

CLAUDIA RIBEIRO SOUTO

**MEDICAMENTOS INJETÁVEIS: O Ensaio de Esterilidade na sua
avaliação e outros aspectos considerados como medida de
controle e respostas à VISA**

**CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM CONTROLE DA QUALIDADE DE
PRODUTOS, AMBIENTES E SERVIÇOS VINCULADOS À
VIGILÂNCIA SANITÁRIA**

**PPGVS/INCQS
FIOCRUZ / INCQS
2006**

**MEDICAMENTOS INJETÁVEIS: O Ensaio de Esterilidade na sua
avaliação e outros aspectos considerados como medida de
controle e respostas à VISA**

CLAUDIA RIBEIRO SOUTO

Curso de 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

Orientadoras: Me. Marise Sacramento de Magalhães

Me. Kátia Miriam Peixoto Menezes

Rio de Janeiro

2006

FOLHA DE APROVAÇÃO

MEDICAMENTOS INJETÁVEIS: O Ensaio de Esterilidade na sua avaliação e outros aspectos considerados como medida de controle e respostas à VISA

Autora: Claudia Ribeiro Souto

Monografia submetida à Comissão Examinadora composta pelos professores e tecnologistas do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz e por professores convidados de outras instituições, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Especialista em Controle da Qualidade em Produtos, Ambientes e Serviços Vinculados à Vigilância Sanitária.

Aprovado:

Prof. _____(INCQS/FIOCRUZ)

Marise Sacramento. de Magalhães

Prof. _____(INCQS/FIOCRUZ)

Maria do Carmo Miranda

Prof. _____(INCQS/FIOCRUZ)

Gisele Huf

Orientadoras:

Marise S. de Magalhães
INCQS/FIOCRUZ

Kátia Miriam P. Menezes
INCQS/FIOCRUZ

Rio de Janeiro
2006

FICHA CATALOGRÁFICA

Souto, Claudia Ribeiro

MEDICAMENTOS INJETÁVEIS: O Ensaio de Esterilidade na sua avaliação e outros aspectos considerados como medida de controle e respostas à VISA / Claudia Ribeiro Souto. Rio de Janeiro: INCQS/ FIOCRUZ,2006.

xiv, 80 p., il., tab.

Trabalho de conclusão de Curso (Especialização em Vigilância Sanitária) – Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Rio de Janeiro, 2006.

Orientadoras: Marise Sacramento de Magalhães e Kátia Miriam Peixoto Menezes.

1. Ensaio de Esterilidade 2. Medicamentos Injetáveis I. Título

Para que de fato a Vigilância Sanitária tenha uma atuação efetiva e ética, voltada para a concretização dos direitos de cidadania, não basta normatizar, **vigiar** e **punir**; além disso, é preciso **planejar, acompanhar, avaliar, informar e OUVIR.**

Ediná Alves Costa

AGRADECIMENTOS

A Deus, por mais esta oportunidade e por me conduzir em cada momento da minha vida;

Ao meu marido e ao meu filho, pela compreensão e paciência;

Aos meus colegas de trabalho, pelo apoio e colaboração para a conclusão deste trabalho;

Aos meus pais, por terem cuidado do meu filho em todos os momentos que precisei;

Ao Diego Panno, pela boa vontade;

Às minhas orientadoras, pela paciência, incentivo e por todos os conhecimentos transmitidos;

À minha irmã, em especial, pela sua ajuda e compreensão.

RESUMO

Introdução. A oferta de medicamentos injetáveis seguros tem exigido por parte dos órgãos reguladores a adequação das indústrias quanto às Boas Práticas de Fabricação, pois a presença de qualquer microrganismo vivo em um medicamento injetável pode causar, em alguns casos, a morte do paciente. No Brasil, do ponto de vista legal, o ensaio de esterilidade é o único meio analítico para avaliar a esterilidade de um produto e deve ser executado em uma amostra representativa do produto acabado. O objetivo deste trabalho é avaliar os processos dos medicamentos injetáveis encaminhados ao INCQS no período de janeiro de 1999 a dezembro de 2002, considerando sua representatividade em relação ao total geral de medicamentos, o percentual de amostras submetidas ao ensaio de esterilidade; verificar a predominância da modalidade de análise e identificar e discutir os principais fatores que reduzem a eficácia da análise laboratorial.

Métodos. O levantamento de todos os medicamentos encaminhados ao INCQS no período proposto foi realizado a partir de uma pesquisa no Sistema de Gerenciamento de Amostra (SGA) e os dados foram coletados a partir da análise dos processos analíticos.

