



História, evolução e importância da área estéril

History, evolution and importance of the sterile area

Dr. Bruno Soerensen

Coordenador do curso de Medicina Veterinária na FAI

Daniele de Oliveira

Mestre em Microbiologia e docente na FAI

Maiza Possari

Aluna do 7º. Termo Ciências Biológicas FAI

Resumo

Tão logo o homem adquiriu inteligência o suficiente para distinguir as diferenças entre os seres vivos, e, observar a natureza ao redor, passou a enveredar-se mais e mais no desconhecido em busca de respostas para seus enigmas. Muitas especulações, teorias, tentavam explicar a origem das doenças, correlacionando-as até mesmo com influências astrais. Graças à invenção da microscopia, hoje, sabemos da existência dos microrganismos e temos a consciência da ubiquidade e dos efeitos da presença destes seres microscópicos. Hieronymus, Plenciz, Semmelweis, Lister, Louis Pasteur e Robert Koch representam estudiosos que contribuíram para a elucidação do mundo invisível aos olhos humanos. Desvendaram o “enigma” das doenças infecciosas e implantaram técnicas desinfetantes e antissépticas em cirurgias. Os conhecimentos gerados sob os alicerces fundamentados por tais cientistas, permitiram ascensão de várias áreas da ciência. A tecnologia aliada ao conhecimento, permite-nos obter áreas completamente livre de microrganismos, apesar da ubiquidade desses seres. Este trabalho tem como objetivo revisar a história, evolução e importância dos conhecimentos microbiológicos, entre eles o desenvolvimento da tecnologia da área estéril, fundamental para ciência moderna.

Palavras Chaves: microrganismos, area estéril, fluxo laminar, evolução da ciência.

Abstract

As soon the man acquired intelligence enough to distinguish the differences among the alive beings, and, to observe the nature around, it started to lead more and more in the stranger in search of answers for their enigmas. A lot of speculations, theories, tried to explain the origin of the diseases, correlating them even with astral influences. Thanks to the microscopic invention, today, we know about the existence of the microorganisms and we have the aware of the ubiquity and of the effects of these microscopic beings' presence. Hieronymus, Plenciz, Semmelweis, Lister, Louis Pasteur and Robert Koch act studios that contributed for the elucidation of the invisible world to the human eyes. They unmasked the “enigma” of the infectious diseases and they implanted disinfecting and antiseptic techniques in surgeries. The knowledge generated under the foundations based by such scientists, allowed ascension of several areas of the science. The allied technology to the knowledge, allows to obtain us completely areas free from microorganisms, in spite of those beings' ubiquity. This work has as objective revises the history, evolution and importance of the microbiologic knowledge, among them the development of the technology of the sterile area, fundamental for modern science.

Key Words: microorganisms, sterile area, laminate flow, science evolution.



Existem muitos, muitos microrganismos a nossa volta - em todos os lugares. Apesar de serem imperceptíveis a olho nú, são criaturas de maior sucesso na Terra, se sucesso for medido em número de indivíduos.

São encontrados em todos os habitats concebíveis do planeta, do mais frio ao mais quente, do mais ácido ao mais alcalino e ao mais salgado. Alguns vivem onde o oxigênio é abundante, e outros onde não há oxigênio. Eles se estabeleceram no fundo dos oceanos, em rochas a mais de 2 Km de profundidade da superfície da Terra e até mesmo dentro de outros organismos, grandes ou pequenos. Seus efeitos em nosso ambiente, são diversos e profundos.

A descoberta do mundo microscópico só foi possível após a invenção do microscópio. Acredita-se que o microscópio tenha sido inventado em 1591 por dois holandeses fabricantes de óculos: Hans Janssen e seu filho Zacharias. Tudo indica, porém, que foi o holandês Antonie Van Leeuwenhoek (1632-1723) o primeiro a fazer observações microscópicas de materiais biológicos: observou detalhadamente embriões de plantas, glóbulos vermelhos do sangue, espermatozoides presente no sêmen de animais e a existência dos “micróbios”.

A medicina anterior a descoberta do microscópio e dos micróbios, fundamentava-se sobre a teoria dos humores (legado Hipocrático e Galênico), ou seja o corpo humano teria quatro humores: sangue, fleuma, bÍlis amarela e bÍlis negra. O sangue procedia do coração, a fleuma do cérebro, a bÍlis amarela do fÍgado e a bÍlis negra do baço. Hipócrates, Galeno e Avicena basearam-se nos elementos da natureza (ar, água, fogo e terra), representando-a no corpo humano, o qual passava a ser visto como um microcosmo natural: o sangue era quente e úmido, como o ar; a fleuma era fria e úmida, como a água; a bÍlis amarela era quente e seca, como o fogo; a bÍlis negra era fria e seca como a terra.

