentes químicos depende de uma variedade de fatores relativos à natureza, estrutura e condições dos microrganismos e características

químicas e físicas do desinfetante. O conhecimento desses fatores é imprescindível para uma adequada aplicação desses produtos e consequentemente uma desinfecção eficiente, a não observância desses fatores pode implicar insucesso desses procedimentos.

O material utilizado para o ACONDICIONAMENTO e a técnica de embalagem deve ser compatível com o processo de esterilização por ETO e deve permitir a manutenção da esterilidade e a qualidade dos produtos contidos em seu interior até o momento do uso (EUROPEAN PHARMACOPEIA, 1997). O papel grau cirúrgico tem sido usado com frequência para o acondicionamento do material submetido à esterilização pelo ETO, por apresentar características físicas, químicas e biológicas que permitem a esterilização e manutenção da esterilidade do produto. Podendo ser submetidos tanto a processos de esterilização, reesterilização e reprocessamento por esse gás (VESSONI, 1994).

O processo de ESTERILIZAÇÃO utilizando o ETO pode ser empregado em uma infinidade de artigos de uso hospitalar previamente processados, alguns vêm direto da fábrica, porém, necessitam de esterilização para serem utilizados (cateter venoso central e periférico, tubos oro - traqueais, sonda vesical, sondas de aspiração, equipos de soro). Entretanto, muitos outros artigos, de uso múltiplo são reprocessados dentro do hospital (instrumental cirúrgico, equipamento de terapia respiratória, bacias, papagaios, comadres) e no caso merecem atenção especial (POSSARI, 2003).

Durante a recepção do material deve-se verificar se o mesmo mantém as características originais e, em seguida, são encaminhados para esterilização/ reesterilização/ reprocessamento, conforme as características do artigo.

Todo material encaminhado para a primeira **esterilização** é lavado com água e sabão para remoção de sujeira e microrganismos e, posteriormente, enxaguado com água corrente para completa remoção do sabão, a secagem deve ser rigorosa. Estas ações têm por objetivo diminuir a contaminação que possa existir no material.

A **reesterilização** é o processo de esterilização de artigos já esterilizados, mas não utilizados, em razão de vencimento de prazo de validade ou quando houver dúvida quanto à segurança, ao processo ou aos resultados da esterilização inicial (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1999).

No **reprocessamento** são submetidos os correlatos que não sejam de uso único, a fim de que possam ser reutilizados com total segurança para o usuário e para quem possa manusear. Segundo a Portaria nº. 4 do Ministério da Saúde de 07/02/86 o reprocessamento é o processo a ser aplicado a artigos médico-hospitalares para permitir sua reutilização, que

inclui limpeza, desinfecção, preparo, embalagem, rotulagem, esterilização e controle de qualidade.

Os artigos devem estar perfeitamente limpos, permitindo o contato íntimo do agente esterilizante com a possível carga microbiana residual. Este processo tem início na coleta, transporte seletivo, triagem e classificação dos artigos, a seguir, passa-se para purificação química, com o uso de técnicas físico-químico-mecânicas que proporcionem a total eliminação de resíduos orgânicos e inorgânicos, comprovada por testes específicos. Na etapa seguinte, promove-se a secagem completa, através de métodos que respeitem as características individuais de cada artigo.

Todo material é observado durante a lavagem, enxágüe e secagem em relação a sua coloração. Sabe-se que principalmente as borrachas sofrem alteração na coloração quando estão perdendo suas características físicas, na presença de ranhuras, o material deve ser desprezado. Os plásticos, vão opacificando-se aos poucos, pois o óxido de etileno, principalmente com Freon (CCl_2F_2), provoca enrijecimento de plásticos e borrachas. Esses artigos, também, são testados para confirmar seu perfeito funcionamento utilizando-se balonetes, válvulas. Nas tubulações plásticas deve ser observada a presença de dobras. Estas observações são complementares na seleção dos materiais, que antes da esterilização devem conservar suas características originais tanto físicas como de funcionamento. Na vigência de qualquer alteração nestes aspectos, o material deve ser desprezado, retornando ao cliente classificado como “sem meios de processamento”; já os artigos aprovados passam, finalmente, para as etapas de acondicionamento em embalagens específicas, termosselagem e identificação (nome, cliente, setor e data de envio). Somente após todo esse processo o artigo é considerado em condições de ser encaminhado a esterilização.