Resultados. Os 466 medicamentos injetáveis identificados representaram 34,2% do total de medicamentos encaminhados ao INCQS. Destes, 417 (89,5%) foram coletados devido à denúncia de agravo à saúde e 412 (88,5%) na modalidade fiscal. Das 246 amostras submetidas ao ensaio de esterilidade, 242 (98,4%) apresentaram-se satisfatórias. Dentre os motivos de apreensão pode-se destacar que 67 (27,2%) correspondiam a suspeitas de choque pirogênico; 20 (8,1%) suspeitas de contaminação microbiana; 19 (7,7%) eram suspeitas de causarem reações adversas e 52 (21,5%) não apresentavam o motivo de apreensão. Foi observado que o quantitativo insuficiente de unidades coletadas foi o principal motivo que impossibilitou as análises laboratoriais ou tornou-a inconclusiva.

Discussão. O baixo percentual de amostras oriundas de programas revela que a atuação da VISA tem-se concentrado na prestação de serviço à demanda espontânea e o alto percentual de medicamentos injetáveis aprovados no ensaio de esterilidade pode indicar a eficiência do processo de esterilização que foram submetidos ou a incapacidade do ensaio em detectar contaminantes devido as suas limitações. Desta forma, dá-se importância ao cumprimento das BPF na produção de produtos estéreis.

ABSTRAT

Background: The provision of safe injectable drugs is required by the regulatory agencies on Good Manufacturing Practices by the manufacturers. The presence of any living organism in an injectable drugs may cause in some cases the death of the patient. In Brazil, the sterility test is the only means to assess the sterility of a product and must be performed on a representative sample of the finished product. The purpose of this study is to evaluate the injectable drugs process sent to INCQS from January 1999 to December 2002, considering their representation in the total of drugs referred to INCQS, the percentage of samples to test for sterility, check the predominance of the type of analysis and indentify and discuss the main factors that reduce the effectiveness of laboratory analysis.

Methods: A survey was conducted using the Sample Management System (SGA) and the data were collected from the analysis of the analytical processes.

Results: Four hundred and sixty-six injectable drugs represented 34.2% of total drugs sent to INCQS. Of these, 417 (89.5%) were collected due to population denounce and 412 (88.5%) were referred to fiscal form. Of the 246 samples to test for sterility, 242 (98.4%) were satisfactory and 52 (21.5%) were the reason for concern. Among the grounds for seizing it is worth noting that 67 (27.2%) corresponded to a suspected shock pyrogen; 20 (8.1%) suspected of microbial contamination and 19 (7.7%) were suspected to cause adverse reactions. It was observed that the number of units collected was the main reason that inconclusive laboratory testing or not executed tests.

Discussion: The low percentage of samples from programs shows that the performance of VISA has concentrated on providing service to the spontaneous demand and the high percentage of injectable drugs approved in the sterility test can indicate the efficiency of the process of sterilization that have been submitted or the inability the test to detect contaminants due to its limitations. Thus, it is important to compliance with the GMP in the production of sterile products.

LISTA DE SIGLAS

Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BPF	Boas Práticas de Fabricação
DFT	Departamento de Farmacologia e Toxicologia
DM	Departamento de Microbiologia
DQ	Departamento de Química
FUNASA	Fundação Nacional de Saúde
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
L.A.L	<i>Limulus Amebocyte Lysate</i>
MS	Ministério da Saúde
OMS	Organização Mundial de Saúde
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SGA	Sistema de Gerenciamento de Amostra
SNVS	Sistema Nacional de Vigilância Sanitária
SPGV	Solução Parenteral de Grande Volume
SQR	Substância Química de Referência
SUS	Sistema Único de Saúde
T.A.A.	Termo de Apreensão de Amostra
VISA	Vigilância Sanitária

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** - Resumo das mudanças e melhorias dos requisitos USP para o ensaio de esterilidade..... 4
- Quadro 2** - Quantidade de amostra a serem testadas de acordo com o volume do frasco e a alíquota a ser transferida de acordo com o método empregado.....12
- Quadro 3** - Número mínimo de unidades a serem testados em relação ao tamanho do lote.....12
- Quadro 4** - Quantidade de unidades para produtos sólidos.....13
- Quadro 5** - Microrganismos indicados para o ensaio de promoção de crescimento e para a validação do ensaio de esterilidade.....14

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Probabilidade de aceitação de um lote, de acordo com o nível de contaminação e o número de unidades submetidas ao ensaio de esterilidade.....11
- Figura 2** – Distribuição do percentual de amostras de medicamentos injetáveis em relação ao total de medicamentos cadastrados.....28
- Figura 3** - Distribuição do percentual de amostras advindas da demanda espontânea e programas específicos por ano.....29
- Figura 4** - Distribuição do percentual total de amostras advindas da demanda espontânea e programas específicos no período de 1999 a 2002.....29
- Figura 5** - Distribuição das modalidades de análise por ano.....30
- Figura 6** - Distribuição do percentual das modalidades de análise no período de 1999 a 2002.....31
- Figura 7** - Distribuição do percentual de amostras de medicamentos injetáveis submetidas e não submetidas ao ensaio de esterilidade.....32
- Figura 8** - Distribuição do total de amostras submetidas ao ensaio de esterilidade em relação ao total de amostras cadastradas no período de 1999 a 2002.....32
- Figura 9** - Distribuição dos resultados do ensaio de esterilidade realizados nos medicamentos injetáveis no período de 1999 a 2002.....33