Quando os humores corporais da pessoa estavam em equilíbrio, a pessoa gozava de boa saúde e este estado era designado por *Eukrasia*. Quando os humores estavam em desequilíbrio, a pessoa enfermava e a este estado, dava-se o nome de *Dyscrasia*. O trabalho do médico era encontrar o meio de recuperar o equilíbrio humoral perdido.

A medicina medieval estava estritamente ligada à astrologia. Por exemplo, os médicos da Universidade de Paris, afirmavam que a 20 de março de 1345, à uma hora da tarde, uma conjunção de três planetas superiores - Saturno, Júpiter e Marte - no signo de Aquário, causou uma corrupção do ar circundante. Esta indicação astral, significava, juntamente com a teoria humoral, prenúncios de grandes fomes, pestilência e alta taxa de mortalidade. Os efeitos da Morte Negra nas diversas zonas geográficas deviam-se às variações regionais da intensidade dos raios dos planetas. Gentile de Foligno, catedrático de medicina da Universidade de Pádua, afirmou que a conjunção dos planetas produz material contaminante no ar que se fixa ao redor do coração e dos pulmões produzindo doenças. Assim, a teoria ambiental conectada com os fenômenos naturais, erupções vulcânicas explicava coerentemente a questão da pestilência. Outros teorizantes, baseados sobretudo em Galeno, explicavam que a causa de pestilência, sendo ambiental ou astral, propagava-se por *Contagium* e *miasmas*.

Contagium era uma substância derivada do corpo do doente e que, passando de um indivíduo para outro, transmitia a moléstia. *Miasma* era uma substância gerada fora do corpo e que, espalhando-se por intermédio do ar, produzia a doença. Hieronymus Fracastorius, no seu livro “*De contagionibus et contagiosis morbis et eorum curatione*” (1546), foi o primeiro a postular a idéia de que o *contagium* fosse devido agentes vivos, criando assim a doutrina do *Contagium vivum*. Durante cerca de dois séculos foi esta doutrina, porém, discutida apenas sobre a base de especulações teóricas, até que em 1762, o médico



Vienense Plenciz, reconhecendo a descoberta dos micróbios por Leeuwenhoek (1675), não só atribuiu aos *animalunculus* a causa das doenças, como também a cada doença seu micróbio específico.

Em 1847, Semmelweis, em Viena, no decurso de estudos sobre a infecção puerperal, observou que a mortalidade nas enfermarias em que trabalhavam estudantes era muito mais elevada que nas enfermarias assistidas por parteiras.

A morte de um colega, vitimado por infecção contraída através de ferimento durante uma autópsia, levou Semmelweis à convicção de que a diferença acima referida se devia ao fato de que os estudantes vinham diretamente da sala de dissecações para a enfermaria, trazendo nas mãos micróbios infectantes.

Orientado por essa idéia, Semmelweis, exigiu dos estudantes a desinfecção das mãos em solução de hipoclorito e, com esta simples medida, fez baixar a mortalidade por infecção puerperal de 12 a 1,2%.

Louis Pasteur (1861), através do clássico experimento com frascos de “pescoço de cisne” demonstrou que não existia geração espontânea de microrganismos, mas sim, contaminação à partir de uma fonte pré-existente.

Henle, na mesma época, estabeleceu as condições para que um agente particular pudesse ser considerado causador de uma doença infecciosa:

- Devia ser encontrado com constância no corpo do doente;

- Devia ser possível isolá-lo e, com tal agente isolado, reproduzir experimentalmente a doença.

Tais postulados foram impostos aos bacteriologistas pelo prestígio de Robert Koch. O cirurgião inglês Lister (1867), impressionado com os trabalhos de Pasteur, inicia a cirurgia antisséptica, usando como desinfetante a pulverização de ácido fênico sobre o campo pós operatório (Figura 1)

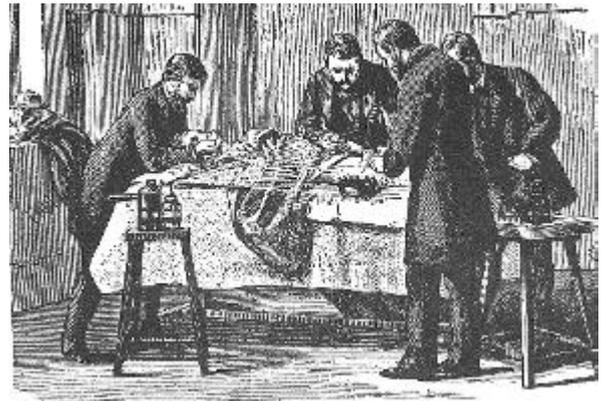


Figura 1- Cirurgia asséptica ao tempo de Lister. Notar a pulverização de ácido fênico sobre o campo pós operatório.

