

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Alexandre Alves de Oliveira

**ISOLADOR COMO ALTERNATIVA SEGURA E EFICAZ PARA OS TESTES DE
ESTERILIDADE EM IMUNOBIOLOGICOS**

Rio de Janeiro

2013

Alexandre Alves de Oliveira

**ISOLADOR COMO ALTERNATIVA SEGURA E EFICAZ PARA OS TESTES DE
ESTERILIDADE EM IMUNOBIOLOGICOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Especialização em Controle da Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços vinculados à Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Vigilância Sanitária.

Orientadora: Silvia Maria Lopes Bricio

Rio de Janeiro

2013

Catálogo na Fonte
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
Biblioteca

Oliveira, Alexandre Alves de

Isolador como alternativa segura e eficaz para os testes de esterilidade em imunobiológicos / Alexandre Alves de Oliveira. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2013.

45 f, il, tab.

Monografia (Especialização em Controle da Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços vinculados à Vigilância Sanitária) Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. Fundação Oswaldo Cruz. 2013.

Orientadora: Silvia Maria Lopes Bricio

1. Cabine de Segurança Biológica. 2. Isolador. 3. Monitoramento Ambiental.

Alexandre Alves de Oliveira

**ISOLADOR COMO ALTERNATIVA SEGURA E EFICAZ PARA OS TESTES DE
ESTERILIDADE EM IMUNOBIOLOGICOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso de Especialização em Controle da Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços vinculados à Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz como requisito parcial para obtenção do título de Especialista em Vigilância Sanitária.

Aprovado em: 28/08/2013

BANCA EXAMINADORA

Dr. Antônio Eugênio Castro Cardoso de Almeida
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Msc. Beatriz Cyranka
Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos)

Dra. Ana Paula Pereira Alcides
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Silvia Maria Lopes Bricio (Orientadora)
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Agradecimentos

À Deus pela saúde e oportunidade.

Aos meus pais pela orientação e exemplo.

À minha esposa pela ausência devido ao trabalho de monografia.

Aos parentes e amigos pela força e incentivo.

Aos mestres pelo aprendizado, ao pessoal que dão suporte ao curso.

À minha orientadora que teve calma, parcimônia e gentileza sem perder o bom humor em todos os nossos encontros.

Aos colegas de trabalho que exerceram e exercem a divina paciência por esses anos de convívio.

Resumo

A inovação tecnológica acompanha a qualidade na indústria farmacêutica. A Cabine de Segurança Biológica está dando lugar à tecnologia de isoladores nos testes de esterilidade em imunobiológicos ao retirar a maior fonte de contaminação que é o operador. O isolador minimiza a possibilidade de contaminação da amostra uma vez que toda a área de trabalho e o material utilizado nos testes são descontaminados com gás de peróxido de hidrogênio por todo o ambiente. O presente estudo teve por objetivo avaliar os monitoramentos ambiental referente aos resultados das amostragens: ativa do ar, passiva do ar (sedimentação em placas de Petri) e de contato em superfícies e operadores de áreas limpas (Classe A) no período de 2010 a 2012 em um Laboratório Público Federal no Rio de Janeiro. De acordo com os resultados obtidos dos monitoramentos durante os testes de esterilidade, observou-se que na cabine de segurança biológica ocorreram variações consideráveis durante os três anos de estudo, enquanto os monitoramentos realizados no isolador as variações dos resultados foram mínimas. Estes resultados reforçam que o isolador apresenta segurança, eficiência e confiabilidade ao reduzir contaminação no ambiente de trabalho, garantindo alta qualidade em seu processo.

Palavras – chave: Cabine de Segurança Biológica, Isolador, Monitoramento Ambiental.

Abstract

The technological innovation monitors the quality in the pharmaceutical industry. The biohazard cabinets is giving way to technology in isolators in the sterility testing in immunobiological to remove the major source of contamination, that is the operator. The isolator minimizes the possibility of contamination of the sample since all the work area and the material used in the test are together decontaminated by sterilizing gases such as ethylene oxide or hydrogen peroxide vapor, which act on the entire surface of the environment. The present study aimed to evaluate the environmental monitoring on the results of sampling: active air; passive air (sedimentation in petri dishes) and contact of clean surfaces and operators in the period 2010 to 2012 in a public federal laboratory in Rio de Janeiro. In accordance with the results of the environmental monitoring during sterility tests, it was observed that the biohazard cabinets there were considerable variations during these three years of study, while monitoring accomplished in isolator the variation results were minimal. These results reinforce that the isolators has security, efficiency and flexibility to reduce potential contamination of the environment and assures high quality in your process.

Keywords: Technological Innovation, Biohazard Cabinets, Isolators, Environmental Monitoring.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES E TABELAS

Quadro: 1 Classificação de cabines de segurança biológica	17
Figura 1 – Cabine de Segurança Biológica Classe II A.....	18
Figura 2 – Esquema do funcionamento da CSB classe II tipo A	19
Figura 3 – Operadores realizando teste de esterilidade no isolador	21
Figura 4: Isolador rígido	21
Figura 5 – Operadores introduzindo material a ser sanitizado	22
Figura 6: área limpa	23
Quadro 2 – Comparação entre os diferentes sistemas de classificação para áreas limpas, em repouso	24
Figura 7: Sala do isolador em ambiente classe D	24
Figura 8 – Operador com vestimenta apropriada para área limpa	26
Quadro 3 - Classes de limpeza do ar para partículas em suspensão, selecionadas para salas e zonas limpas.....	27
Quadro 4 – Limites para contaminação microbiológica.....	30
Quadro 5 – Sistema de classificação do ar para a produção de produtos estéreis...31	
Figura 9: amostrador MAS 100 (Merck)	36
Figura 10: amostrador M AirT (Millipore).....	36
Tabela 1 – Resultado do monitoramento ambiental ativo, passivo e de contato da cabine de segurança biológica no período de 2010 a 2012.....	38
Tabela 2 - Resultado do monitoramento ambiental ativo, passivo e de contato do isolador no período de 2010 a 2012.....	39
Figura 11 - Comparação do monitoramento ativo na CSB e no Isolador no período de 2010 a 2012	40
Figura 12 - Comparação do monitoramento passivo na CSB e no Isolador no período de 2010 a 2012	41
Figura 13 - Comparação do monitoramento por contato na CSB e no Isolador no período de 2010 a 2012.....	42

LISTA DE SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CEV	Campanha de Erradicação da Varíola
CSB	Cabine de Segurança Biológica
EC-GMP	“European Commission - Good Manufacturing Practice”- Comissão Européia de Boas Práticas de Fabricação
EUA	Estados Unidos da América
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HEPA	“High Efficiency Particulate Air” – Filtro de ar de alta eficiência na separação de partículas
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
ISO	International Standards Organization
MS	Ministério da Saúde
NBR	Norma Brasileira
OMS	Organização Mundial da Saúde
PASNI	Programa de Auto-Suficiência em Imunobiológicos
PNI	Programa Nacional de Imunização
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
UFC	Unidades Formadoras de Colônias
m ³	Unidade de medida - metro cúbico
m/s	Unidade de medida - metro por segundo
µm	Unidade de medida - micrometro
mm	Unidade de medida - milímetro