A primeira etapa do ciclo de esterilização é a elevação da temperatura até aproximadamente 55°C . A câmara deve ser submetida a vácuo de 490 a 600 mmHg, a fim de retirar o ar existente nos pacotes e na câmara para promover condições ótimas de umidificação e de transmissão de calor, o vácuo deve ser fracionado para facilitar a acomodação dos artigos à pressão que estão sendo submetidos sem danificá-los. Na umidificação é introduzido o vapor na câmara até atingir uma umidade relativa de 40 a 60%, a fase de umidificação depende do tamanho e densidade da carga. Logo após ocorre a admissão do gás onde a mistura gasosa sob pressão e concentração pré-determinada é introduzida na câmara. O tempo de exposição pode variar em função do tipo de embalagem, do volume e densidade da carga, em média 3 horas ou mais. Na redução da pressão e eliminação do gás devem ser tomados cuidados

para proteger os operadores dos equipamentos, para diminuir resíduos nos produtos e para preservar a integridade da embalagem. O período de aeração é necessário para que o óxido de etileno residual possa ser reduzido a níveis seguros para utilização dos artigos nos pacientes e para o manuseio pela equipe.

A VALIDAÇÃO da esterilização por óxido de etileno é realizada utilizando-se testes físicos, químicos e microbiológicos.

Controle físico: controlar o desempenho do esterilizador através da observação dos parâmetros durante o processo de esterilização, como exemplo: a temperatura, a pressão, a concentração do gás na câmara e a umidade relativa.

Controles químicos: são classificados em: a) Indicadores de processo: constitui-se de sistema químico aplicado a um substrato (tiras de papel crepado ou na própria embalagem) que muda de coloração quando submetido às condições de esterilização a óxido de etileno e em b) Indicador de esterilização (integrador): consiste de uma película sensível ao ETO e à temperatura, acondicionada em uma embalagem formada por uma lâmina de papel filme e a outra por lâmina de papel/filme e metal laminado, com pastilhas em forma sólida e um papel condutor, ou também apresentação em forma de tiras de papel impregnadas com substâncias químicas que muda de coloração quando expostas às condições de tempo, temperatura, concentração do gás e a umidade relativa.

Controle biológico: utilizados para o controle da eficácia do processo de esterilização. No teste microbiológico, ampolas contendo esporos secos do *Bacillus atrophaeus* (*Bacillus stercorophilus*) são utilizadas como indicadores biológicos. O *B. atrophaeus* é um organismo Gram-positivo, esporulado, não patogênico graças a sua termofilia, resistente ao processo de esterilização a óxido de etileno (FRITZE; PUKALL, 2001).

O controle residual do ETO constitui também uma etapa importante do processo, já que a concentração do gás no ambiente de trabalho acima do preconizado pode provocar inicialmente irritação dos olhos, nariz, e garganta e tardiamente câncer, cefaléia, dispnéia, cianose, edema pulmonar, sonolência, fraqueza, incoordenação motora, anormalidade eletrocardiográfica e excreção urinária de pigmento biliares. O limite de tolerância é de 1 ppm para uma jornada de 8 horas diárias e, de 5 ppm para uma exposição de 15 minutos.

A cromatografia gasosa é o método indicado para o controle do óxido de etileno e seus derivados em artigos esterilizados e no

monitoramento ambiental, podendo ser utilizado como instrumento de leitura direta ou por amostragem. Os equipamentos de leitura permitem leitura de concentração que variam de 1 a 1000 ppm. São úteis na identificação de vazamento através de um monitor contínuo ou detector contínuo de gás.

Método por leitura direta: O ar da área de esterilização é amostrado continuamente, utilizando-se uma bomba de vácuo, dos seguintes locais: depósito de cilindros de misturas esterilizantes, linhas de alimentação, área de esterilização e portas das autoclaves, sala de apoio, corredores e sala de controle.

Método de amostragem: Este método de análise ambiental se baseia em análises de amostras de ar ou carvão ativo onde foi adsorvido o gás óxido de etileno.