Fonte: Bier, O. 1976. *Bacteriologia e Imunologia, em suas aplicações à medicina e à Higiene*. 17 ed. Melhoramentos p 6

A era bacteriológica se inicia em torno de 1880, com os trabalhos de Louis Pasteur e Robert Koch.

Semmelweis e Lister foram, portanto, os primeiros cirurgiões que desinfetaram as mãos, o instrumental cirúrgico, etc., de modo a evitar a infecção da ferida operatória. Hoje, a cirurgia antisséptica de Lister cedeu lugar a cirurgia asséptica em salas estéreis.

Os métodos empregados através dos tempos para evitar as contaminações ambientais variaram desde a flambagem de instrumentais em chama direta com Bico de Bunsen, o uso de vapores de formol, a filtração de ar para eliminação de partículas de ar grosseiras, as lâmpadas de arco voltaico e posteriormente as lâmpadas de luz ultravioleta de baixa intensidade.

Para a esterilização de ambientes, com o transcorrer dos anos, foram desenvolvidos sistemas de lâmpadas ultravioleta de alta intensidade combinadas a filtração grosseira. No entanto, os problemas da eliminação de partículas geradas no ar, as zonas de turbulência e baixa pressão produzidas pela injeção do ar filtrado, revelaram problemas.

Uma grande quantidade de microrganismos, normalmente, é encontrada em suspensão no ar,



podendo o número variar de 100 a 100.000 germes/m³. Os mais encontrados são os cocos, bacilos Gram positivos, os difteróides e fungos.

Um número elevado destes microrganismos, têm a sua origem no próprio homem, que os emite diretamente. A contaminação originada das exalações humanas e da pele depende do tipo de atividade que estejam realizando, do período transcorrido do banho e do tipo e material da roupa usada. Nos mais variados graus de atividade, uma pessoa pode emitir 3.000 a 50.000 partículas superiores a 0.3 microns. O ambiente no qual encontra-se trabalhando pode chegar a conter até 10.000.000 destas partículas. A figura 2 revela o número de partículas, maiores que 3 microns, emitidas segundo a atividade das pessoas.

As partículas ficam em suspensão no ar e, dependendo da velocidade, podem ser transportadas por centenas de metros antes de se depositarem sobre alguma superfície, como paredes, pisos, pessoas ou materiais que se encontram na proximidade.

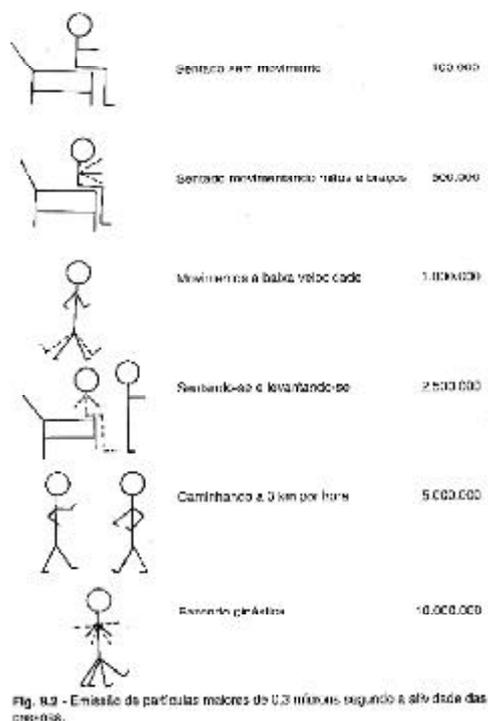


Figura 2- Emissão de partículas maiores de 0,3 microns segundo a atividade das pessoas.

Fonte: Soerensen, B. 1995. Vacinas. 1 ed, Livraria Santos, p 59.

Em 1955, nos Estados Unidos, foi desenvolvido um sistema chamado “fluxo laminar”. (Figura 3). Tal sistema consiste na movimentação unidirecional de uma massa de ar ultrafiltrada, que se movimenta a baixa velocidade, rodeando qualquer objeto ou pessoa de uma atmosfera absolutamente estéril. Essa tecnologia de ultrafiltração retém cerca de 99,97% das partículas superiores a 0.3 micras, sendo eficaz até mesmo contra os vírus, os quais geralmente encontram-se associados a partículas maiores que o valor acima citado.