SUMÁRIO

1- INTRODUÇÃO	9
1.1 PROGRAMA NACIONAL DE IMUNIZAÇÃO.....	9
1.2 CONTROLE DA QUALIDADE DOS IMUNOBIOLOGICOS.....	12
1.2.1 O Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - INCQS.....	12
1.2.2 Teste de Esterilidade.....	13
1.3 CABINES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA	15
1.3.1 Histórico da cabine de segurança biológica	15
1.3.2 Tipos de CSB	16
1.4 ISOLADOR.....	19
1.5 ÁREA LIMPA.....	22
1.5.1 Roupas utilizadas em Áreas Limpas	25
1.6 PROGRAMA DE MONITORAMENTO AMBIENTAL PARA SALAS LIMPAS E AMBIENTES CONTROLADOS	26
1.6.1 Tipos de Monitoramento.....	27
1.6.2 Limites Microbiológicos de Alerta e Ação em Salas e Zonas Limpas.....	30
1.6.3 Treinamento de funcionários	31
1.7 JUSTIFICATIVA	32
2. OBJETIVOS	33
2.1 OBJETIVOGERAL	33
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
3. MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1 PRECAUÇÕES NAS REALIZAÇÕES DOS TESTES	34
3.2 MEIOS UTILIZADOS NO MONITORAMENTO AMBIENTAL	34
3.3 UTILIZAÇÃO DAS PLACAS.....	35
3.3.1 Amostragem ativa do ar	35
3.3.2 Amostragem passiva do ar.....	37
3.3.3 Amostragem por contato	37
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	38
5. CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS.....	44

1- INTRODUÇÃO

1.1 PROGRAMA NACIONAL DE IMUNIZAÇÃO.

Surgido no final de 1973 na esteira do êxito da Campanha de Erradicação da Varíola (CEV) e sob o estímulo internacional à utilização crescente de imunizantes, o programa não contava com instrumentos apropriados para assegurar o cumprimento dos principais objetivos para os quais fora criado: manter a erradicação da varíola; estender as vacinações às áreas rurais; ampliar e aperfeiçoar o sistema de vigilância epidemiológica das doenças alvo (sarampo, tuberculose, difteria, tétano, coqueluche e poliomielite); capacitar os laboratórios oficiais para produzir diagnósticos confiáveis sobre as doenças transmissíveis; instituir pelo menos um laboratório de referência para o controle da qualidade de vacinas; racionalizar a aquisição de vacinas e sua distribuição; uniformizar as técnicas de imunização e promover a educação em saúde com vistas a aumentar a receptividade da população aos programas de vacinação (AZEVEDO, 2007).

No tocante aos imunobiológicos, estas iniciativas estavam tradicionalmente com o Ministério da Saúde (MS), por intermédio dos programas nacionais de controle de doenças específicas. As vacinas que não faziam parte destes programas ficavam a cargo das secretarias estaduais de Saúde, intervindo o Ministério da Saúde apenas ocasionalmente, sobretudo quando ocorriam epidemias de doenças. A Central de Medicamentos incorporou ao seu orçamento o suprimento de imunobiológicos, mas se deparou com a dificuldade de programar as necessidades, devido à fragmentação de comando e à dispersão de iniciativas existente no setor de saúde. Dois outros aspectos devem ser considerados: o fato de o país dispor de poucos especialistas em imunobiológicos, o que dificultava o desenvolvimento dos aspectos mais técnicos da programação; além da baixa expressão econômica apresentada pelos imunobiológicos diante do volume de recursos mobilizados na aquisição de medicamentos (HOMMA, 2003).

As autoridades sanitárias nacionais têm a obrigação de assegurar que os imunobiológicos disponíveis no Brasil, importados ou de produção nacional, sejam

seguros, de qualidade e eficácia comprovadas. Essas características são particularmente difíceis de comprovar, já que a segurança, a qualidade e a eficácia não podem ser determinadas exclusivamente por testes laboratoriais. Assim, é preciso que as autoridades sanitárias adotem uma série de medidas técnico-administrativas e laboratoriais que garantam que o fabricante de imunobiológicos cumpra com as normas nacionais ou internacionais para esses produtos, e que cada lote produzido esteja de acordo com os requerimentos estabelecidos no processo de registro aprovado (BUSS et al, 2005).

A institucionalização do Programa Nacional de Imunizações (PNI), a progressiva implementação e dinamização de suas atividades e o sucesso alcançado pela adoção de estratégias de imunização em massa proporcionada pelas campanhas, aumentaram em muito a utilização de imunobiológicos e trouxeram consigo a necessidade de garantir a qualidade dos produtos empregados, tanto pelo programa como pelas demais atividades de vacinação colocadas fora de sua esfera de atenção (PONTES, 2003).

Problemas com a qualidade das vacinas utilizadas pelo PNI vinham ocorrendo desde o final dos anos 70. A ocorrência de alguns episódios de reação vacinal introduz a questão do controle de qualidade, que até ali se limitava ao controle interno dos próprios produtores. Em 1981, constatou-se que frascos da vacina contra a poliomielite importada do laboratório Torlak estavam contaminados com fungos, o que levou ao adiamento do dia nacional de vacinação daquele ano. O MS buscou apoio externo, e uma auditoria realizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) detectou várias irregularidades. O envio de amostras de vacinas para os Estados Unidos da América (EUA) levou à reprovação de várias delas. Os problemas atingiam todos os laboratórios produtores nacionais, públicos e privados. A partir de então, foi estruturado em 1981, na Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) cuja atividade, naquele momento, centrou-se no controle da qualidade dos imunobiológicos. A partir dos problemas enfrentados surge uma tendência que predominará a partir de então: a produção de vacinas no País como atividade exclusivamente estatal. A criação do Programa de Auto - Suficiência em Imunobiológicos (PASNI) foi criado para fazer frente a uma séria crise de oferta, viabilizando o fortalecimento dos produtores estatais (TEMPORÃO, 2002).

A carência de recursos, a falta de planejamento, a ausência de dados epidemiológicos e de instrumentos para aferir a qualidade das vacinas representaram apenas parte das dificuldades enfrentadas pelo PNI durante os primeiros anos de funcionamento para assegurar as ações de saúde, preventivas e coletivas, em âmbito nacional (AZEVEDO et al, 2007).

Os eventos que cercaram a concepção e desenvolvimento do PNI (que passou a articular sob um único comando o conjunto de práticas anteriormente dispersas em vários órgãos e instâncias de governo) e os desdobramentos que levaram à época à hegemonia de uma vertente mais tradicional, traduziram conflitos que persistem até hoje no sistema de saúde brasileiro. Mas o sucesso do PNI e, naquele momento, da hegemonia da abordagem campanhista, ao criar um mercado importante para o consumo de vacinas, criou uma nova demanda: a da garantia da oferta em quantidade e qualidade, das vacinas necessárias à sua consolidação e expansão em meados da década de 80 (TEMPORÃO 2002).

O PNI comemora 40 anos no dia 18 de setembro de 2013. Ao longo de quatro décadas, o PNI consolidou-se como o coordenador de uma relevante intervenção de Saúde Pública de caráter universal, a vacinação, contribuindo sobremaneira para a redução da morbidade e mortalidade por doenças transmissíveis no Brasil (SILVA JUNIOR, 2013).

Os êxitos alcançados pelo PNI renderam reconhecimento e respeitabilidade por parte da sociedade brasileira e fizeram dele um programa de Saúde Pública de referência para vários países. O apoio da população às ações de vacinação foi indispensável para o sucesso das ações do programa, sendo diretamente responsável pelo alcance de coberturas vacinais adequadas, tanto nas ações de rotina quanto nas campanhas de vacinação. Em 2012, a campanha de vacinação contra a poliomielite para menores de cinco anos de idade alcançou uma cobertura de 98,9% da população-alvo, apesar de a doença já haver sido eliminada no país. Outras campanhas exitosas, em anos recentes, foram a da rubéola, em 2008, quando foram vacinados 67 milhões de pessoas, e a da influenza pandêmica, no ano de 2010, responsável pela vacinação de 97 milhões de brasileiros. A última campanha de seguimento para manter o sarampo eliminado, realizada em 2011, alcançou uma cobertura de 98,5% com a vacinação de 16,7 milhões de crianças de um a sete anos de idade. Nas campanhas contra a influenza sazonal, as coberturas

alcançadas pelo Brasil são bastante elevadas, comparativamente às de outros países. Em 2011, a cobertura dessa vacina atingiu 86% da população-alvo (SILVA JUNIOR, 2013).