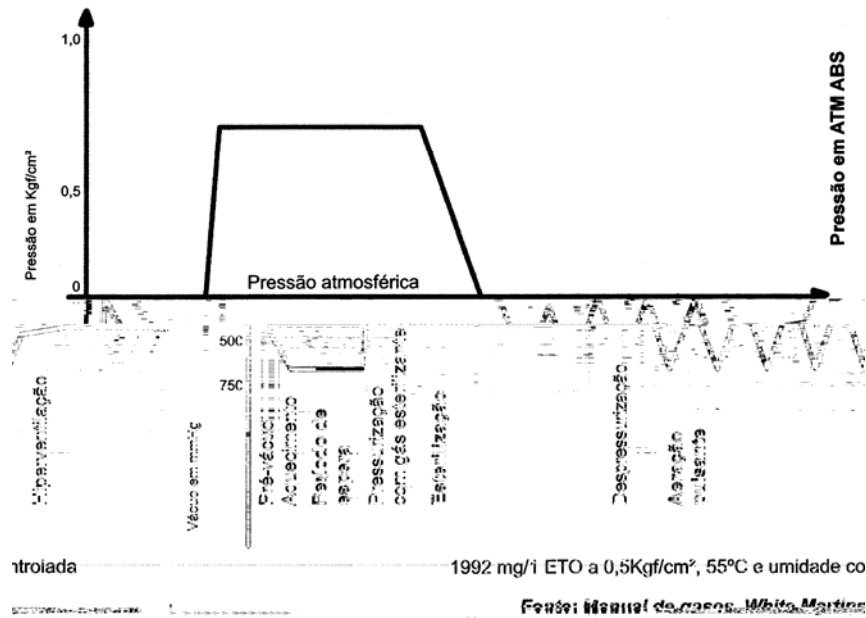


Figura 1 - Etapas do processo de esterilização com óxido de etileno (ETO)

CONCLUSÕES

Tendo em vista a necessidade do questionamento sobre a habilidade da tecnologia em esterilização ser eficiente para eliminar todos os tipos de microrganismos, especialmente em instrumentos complexos, o óxido de etileno apresenta-se como uma opção eficiente para a esterilização de muitos artigos. Pode ser, portanto, empregado com segurança em muitos produtos delicados, prolongando a vida útil desse material e deixando inclusive de agredir a natureza pelo descarte de resíduos não absorvíveis pelo tempo.

Adicionalmente, podemos sugerir através dos dados levantados nesse trabalho que a utilização do óxido de etileno em produtos médico-hospitalares pode contribuir muito para o controle da infecção hospitalar e assegurar conseqüentemente a melhoria na assistência ao paciente, aumentando a qualidade de atendimento à população.

É importante, ainda, enfatizar a necessidade do profissional de enfermagem ocupar o seu espaço nos estudos que contribuem para os avanços da ciência e a assistência aos pacientes, além do manuseio adequado das tecnologias e o conhecimento das leis em vigência que regulamentam os processos de esterilização.

REFERÊNCIAS

APECIH. Associação Paulista de Estudos e Controle de Infecção Hospitalar . **Limpeza, desinfecção de artigos e áreas hospitalares e anti-sepsia**, 1999.

BRASIL. **Ministério da Saúde e Ministério do Trabalho**. Portaria Interministerial nº 482, de 16 de abril de 1999. Dispõe sobre o uso de óxido de etileno. Diário Oficial da União, Brasília, 19 abril, 1999.

BURGESS, D. J.; REICH, R. R. **Ethylene oxide sterilization. scientific principles**: sterilization technology for the health care facility. 2.ed. Maryland, 1997. Cap.21

DEMARZO, D. S. A. Esterilização por óxido de etileno: a utilização de serviços terceirizados. *SOBECC* . 2(1): 6-11, 1997.

EUROPEAN PHARMACOPEDIA., **Strasbourg**: concil os europe, 1997 – European Pharmacopeia / *published in accordance with the convention on the elaboration of a European Pharmacopeia*, 3.ed., 1997.

FERNANDES, A. T. **Infecção hospitalar e suas interfaces na área da saúde**. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2000.