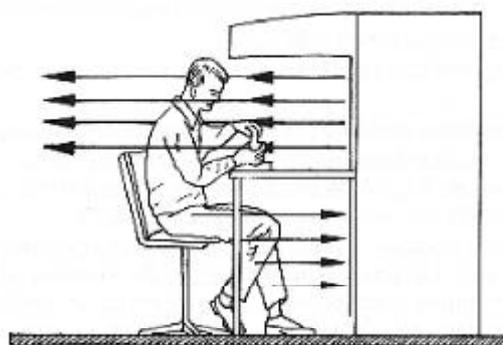


Figura 3- Cabine de fluxo laminar horizontal

Fonte: Soerensen, B. 1995. Vacinas. 1 ed, Livraria Santos, p 61.

O avanço tecnológico do sistema de ultrafiltração do ar com garantia da esterilização, mudou o critério de áreas físicas dos laboratórios microbiológicos, biotérios e zonas críticas de hospitais, de modo que, antigas salas assépticas foram substituídas por áreas estéreis.

Para a obtenção da esterilidade, um conjunto de cuidados devem ser tomados:

I- A sala deve apresentar condições que favoreçam a limpeza: evitar o acúmulo de poeiras nos cantos, assim como revestimento impermeável da parede, piso e teto (os quais não devem apresentar irregularidades e devem ser pintados com epoxi).

II- O material que tem acesso a área estéril, deverá estar isento de microrganismos. Tal propó-



sito pode ser conseguido através do uso de autoclaves, fornos de dupla porta, ou caixas de passagem também com dupla porta, dotadas de lâmpadas germicidas.

III-O acesso de pessoas a sala, ocorre imediatamente após a passagem por chuveiros assépticos de 3 compartimentos: no primeiro o indivíduo despe-se; no segundo toma banho e no terceiro veste-se com uniforme especial e esterilizado. Em seguida, o operador, recebe um fluxo de ar estéril para livrar a superfície da vestimenta (constituída por fibras especiais) de qualquer partícula.

Quando microrganismos patogênicos forem manipulados, o ar do ambiente deverá ser novamente submetido a ultrafiltração, ou à passagem por incineradores de ar, antes de ser eliminado para o exterior. A eficiência dos filtros pode ser testada periodicamente através de equipamento eletrônico de contagem de partículas, assim como pela contagem de colônias através de testes bacteriológicos.

A tecnologia para obtenção de áreas estéreis permitiu a evolução da ciência. Nos laboratórios de imunologia, esse avanço tecnológico permitiu a preparação segura de vacinas atenuadas, que exigem elaboração em condições de esterilidade absoluta, tais como a BCG, a poliomíotica (tipo Sabin), contra o sarampo, encefalite etc. As áreas estéreis também revolucionaram a obtenção de animais laboratoriais livres de germes (Germ Free) e ou livre de germes patogênicos específicos (Specific Pathogenic Free), os quais podem ser uti-

lizados com segurança nos mais variados trabalhos das áreas de Imuno e Microbiologia.

As áreas estéreis, também beneficiaram indústria química farmacêutica, uma vez que o preparo desses produtos exigem elevado controle de esterilidade; e os centros cirúrgicos, especialmente os pacientes submetidos a intervenções extensas e ou tratados com imunossuppressores.

Bibliografia

Amabis, J. B.; Martho, G. R. 1997. **Fundamentos da Biologia Moderna**. 2 ed. Moderna, SP

Moscатели, R. 1997. **Revista Janus**. Ano I, n.2. Novembro <http://www.dhi.uem.br/publicacoesdhi/janus/02.html#top> (14/05/2005- 19:35hr)

Otto, B. 1976. **Bacteriologia e Imunologia em suas Aplicações à Medicina e à Higiene**. 17 ed. Melhoramentos, RJ.

Purves, W. K; Sadava, D.; Orians, G. H.; Heller, H. C.2002. **Vida, a Ciência da Biologia**. 6ed. Artmed, RS.

Soerensen, B. 1978. **Área Estéril**. O Estado de São Paulo, 05/03/1978. Ano II, n. 72.

Soerensen B. 1995. **Vacinas**. 1ed, Santos, SP.

World Health Organization. 1981. Meeting on Guidelines for Biological Safety Cabinets. Porton Down, 27-29.