1.2 CONTROLE DA QUALIDADE DOS IMUNOBIOLOGICOS

A evolução tecnológica no desenvolvimento e produção de medicamentos, cosméticos e fitoterápicos exige o cumprimento de diretrizes regulamentadas para evitar e prevenir os riscos na qualidade e segurança dos produtos. A garantia da qualidade é um importante aspecto a ser considerado desde o projeto até a liberação do produto ao consumidor. A qualidade microbiológica de produtos constitui um dos atributos essenciais para o seu desempenho adequado, principalmente em relação à segurança, eficácia e aceitabilidade destes produtos. A falha nas medidas preventivas e de controle do processo de fabricação pode resultar em produtos inadequados ao consumo. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) exige que as empresas produtoras tenham implantado as normas de boas práticas de fabricação, conforme as normas técnicas oficialmente estabelecidas (YAMAMOTO et al, 2004).

1.2.1 O Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - INCQS

Em 1954 foi criado o Laboratório Central de Controle de Drogas e Medicamentos (LCCDM), que logo foi transformado em LCCDMA (por se tornar responsável também pelo controle de alimentos); deveria funcionar como vigilância sanitária (como hoje é compreendido). Em 1979 foi criada uma comissão interministerial para analisar os problemas enfrentados pelo PNI. O resultado foi uma forte crítica pela condução do programa e à precariedade dos sistema nacional de saúde (que deveria dar suporte ao programa), demonstrou-se ser imprescindível que o país contasse com uma estrutura laboratorial capaz de avaliar a qualidade dos produtos adquiridos - de forma independente dos produtores - e mantivesse um

trabalho contínuo e integrado ao PNI, garantindo autonomia, conforme os preceitos da OMS. Com o decreto 82.201, de 30/08/1978 ocorre a transferência do LCCDMA para a Fiocruz e em 1981 altera o nome para INCQS que assume a responsabilidade pelo controle de qualidade dos imunobiológicos com a implementação dos ensaios biológicos, microbiológicos, químicos e físico-químicos nos soros e vacinas. Desde o final de 1985 já eram realizadas análises laboratoriais de todas as vacinas virais e dos soros hiperimunes adquiridos pelos programas oficiais de imunização. Essas avaliações vêm sendo fundamentais a fim de garantir que somente produtos que demonstrem requisitos de qualidade e conformidade sejam aplicados na população (BUSS, 2005).

1.2.2 Teste de Esterilidade

Os micro-organismos encontram-se em vários ambientes do nosso planeta (no ar, na água e no solo). As matérias-primas que servem para a produção de medicamentos não estão isentas deste fato. Assim, o controle microbiológico torna-se muito importante para a qualidade final dos produtos farmacêuticos. A total ausência de formas viáveis dos micro-organismos capazes de se reproduzir refere-se ao conceito de esterilidade. Segundo as farmacopeias, a condição de esterilidade de um produto deve ser considerada com base no fato que o mesmo tenha sido processado em condições ótimas e que o resultado de uma amostra representativa, submetida ao teste, indique a ausência de micro-organismos viáveis. Os produtos que devem passar por testes de esterilidade são insumos farmacêuticos, medicamentos e correlatos descritos nas farmacopeias (SOUZA et al, 2007).

As amostras coletadas para o ensaio de esterilidade devem ser representativas da totalidade do lote, devendo ser dada atenção especial às partes do lote que representem maior risco de contaminação, como por exemplo:

I - produtos que tenham passado por processo de envase asséptico - as amostras devem incluir os recipientes do início e do fim do lote, e ainda após qualquer interrupção significativa do trabalho; e

II - produtos que tenham sido esterilizados por calor em sua embalagem final - as amostras devem incluir recipientes das zonas potencialmente mais frias de cada carga.

O teste de esterilidade realizado no produto final deve ser considerado apenas como uma das últimas medidas de controle utilizadas para assegurar a esterilidade do produto (BRASIL, 2010).

O teste de esterilidade pode ser realizado utilizando os métodos de filtração em membrana ou de inoculação direta conforme a natureza do produto, exceto quando um dos métodos for especificado na monografia individual. Os controles negativos apropriados sempre devem ser incluídos. Se, ao final do teste não for constatado crescimento microbiano, a amostra cumpre com os requisitos e é aprovada (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

1.2.2.1 Método de Filtração em Membrana

São utilizadas membranas filtrantes com porosidade nominal não superior a 0,45 µm cuja eficiência em reter micro-organismos tenha sido estabelecida. Filtros de nitrato de celulose, por exemplo, são utilizados para soluções aquosas, oleosas e fracamente alcoólicas e filtros de acetato de celulose para soluções fortemente alcoólicas. Filtros especialmente adaptados podem ser requeridos para determinados produtos, como antibióticos (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

1.2.2.2 Inoculação Direta

As amostras são transferidas direta e assepticamente para os meios de cultura. O volume do produto não deve ser maior que 10% do volume do meio de cultura, a menos que especificado de maneira diferente na monografia individual (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Os meios de cultura utilizados no teste de esterilidade são: meio fluido de tioglicolato e caldo de caseína-soja. O primeiro é utilizado primariamente para cultura de bactérias anaeróbias, embora, também, possa detectar o crescimento de bactérias aeróbias. O segundo é adequado para a cultura de leveduras, fungos e bactérias aeróbias (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

1.3 CABINES DE SEGURANÇA BIOLÓGICA

As cabines de segurança biológica (CSB) comumente conhecidas como cabine de biossegurança, constituem um grupo de equipamentos destinados a remover ou minimizar exposições aos materiais biológicos perigosos. A CSB é o dispositivo principal utilizado para proporcionar a contenção de borrifos ou aerossóis infecciosos provocados por inúmeros procedimentos microbiológicos (MARTINS et al, 2006).

1.3.1 Histórico da cabine de segurança biológica

Fabricadas em 1909, as primeiras cabines de segurança biológica caracterizavam-se como caixas de isolamento microbiológico. O ar pré-filtrado era arrastado através da cabine que era mantida sob pressão negativa. O ar era então exaurido através de um frasco contendo desinfetante. A primeira cabine de segurança biológica "moderna" foi desenvolvida por Van den Ende em 1943. Um bico de gás no duto de exaustão criava um movimento circular do ar no interior da cabine e incinerava a exaustão. O projeto foi aperfeiçoado, e por volta de 1953 a predecessora da atual cabine Classe I estava em uso, embora com filtros de exaustão de baixa eficiência. O ar de exaustão tinha que ser incinerado e a recirculação do ar era inconcebível (FERREIRÓS, 2001).

Em 1962 filtros de ar de alta eficiência de partículas (HEPA) foram aplicados. Isto permitiu que o ar filtrado pudesse ser exaurido diretamente para fora do

laboratório ou recirculado, conduzindo ao estabelecimento de três classes de cabines existentes atualmente (FERREIRÓS, 2001).

1.3.2 Tipos de CSB

As cabines de segurança biológica classe I e II, possuem a frente aberta, são barreiras primárias que oferecem níveis significativos de proteção para a equipe do laboratório e para o meio ambiente quando utilizado com boas técnicas microbiológicas. A cabine de segurança biológica classe II também oferece uma proteção contra a contaminação externa de materiais (por exemplo, cultura de células, estoque microbiológico) que são manipulados dentro das cabines (MARTINS et al, 2006).

A CSB classe II permite proteger o operador, o produto e o meio ambiente. Para a proteção do operador a cabine trabalha com uma taxa de fluxo de ar que vem do laboratório, passa através da abertura frontal de acesso para a área de trabalho e previne que contaminantes que estejam sendo gerados no interior da cabine escapem para o laboratório através da abertura. Para a proteção do produto o ar de insuflação passa por filtros HEPA e a zona de trabalho possui fluxo unidirecional. Para a proteção do meio ambiente o ar exaurido passa previamente por filtro HEPA antes de deixar a cabine (Quadro 1). São adequadas para utilização com agentes que requerem Biossegurança Nível 1, 2 ou 3 (FERREIRÓS, 2001).