FRITZE, D.; PUKALL, R. Reclassification of bioindicator strains *Bacillus subtilis* DSM 675 and *Bacillus subtilis* DSM 2277 as *Bacillus atrophaeus*. *Int J Syst Evol Microbiol*. 51:35-7, 2001.

GARNER, J. S.; FÁVERO, M. S. Guidelaine for Handwashing and hospital environmental control, *Am J Infect Control*, 14:110-126, 1986.

HUTZLER, R. U. **Staphylococcus aureus e bactérias Gram-negativas em pacientes hospitalizados**. Tese de doutorado. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP), 1971.

LONGHI, L. F. **Manual de esterilização por óxido de etileno**. São Paulo, 1994.

MATSUYAMA, M. Prevention of infection in dental air-water syringes. *Clin. Prev. Dent.*, 12:13-20, 1997.

MICHAEL, G. T. Ethylene Oxide Sterilization of *Salmonella senftenberg* an *Escherichia coli*: death kinetics an mode of action. *J. Food Scie*; v.35, p.631-634, 1970.

NOGUEIRA, M. H. N. Estudo do nível de impregnação do ar ambiental pelo óxido de etileno. Parte II *Enfoque*, 13(1): 7-11, 1985.

OLIVEIRA, L. A. **Roteiro didático de microbiologia curso atendente de consultório odontológico** – Centro Tecnológico de Odontologia, 2001. Disponível em: www.ctodonto.com.br/main/01_roteiro.htm Acesso em: 20/03/2005.

PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Celebrating 95 years: 1902-1997 – **Protecting Americas'Health. Regional office for the Americas of the Who**. P. 1-3. 1997. and **Pan American Health Organization (PAHO): integrated management of childhood (IMCI)**:

“Healthy children: goal 2002”. Epidemiological bulletin, 20 (4): 3-6, 1999.

POSSARI, J. F. **Esterilização por óxido de etileno**. 1. ed., São Paulo: Iátria, 2003.

POSSARI, J. F.; ALMEIDA, E. C. Vapor a baixa temperatura e formaldeído (VBTF): uma nova alternativa para a esterilização de artigos médico-hospitalares. *Revista Sobecc*, Ano5, n.3, p.25-28, 2000.

PRAT, M. N. Aspectos toxicológicos de la exposicion al oxido de etileno. *Rev. Saúde Pública de São Paulo*. v.21, n.6, p.523-528, 1987.

QUELHAS, M. C. F. **A esterilização na era da tecnologia**: o futuro dos processos em esterilização no século XXI. Hospital Central Unicamp, 2004. Disponível em: www.hc.unicamp.br/servicos/cme/artigo3.htm
Acesso em: 22/11/2004.

RUSSEL, A. D. et al **Gaseus sterilization**. *In: Principles and practice of disinfection preservation and sterilization*. p. 548-568, 1982.

RUTALA, W. Disinfection, sterilization, and waste disposal. *In: Wenzel R., Prevention an Control of Nosocomial Infections*. 3.ed Baltimore: Williams & Wilkins., 1997.

RUTALA, W. A. **Disinfection, sterilization and antiseptics in health Care** (Edited by Rutala WA), *New York: Polyscience Publishers*, p. 292, 1998.

SPRY, C. C. **Intervention in infection control**: sterilization in the XXI century. *In: Word Conference of Operating Room Nurses X*. Toronto, Canadá. 492p, 1997.

VESSONI, P. T. C. Esterilização térmica: conceitos básicos da cinética de morte microbiana. *Revista Farmácia Bioquímica Univ. São Paulo*. (Supl. 1): 1-5,1997.

VESSONI, P. T. C. Validação de processos de esterilização: conceitos básicos. São Paulo: *Iátria*, v.15, n.88, p.46-48, 1994.

VESSONI, P. T. C.; MAZOLA, P. G.; MARTINS, A. M. The efficacy of chemical agents in cleaning and disinfections programs for hospital nurseries. *J BMC Infectious Diseases*, 1:16, 2001.

ZANON, U. **Vigilância epidemiológica das infecções hospitalares.** Tese de doutorado. Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), 1978.