Os testes de esterilidade devem ser realizados sob condições assépticas, utilizando cabine de segurança biológica classe II tipo A (Figuras 1 e 2). Para testes de esterilidade de fármacos oncogênicos, mutagênicos, antibióticos, hormônios, esteroides e outros, os testes devem ser realizados em cabine classe II tipo B2, que possui sistema de exaustão externo ao ambiente do laboratório (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Quadro: 1 Classificação de cabines de segurança biológica

Classe I	Similar às Capelas de Laboratório, não requer proteção ao produto, 100% de exaustão através de filtro HEPA
Classe II	Tipo A: 70% de recirculação no interior da cabine; 30% de exaustão através de filtro HEPA; plenum de configuração comum; ar que sai do filtro HEPA de exaustão pode retornar para o laboratório;
	Tipo B ₁ : 30% de recirculação no interior da cabine; 70% de exaustão através do filtro HEPA, plenum de configuração separada, deve ter exaustão externa;
	Tipo B ₂ : 100% de exaustão através de filtro HEPA para o exterior;
	Tipo B ₃ : 70% de recirculação no interior da cabine; 30% de exaustão através do filtro HEPA; plenum de configuração comum; deve ter exaustão externa;
Classe III	Aplicações especiais; 100% de exaustão através de filtro HEPA; para o exterior; manipulação reservada de materiais através de barreiras físicas (luvas)

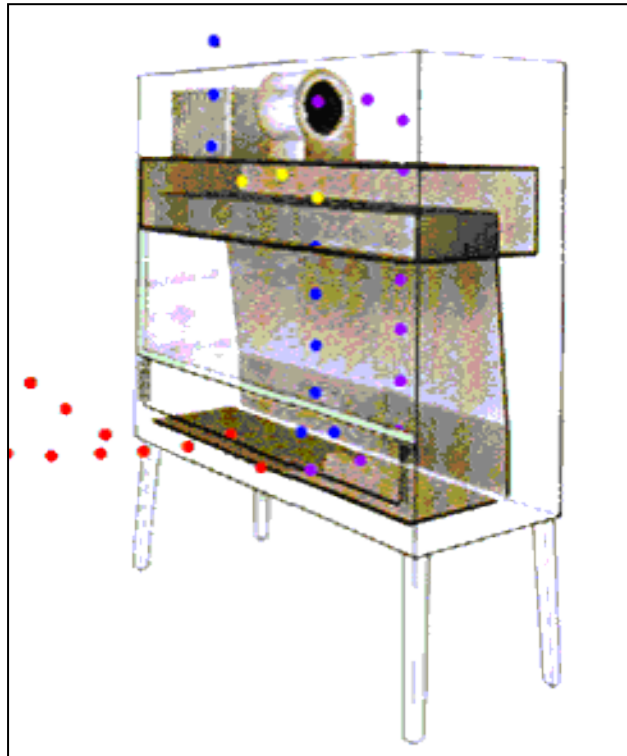
Fonte: Ferreirós, 2001

Figura 1 – Cabine de Segurança Biológica Classe II A



Fonte: Heal Force Laboratory Equipment

Figura 2 – Esquema do funcionamento da CSB classe II tipo A



Fonte: Fiocruz

1.4 ISOLADOR

O sistema isolador (Figura 3) é definido como ambiente controlado por possuir parâmetros de temperatura, umidade, pressão e barreira física eficiente contra a penetração de micro-organismos na área de trabalho. O equipamento é classificado segundo suas características ambientais como classe A, ou seja, a zona para operações de elevado risco possui fluxo laminar que proporciona um débito homogêneo de ar entre 0,36 a 0,54 m/s (metro por segundo) na área de trabalho. Cada operação executada no isolador requer uma limpeza adequada em seu interior de modo a minimizar os riscos de contaminação por partículas ou por células microbianas, do produto ou dos materiais manuseados (CYRANKA, 2011).

Na área dos testes de esterilidade, isoladores estão suplantando cada vez mais as CSB tradicionalmente utilizadas para tal. A vantagem óbvia, mais uma vez,

é a segurança microbiológica, com todas as manipulações efetuadas mediante luvas (Figura 4) ou sistemas manga/ luva integrados nas paredes do isolador (Figura 5), torna-se quase impossível a contaminação microbiológica durante a execução do teste (PAZ, 2012).

Em isoladores, o ar entra através dos filtros integrais de qualidade HEPA, ou melhor, e seu interior é, tipicamente, esterilizado com um nível de garantia de 10^{-6} . Portanto, isoladores que contêm ar estéril não trocam ar com o ambiente ao redor e são livres de operadores humanos. Entretanto, quando o isolador está em um ambiente controlado, o potencial de produto contaminado é reduzido na eventualidade de um vazamento nas luvas ou vestimentas (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Somente após a qualificação e validação do isolador, com carga máxima de amostras e material para a realização dos testes de esterilidade, é que se pode ter noção da quantidade de amostras que poderão ser processadas a cada descontaminação por peróxido de hidrogênio (Figura 5). Na validação deve-se considerar todos os fatores críticos da tecnologia de isoladores como, por exemplo, a qualidade interna e externa do isolador, sanitização, processo de transferência de materiais e integridade do isolador. O monitoramento deve ser realizado rotineiramente e deve incluir testes de vazamento do isolador e das luvas/mangas. Todos os processos devem ser claramente definidos e sistematicamente revisados em função da experiência adquirida (BRASIL, 2010).

Figura 3 – Operadores realizando teste de esterilidade no isolador



Fonte: Bio-Manguinhos

Figura 4: Isolador rígido



Fonte: Portal Boas Práticas

Figura 5 – Operadores introduzindo material a ser sanitizado



Fonte: Portal Boas Práticas

1.5 ÁREA LIMPA

Área com controle ambiental (Figura 6) definido em termos de contaminação por partículas viáveis e não viáveis, projetada, construída e utilizada de forma a reduzir a introdução, geração e retenção de contaminantes em seu interior (BRASIL, 2010).

Figura 6: área limpa



Fonte: Divisórias sala limpa

As áreas limpas utilizadas na fabricação de produtos estéreis são classificadas em quatro diferentes graus (quadro 2), sendo eles:

I - grau A: zona de alto risco operacional, por exemplo, envase e conexões assépticas. Normalmente estas operações devem ser realizadas sob fluxo unidirecional. Os sistemas de fluxo unidirecional devem fornecer uma velocidade de ar homogênea de aproximadamente $0.45\text{m/s} \pm 20\%$ na posição de trabalho;

II - grau B: áreas circundantes às de grau A para preparações e envase assépticos; e

III - graus C e D: áreas limpas onde são realizadas etapas menos críticas na fabricação de produtos estéreis (BRASIL, 2010).

Quadro 2 – Comparação entre os diferentes sistemas de classificação para áreas limpas, em repouso

OMS - GMP	Estados Unidos (habitual)	ABNT NBR ISO 14644-1	EC-GMP
Grau A	Classe 100	ISO 4,8 [*]	Grau A
Grau B	Classe 100	ISO 5	Grau B
Grau C	Classe 10.000	ISO 7	Grau C
Grau D	Classe 100.000	ISO 8	Grau D

Fonte: EU Guidelines to Good Manufacturing Products for Human and Veterinary Use.

O teste de esterilidade deve ser efetuado dentro de uma zona de fluxo de ar unidirecional protegido, de grau A ou CSB (certificada), que deve estar localizada dentro de sala limpa circundada com grau B. Como alternativa, os testes podem ser efetuados dentro de um isolador de barreira (Figura 7). Deve-se tomar cuidado com o projeto do layout de instalações e padrões do fluxo de ar ambiente, para garantir que os padrões de fluxo de ar unidirecional não sejam interrompidos (OMS, 2012).

Figura 7: Sala do isolador em ambiente classe D



Fonte: Portal Boas Práticas

1.5.1 Roupas utilizadas em Áreas Limpas

A entrada para sala limpa deve ser através de sistema de antecâmaras e oferecer disponibilidade de ambiente para a troca, onde os operadores vistam roupas adequadas para a área limpa. A última antecâmara para troca da vestimenta deve ter quando em repouso, a mesma classe da sala de análise. O ambiente para troca da vestimenta deve ser de tamanho adequado para facilitar a troca. Deve existir demarcação clara das diferentes áreas (OMS, 2012).

As roupas utilizadas devem ser apropriadas ao processo e à classificação da área limpa onde o pessoal estiver trabalhando, devendo ser observado:

Graus A/B: é utilizado capuz que cubra totalmente o cabelo, a barba e o bigode; sua borda inferior deve ser colocada para dentro da vestimenta. Deve ser utilizada máscara de rosto, a fim de evitar que sejam espalhadas gotas de suor. Devem ser usadas luvas esterilizadas de borracha, sem pó, além de botas desinfetadas ou esterilizadas. As barras da calça devem ser colocadas para dentro das botas, assim como as mangas colocadas para dentro das luvas. A roupa protetora não deve soltar nenhuma fibra ou partícula e deve reter as partículas liberadas pelo corpo de quem a esteja utilizando (Figura 8).

Figura 8 – Operador com vestimenta apropriada para área limpa



Fonte: SBCC

1.6 PROGRAMA DE MONITORAMENTO AMBIENTAL PARA SALAS LIMPAS E AMBIENTES CONTROLADOS

O monitoramento de partículas totais em suspensão no ar em salas e zonas limpas (quadro 3) não fornece informação sobre o conteúdo microbiológico do ambiente. A limitação básica dos contadores de partículas é que normalmente medem partículas de 0,5 μm ou maiores e os micro-organismos carregados pelo ar não são células que flutuam livremente, não estão sozinhas e frequentemente se associam com partículas de 10 a 20 μm . Contagens de partículas, bem como, contagens microbianas dentro de salas e zonas limpas, variam com as atividades conduzidas durante a amostragem e a sua localização. O monitoramento do

ambiente para partículas não viáveis e micro-organismos é importante porque ambos são necessários para alcançar as exigências relativas ao material particulado e esterilidade estabelecida para os produtos (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Quadro 3 - Classes de limpeza do ar para partículas em suspensão, selecionadas para salas e zonas limpas.

Classificação ISO	Limites máximos de concentração (partículas/m ³ de ar) para partículas iguais ou maiores que os tamanhos considerados						
	(N)	0,1 µm	0,2 µm	0,3 µm	0,5 µm	1 µm	5 µm
ISO Classe 1		10	2				
ISO Classe 2		100	24	10	4		
ISO Classe 3		1.000	237	102	35	8	
ISO Classe 4		10.000	2.370	1.020	352	83	
ISO Classe 5		100.000	23.700	10.200	3.520	832	29
ISO Classe 6		1.000.000	237.000	102.000	35.200	8.320	293
ISO Classe 7					352.000	83.200	2.930
ISO Classe 8					3.520.000	832.000	29.300
ISO Classe 9					35.200.000	8.320.000	293.000

Fonte: Farmacopéia Brasileira, 2010

O monitoramento ambiental microbiológico deve refletir a instalação utilizada (sala ou isolador) e incluir a combinação dos métodos de amostragem do ar e superfície. Devendo ser realizado durante cada sessão de trabalho nas condições de funcionamento (OMS, 2012).

1.6.1 Tipos de Monitoramento

O ambiente deve ser amostrado durante operações normais para possibilitar a coleta de dados significativos e a amostragem microbiana deve ocorrer quando os materiais estiverem na área, as atividades de processamento estiverem ocorrendo e

todos os funcionários estiverem em operação no local. O monitoramento microbiológico de salas e zonas limpas deve incluir a quantificação do conteúdo microbiano do ar ambiental; do ar comprimido que entra na área crítica; das superfícies; dos equipamentos; dos recipientes; dos pisos; das paredes e das vestimentas das pessoas. O objetivo pretendido com o programa é obter estimativas representativas da carga microbiana do ambiente e, uma vez compilados e analisados, quaisquer tendências devem ser avaliadas por pessoas treinadas. O controle microbiológico de ambientes controlados, também, pode ser avaliado com base nos dados de tendência. Relatórios ou resumos periódicos devem ser emitidos para alertar o responsável pela área (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Micro-organismos viáveis do ar podem influenciar a qualidade microbiológica dos produtos fabricados em salas e zonas limpas. A quantificação destes micro-organismos pode ser influenciada por instrumentos e procedimentos utilizados nos ensaios. O emprego dos métodos, ou equipamentos alternativos deve ser precedido da verificação quanto à equivalência dos resultados. Há diferentes formas de monitoramento e tipos de equipamentos disponíveis para quantificar micro-organismos viáveis, incluindo amostradores de sedimentação, de impacto e centrífugos. A seleção e adequação do método a ser utilizado é responsabilidade do usuário (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

1.6.1.1 Quantificação da Amostragem Ativa do Ar

Uma das principais limitações dos amostradores de ar mecânicos é o tamanho da amostra de ar que está sendo testada, pois o nível de micro-organismos no ar de um ambiente controlado é normalmente reduzido e um grande volume de ar deve ser testado para que o resultado seja preciso e exato, o que, muitas vezes, não é prático. Para demonstrar que as contagens microbianas no ambiente não estão aumentando, depois da amostragem, ela pode ser estendida para determinar se o tempo de amostragem é um fator limitante para obter uma amostra representativa. Há equipamentos capazes de amostrar altas taxas de volume de ar, mas deve

considerar-se a ruptura do fluxo de ar em áreas críticas ou a criação de turbulência que possa aumentar a probabilidade de contaminação (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

1.6.1.2 Quantificação da Amostragem Passiva do Ar (Sedimentação em Placas de Petri)

O método utilizando placas de sedimentação é ainda o mais amplamente disseminado devido a sua simplicidade, baixo custo e fornece informações qualitativas sobre o ambiente de exposição por tempo prolongado, porém, a exposição de placas de Petri abertas e contendo meio de ágar não é para avaliação quantitativa dos níveis de contaminação microbiana de ambientes críticos (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

1.6.1.3 Quantificação da Amostragem de Contato em Superfícies Limpas e Operadores

A amostragem de superfícies de equipamentos, de áreas e de funcionários é um componente do programa de controle microbiológico de ambientes controlados. Para minimizar a ruptura de operações críticas, normalmente a amostragem é realizada no final das operações. A amostragem pode ser feita usando placas de contato ou swab (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

1.6.2 Limites Microbiológicos de Alerta e Ação em Salas e Zonas Limpas

As especificações frente a contaminação microbiana devem estar descritas, incluindo os limites apropriados de alerta e ação (OMS, 2012).

O nível de alerta no monitoramento microbiológico ambiental evidencia nível de contaminação significativamente superior às condições de operação normais. Exceder o nível de alerta não necessariamente deve exigir ação corretiva, porém, ao menos levar a uma investigação de acompanhamento documentada, que pode incluir modificações no plano de amostragem (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

O indicativo de ação (Quadro 4) em monitoramento microbiológico ambiental, quando excedido, requer acompanhamento imediato e, se necessário, ação corretiva.

Quadro 4 – Limites para contaminação microbiológica

Graus	Amostra de ar (UFC/m³)	Placas de Sedimentação (90mm) (UFC/4 horas)¹	Placas de Contato (55mm) (UFC/placa)	Teste de Contato das luvas (5 dedos) (UFC/luva)
A	< 1	< 1	< 1	< 1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

¹As placas individuais de sedimentação podem ser expostas por menos de 4 horas

Fonte: ANVISA – RDC 17 de 16/04/2010

Níveis de alerta se baseiam normalmente em informações históricas obtidas de operações de rotina do processo em um ambiente controlado específico (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

As áreas são desenhadas para atingir certos níveis especificados de pureza do ar na condição "em repouso". A condição "em repouso" é definida como aquela onde a instalação está finalizada, os equipamentos e produção instalados e em

funcionamento, mas não existem pessoas presentes; também deve ser alcançada após a conclusão das operações de trabalho, seguida de breve recuperação (Quadro 5). A condição "em operação" é definida como aquela em que a área está em funcionamento para uma operação definida e com um número especificado de pessoas presentes (BRASIL, 2010).

Quadro 5 – Sistema de classificação do ar para a produção de produtos estéreis

Grau	Em repouso		Em operação	
	Nº máximo de partículas/m ³		Nº máximo de partículas/m ³	
	0,5 µm	5,0 µm	0,5 µm	5,0 µm
A	3.520	20	3.520	20
B	3.520	29	352.000	2.900
C	352.000	2.900	3.520.000	29.000
D	3.520.000	29.000	Não definido	Não definido

Fonte: ANVISA – RDC 17 de 16/04/2010

1.6.3 Treinamento de funcionários

O gerenciamento da instalação deve garantir que todas as pessoas envolvidas em operações nas salas e zonas limpas conheçam princípios microbiológicos relevantes, incluindo princípios básicos do processamento asséptico e a relação dos procedimentos de fabricação e manipulação com fontes potenciais de contaminação do produto. Também, devem ter conhecimento sobre princípios básicos de microbiologia; fisiologia microbiana; limpeza, desinfecção e esterilização; seleção e preparação de meios de cultura; de acordo com o envolvimento dos funcionários no processo. As pessoas envolvidas na identificação microbiana requerem treinamento especializado nos métodos laboratoriais aplicáveis. Conhecimento e compreensão dos procedimentos operacionais padrão aplicáveis são críticos, especialmente aqueles relacionados com as medidas corretivas que

são tomadas quando as condições ambientais exigirem. A compreensão das políticas de adesão às exigências regulatórias e a responsabilidade de cada indivíduo, relativas às Boas Práticas de Fabricação devem ser parte integrante do programa de treinamento (FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

1.7 JUSTIFICATIVA

Levando em consideração que a contaminação por micro-organismos pode acarretar graves problemas de saúde pública, se faz necessário o contínuo aprimoramento dos testes de esterilidade, neste contexto o uso do isolador surge como uma ferramenta de grande flexibilidade, rapidez e de alta qualidade nos testes empregados. Garantindo um controle mais efetivo dos processos de fabricação dos imunobiológicos fornecidos à população.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOGERAL

Avaliar o monitoramento ambiental referente aos testes de esterilidade, no período de 2010 a 2012 no Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos – Bio-Manguinhos/Fiocruz, para comparar o desempenho da Cabine de Segurança Biológica e do Isolador.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar os resultados do monitoramento ambiental realizado no isolador e na cabine de segurança biológica no período de 2010 a 2012 para avaliar o perfil microbiológico dessas áreas;
- Verificar qual o melhor equipamento para a realização dos testes de esterilidade.

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram consultados os resultados do monitoramento ambiental (em operação e repouso), contidos na base de dados do Departamento de Controle da Qualidade de Bio-Manguinhos, realizados durante cada sessão de trabalho dos testes de esterilidade em imunobiológicos, no isolador e na CSB, no período de 2010 a 2012. Foram considerados os monitoramentos ativo, passivo e de contato (no isolador e na CSB).

3.1 PRECAUÇÕES NAS REALIZAÇÕES DOS TESTES

As atividades realizadas na CSB foram testes de esterilidade por inoculação direta. Antes de proceder ao teste, foi realizada assepsia das superfícies externas dos frascos e ampolas, mergulhando-os em solução álcool 70%. No caso de artigos cujas embalagens não permitissem esse tratamento, foi realizada a assepsia das amostras por meio de tecido não liberador de partículas embebido em solução de álcool 70%.

No isolador foram realizados os testes de filtração em membrana. Antes dos testes todos os materiais e amostras foram esterilizados por vapores de peróxido de hidrogênio com posterior aeração, para retirar resíduos do gás, evitando assim um resultado falso negativo nas análises dos produtos como no monitoramento ambiental. Durante o monitoramento microbiológico do ar, foram usados volumes de 1.000 litros na amostragem ativa.

3.2 MEIOS UTILIZADOS NO MONITORAMENTO AMBIENTAL

Todas as placas de meios de cultura utilizados no monitoramento ambiental foram adquiridas prontas para uso. Para o monitoramento ativo e passivo foi utilizado o ágar Triptona de Soja - TSA (BioCen) que é um meio de cultivo de uso

geral para contagem de uma ampla variedade de micro-organismos. Para o monitoramento ativo em isoladores foi utilizado o meio Tryp Soy ágar (anti-H₂O₂ Merck Millipore), este tipo de placa recebe um tratamento com agentes neutralizantes evitando concentração de H₂O₂ no ágar (pode detectar até mais de 100 ppm de H₂O₂) após amostragem de ar. Essa condição pode inibir o crescimento dos micro-organismos, incluindo os esporos. Contudo, os meios de cultura embalados podem suportar o processo de esterilização sem perder a fertilidade do ágar, porém devem ser examinados durante as operações de amostragem propriamente ditas (HORN, 2002).

Para o monitoramento de contato (luvas e superfície) foi utilizado o ágar Triptona de Soja Modificado - TSARM (BioCen).

3.3 UTILIZAÇÃO DAS PLACAS

Em área de grau A, a amostragem volumétrica, a exposição de placas de sedimentação (realizadas durante os testes de esterilidade e em condição de repouso) e a coleta de impressões digitais de luvas de operadores e da superfície limpa foram realizadas após o término dos testes de esterilidade, sendo que na condição em repouso somente a coleta da superfície foi realizada. Os monitoramento foram realizados no isolador e na CSB.

3.3.1 Amostragem ativa do ar

Para monitorar as bactérias e fungos em suspensão no ar que circula no ambiente de trabalho, foram coletadas durante os testes de esterilidade, amostras no início, meio e fim do processo por dez minutos em cada amostragem. Foram utilizados os equipamentos: MAS 100 (MERCK) (Figura 9) e M AirT™ Pump (Millipore) (Figura 10), para o isolador. Os pontos para a realização dos testes foram o mais próximo possível dos testes de esterilidade.

Figura 9: amostrador MAS 100 (Merck)



Fonte: Merck Millipore

Figura 10: amostrador M AirT (Millipore)



Fonte: INTERFACE - Equipamento e Técnica, Lda.

3.3.2 Amostragem passiva do ar

Para monitorar bactérias e fungos que sedimentam na coluna de ar acima da placa. As placas ficaram expostas, em áreas próximas do produto analisado durante todo o período de operação. A placa foi substituída a cada 2 horas, para evitar o ressecamento do ágar. Os pontos para a realização dos testes foram o mais próximo possível dos testes de esterilidade.

3.3.3 Amostragem por contato

Foram utilizadas para detectar micro-organismos em superfícies e luvas do operador, que podem levar à contaminação do produto. Foram coletadas após a finalização dos testes de esterilidade e antes da higienização da área para aumentar a possibilidade de detecção de micro-organismos. Foram dois operadores tanto no isolador quanto na CSB, portanto foram pelo menos dois pontos de amostragem na superfície.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para avaliar o desempenho da Cabine de Segurança Biológica e do Isolador, foram utilizados os resultados do Monitoramento Ambiental Referente à Quantificação da Amostragem Ativa do Ar, Amostragem Passiva do Ar e da Amostragem de Contato no período de 2010 até 2012 (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1 – Resultado do monitoramento ambiental ativo, passivo e de contato da cabine de segurança biológica no período de 2010 a 2012.

Monitoramento	ano	Nível de Alerta (%)	Nível de Ação (%)	Insatisfatório (%)	Satisfatório (%)
Ativo	2010	-	-	-	102 (100%)
	2011	-	-	5 (6,17%)	76 (93,83%)
	2012	-	-	1 (2%)	49 (98%)
Passivo	2010	-	-	2 (1,6%)	123 (98,4%)
	2011	-	-	6 (4,88%)	117 (95,12%)
	2012	-	-	2 (2,90%)	67 (97,10%)
Contato	2010	1 (0,46%)	-	48 (22,12%)	168 (77,42%)
	2011	1 (0,48%)	-	32 (15,24%)	177 (84,28%)
	2012	-	-	4 (3,36%)	119 (96,64%)

Fonte: Bio-Manguinhos

Para utilizar a CSB em sala limpa classe B, em testes de esterilidade, são consideradas algumas variáveis como o sistema de tratamento de ar (principal ferramenta, mas não a única para proteção de produtos e operadores, devido ao diferencial de pressão entre a sala de troca de vestimenta - antecâmara - para a sala classe B); treinamento de pessoal e paramentação adequada; validação de procedimentos de limpeza e sanitização. A concentração de partículas no ar é controlada pela diluição ou pela substituição do ar através do insulflamento unidirecional de ar tratado na sala limpa. Devem ser monitoradas a temperatura e a umidade relativa que visam o fornecimento das condições necessárias à qualidade

dos materiais e produtos ao correto funcionamento de equipamentos e ao conforto dos operadores (ANVISA, 2013). Ao verificar os monitoramentos insatisfatórios percebeu-se uma redução nos testes de esterilidade realizados no decorrer dos anos com baixa na taxa de monitoramento tido como insatisfatório, porém no monitoramento de contato ocorreu uma alta variação na taxa observada como monitoramento insatisfatório e o surgimento do nível de alerta nos anos de 2010 e 2011, este monitoramento levou em consideração as luvas e superfície da CSB.

Tabela 2 - Resultado do monitoramento ambiental ativo, passivo e de contato do isolador no período de 2010 a 2012.

Monitoramento	ano	Nível de Alerta (%)	Nível de Ação (%)	Insatisfatório (%)	Satisfatório (%)
Ativo	2010	-	-	-	101 (100%)
	2011	-	-	2 (1,06%)	187 (98,94%)
	2012	-	-	-	202 (100%)
Passivo	2010	-	-	1 (1,06%)	122 (99,19%)
	2011	-	-	2 (0,97%)	205 (99,03%)
	2012	-	-	1 (0,49%)	204 (99,51%)
Contato	2010	1 (0,46%)	-	-	145 (100%)
	2011	1 (0,48%)	-	2 (0,98%)	203 (99,02%)
	2012	-	-	2 (0,99%)	201 (99,01%)

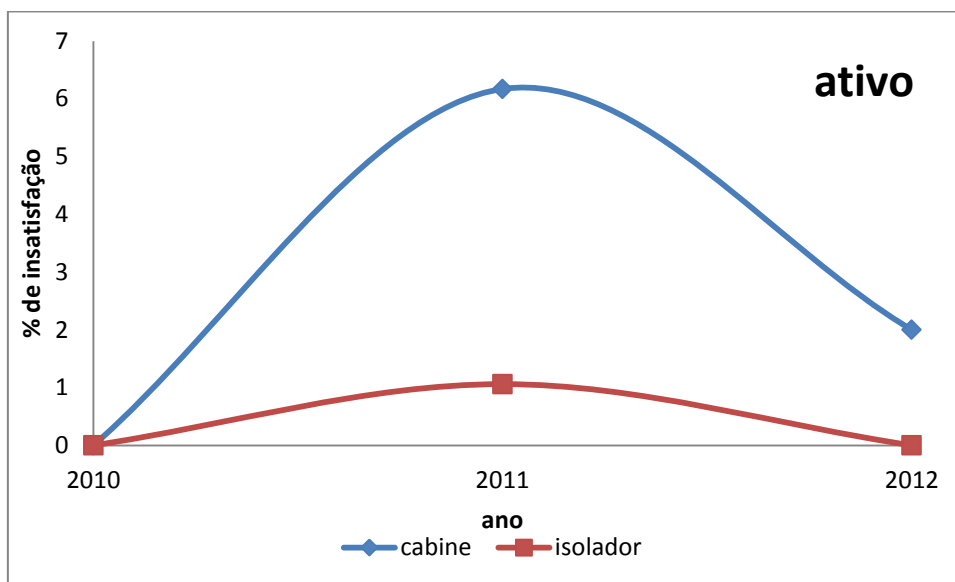
Fonte: Bio-Manguinhos

O isolador é uma barreira física entre o operador e o ambiente de trabalho, nota-se que ocorreu um aumento, nos testes realizados no isolador no decorrer dos anos, porém não houve significativa variação na taxa de resultados insatisfatórios dos monitoramentos, mesmo quando ocorreu nível de alerta nos anos de 2010 e 2011 no monitoramento por contato ao término da operação. Deve-se considerar que são realizados vários testes de esterilidade, onde as amostras podem estar contaminadas.

Ao ser avaliada a representação gráfica dos resultados obtidos nos diferentes tipos de monitoramento ambiental pode-se observar que no monitoramento ativo em

2010 não houve taxa de insatisfação nas áreas de monitoramento, porém em 2011 houve valor insatisfatório no monitoramento em maior grau no ambiente da CSB em relação ao isolador e em 2012 ocorreu redução na taxa de monitoramento tida como insatisfatória, porém ainda assim a taxa do monitoramento com resultado insatisfatório no ambiente da CSB ainda foi maior quando comparado ao isolador (Figura 11).

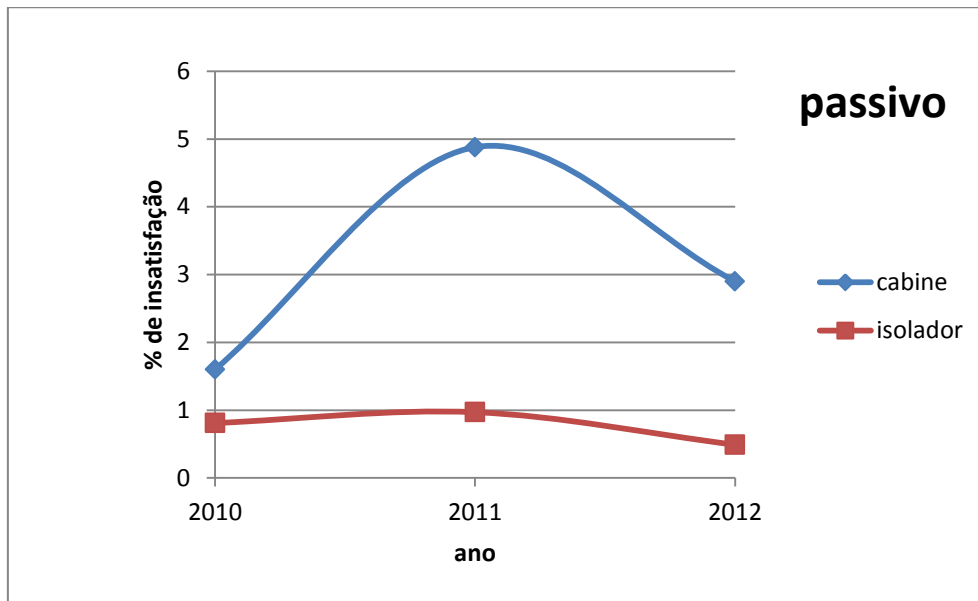
Figura 11 - Comparação do monitoramento ativo na CSB e no Isolador no período de 2010 a 2012



Fonte: Bio-Manguinhos

No monitoramento passivo ano de 2010 o resultado insatisfatório percebido no monitoramento do ambiente CSB foi alto se comparado com o ambiente isolador; no ano de 2011 ocorreu um aumento drástico nos resultados do monitoramento tido como insatisfatórios na CSB e apesar do isolador ter aumentado, este aumento foi sensível; em 2012 os resultados insatisfatórios resultante do monitoramento no ambiente da CSB foram reduzidos juntamente com o ambiente do isolador, mas a diferença no resultado insatisfatório do monitoramento ainda foi alto quando comparado o ambiente CSB x isolador (Figura 12).

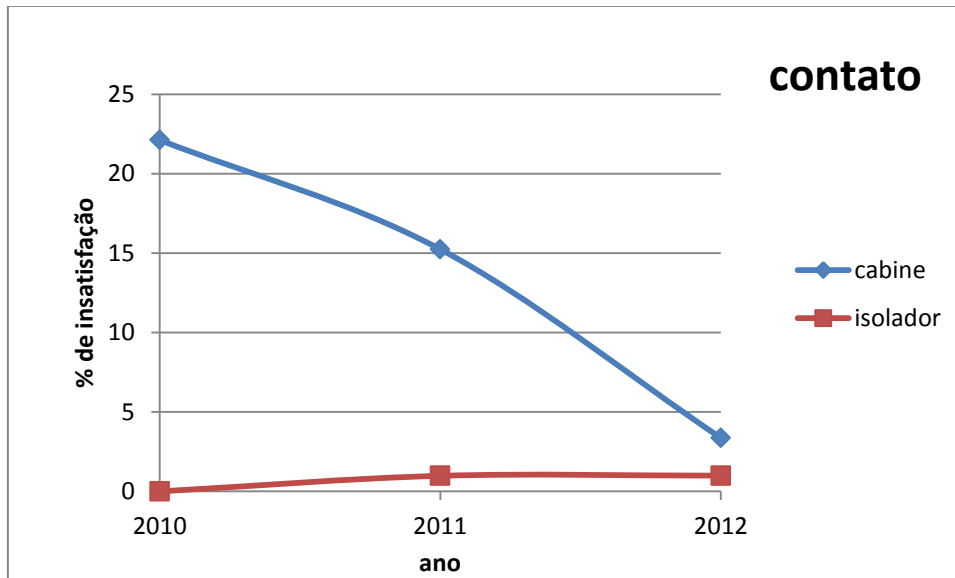
Figura 12 - Comparação do monitoramento passivo na CSB e no Isolador no período de 2010 a 2012



Fonte: Bio-Manguinhos

No monitoramento de contato, o resultado insatisfatório do monitoramento em 2010 no ambiente CSB começou alto e foi reduzindo drasticamente no decorrer do período em comparação com o ambiente isolador, que apresentou resultado insatisfatório no monitoramento a partir de 2011 tendo um aumento pequeno em 2012 e mesmo assim, o resultado insatisfatório do monitoramento ficou abaixo do ambiente da CSB (Figura 13).

Figura 13 - Comparação do monitoramento por contato na CSB e no Isolador no período de 2010 a 2012.



Fonte: Bio-Manguinhos

A quantidade de testes realizados no isolador foi superior, em número, aos testes realizados em CSB, esta afirmação foi verificada nos dados apresentados. No isolador foi possível processar várias amostras em um único ciclo, pois todo o material sofreu ação de gás esterilizante de forma contínua e uniforme.

A redução da atividade de monitoramento ambiental em CSB foi percebida, durante o período de análise, em contraste com o aumento no isolador, isto é, os testes de esterilidade por filtração tiveram um aumento (ampliação na produção e a criação e desenvolvimento de novos produtos que são filtráveis) em contraste a redução da produção de produtos com inoculação direta realizados na CSB.

Observa-se que não houve variação nos monitoramentos realizados no isolador em comparação à variação nos monitoramentos com resultados insatisfatórios realizados na CSB, conforme tabela e gráficos acima.

Com o advento da tecnologia de isoladores a tendência é a substituição das CSB para os testes de esterilidade minimizando a possibilidade de ocorrência de falsos positivos dos produtos em análise devido à existência de muitas variáveis que influenciam os testes em CSB sem contar a atuação diretamente do operador com o produto.

5. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos do monitoramento ambiental durante os testes de esterilidade, foi verificado que o isolador demonstrou em seu desempenho segurança, eficiência e flexibilidade ao reduzir possível contaminação do ambiente em consequência do grande número de amostras analisadas garantindo alta qualidade em seu processo.

REFERÊNCIAS

ANVISA. **Guia da qualidade para sistemas de tratamento de ar e monitoramento ambiental na indústria farmacêutica**. Brasília 2013. 55p.

AZEVEDO, N. et al (Orgs.). **INOVAÇÃO EM SAÚDE DILEMAS E DESAFIOS DE UMA INSTITUIÇÃO PÚBLICA**. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz,2007.

BRASIL. **Resolução RDC 17**: Boas práticas de fabricação de medicamentos. Brasília, 2010.

BUSS, P.M.; TEMPORÃO, J.G.; CARVALHEIRO, J.R.(Orgs.). **VACINAS, SOROS & IMUNIZAÇÕES NO BRASIL**. Rio de Janeiro: Ed.Fiocruz, 2005.

CYRANKA, B. **Otimização do processo de descontaminação no sistema isolador de Bio-Manguinhos**. 2011. 82f. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos) – Instituto de Tecnologia de Imunobiológicos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2011.

FARMACOPÉIA Brasileira. 5. ed. Brasília: ANVISA, 2010.v1.

FERREIRÓS, M. Cabines de Segurança Biológica. **Sociedade Brasileira de Controle de Contaminação**. São José dos Campos, S.P. v. 03, p. 16-23, ago. 2001.

HOMMA, A. et al. Desenvolvimento tecnológico: elo deficiente na inovação tecnológica de vacinas no Brasil. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos**, Rio de Janeiro,v.10,suppl.2,p.116,2003.Disponível:<http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S010459702003000500011&script=sci_arttext>. Acesso em: 10 jan. 2013.

HORN, J. et al . Meio de Cultura para Monitoramento Ambiental em Isoladores com Resíduo de Peróxido de Hidrogênio nas Superfícies e no Ar. **Sociedade Brasileira de Controle de Contaminação**. São José dos Campos, SP. V 09, p. 8-12, 2002.

SILVA JUNIOR, J.B. 40 Anos do Programa Nacional de Imunizações: Uma Conquista da Saúde Pública Brasileira. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília v. 22, n. 1, p.1-3, mar. 2013. Disponível em: <http://scielo.iec.pa.gov.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S16794974201300010001&lng=pt>. Acesso em:07 maio, 2013.

MARTINS, E.V.; SILVA, F.A.L.; LOPES, M.C.M.(Orgs.). **Biossegurança, Informação e Conceitos, Textos básicos**. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz, 2006.

OMS. Rede PARF Documento Técnico nº11. Boas práticas da OMS para laboratórios de microbiologia farmacêutica. Washington, DC. Janeiro, 2012.

PAZ, A.S. Isoladores Tecnologia em Evolução. **Sociedade Brasileira de Controle de Contaminação**. São José dos Campos, S.P. v. 61, p. 10-15, nov/dez. 2012.

PONTES, C.F. Vacinação, Controle de Qualidade e Produção de Vacinas no Brasil a Partir de 1960. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos**, Rio de Janeiro v. 10, suppl.2,2003.Disponível:<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S010459702003000500009>. Acesso em: 15 set. 2012.

SOUZA, M.J. et al. Teste de esterilidade em produtos farmacêuticos. Arq Mudi, Paraná, 11, (suplemento 1):37, 2007.

TEMPORÃO, J.G. **O Complexo Industrial da Saúde: Público e Privado na Produção e Consumo de Vacinas no Brasil. 2002**. 242f. Tese (Doutorado Saúde Coletiva) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2002.

YAMAMOTO, C. et al. Controle de qualidade microbiológico de produtos farmacêuticos, cosméticos e fitoterápicos produzidos na zona da mata, MG. In: ANAIS DO 2º CONGRESSO BRASILEIRO DE EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA BELO HORIZONTE – 12 a 15 de setembro de 2004.