Figura 10 - Distribuição dos motivos de apreensão das amostras submetidas e não submetidas ao ensaio de esterilidade no período de 1999 a 2002.....	34
Figura 11 - Distribuição dos motivos que levaram a não realização do ensaio de esterilidade.....	35
Figura 12 - Distribuição dos principais motivos de cancelamento das amostras de medicamentos injetáveis no período de 1999 a 2002.....	36
Figura 13 - Distribuição da avaliação final do laudo analítico das amostras de medicamentos injetáveis submetidos ao ensaio de esterilidade.....	37
Figura 14 - Distribuição da avaliação final do Laudo Analítico das amostras de medicamentos injetáveis por ano.....	38
Figura 15 - Distribuição da avaliação final do laudo analítico das amostras de medicamentos injetáveis no período entre 1999 a 2002.....	39
Figura 16 - Distribuição dos principais requerentes no período de 1999 a 2002.....	39
Figura 17 - Distribuição do percentual dos principais medicamentos injetáveis advindos da demanda espontânea.....	40
Figura 18 - Tempo para a emissão do laudo analítico das amostras aprovadas, reprovadas e canceladas.....	41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Total de amostras de medicamentos injetáveis recebidos anualmente em relação ao total de medicamentos cadastrados.....	28
Tabela 2: Quantitativo de amostras advindas de demanda espontânea e de programas específicos.....	29
Tabela 3 - Diferença na predominância das modalidades de análises nas amostras de medicamentos injetáveis por ano.....	30
Tabela 4 - Quantitativo de amostras de medicamentos injetáveis submetidos ao ensaio de esterilidade.....	32
Tabela 5 - Resultado analítico das amostras submetidas ao ensaio de esterilidade no período de 1999 a 2002.....	33
Tabela 6 - Motivos pelos quais as amostras de medicamentos injetáveis não foram submetidas ao ensaio de esterilidade.....	35
Tabela 7 - Avaliação final do laudo analítico das amostras submetidas ao ensaio de esterilidade.....	37
Tabela 8 - Avaliação dos laudos analíticos dos medicamentos injetáveis cadastrados no INCQS por ano.....	38

Sumário

1 - INTRODUÇÃO	1
1.1 - Ensaio de Esterilidade – Metodologias Utilizadas.....	7
1.2 - Amostragem	10
1.3 - Meios de Cultura.....	13
1.4 - Condições de Incubação.....	14
1.5 - Validação do Ensaio de Esterilidade.....	15
1.6 - Condições para a realização do ensaio de esterilidade.....	16
1.7 - Interpretação dos Resultados.....	19
1.8 - Importância da Identificação dos Microrganismos.....	20
2 - RELEVÂNCIA	22
3 - OBJETIVOS	23
4 - MÉTODO	24
5 – RESULTADOS	28
6 – DISCUSSÃO	42
7 – CONCLUSÃO	51
8 – PERSPECTIVAS	54
9 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
10 – ANEXOS	60
ANEXO A – Motivos de apreensão das amostras de medicamentos injetáveis submetidos ao ensaio de esterilidade.....	61
ANEXO B – Motivos de cancelamento das amostras de medicamentos injetáveis no período de 1999 a 2002.....	62
ANEXO C – Requerentes das análises de medicamentos injetáveis.....	63
ANEXO D - Relação dos medicamentos advindos da demanda espontânea....	65

1- INTRODUÇÃO

A busca da saúde acompanha a história das civilizações e conseqüentemente a história da vigilância sanitária. Desde a antigüidade, elaboram-se leis e normas que servem de base para a prática da vigilância sanitária, que vem acompanhando o crescimento da industrialização.

A evolução da escala industrial, em conjunto com os processos de vigilância sanitária, possibilitou verificar a associação de algumas tragédias ao uso de determinados produtos. Isto despertou a necessidade de ampliar o campo da regulamentação e da criação de normas para garantir a segurança dos produtos e respaldar o exercício de diversas práticas da vigilância sanitária (COSTA & ROZENFELD, 2000).

Com a publicação da Lei nº 8080, de 19 de setembro de 1990, chamada Lei Orgânica da Saúde, que regulamentou o Sistema Único de Saúde e definiu a Vigilância Sanitária como “um conjunto de ações capaz de eliminar, diminuir, ou prevenir riscos à saúde e de intervir nos problemas sanitários decorrentes do meio ambiente, da produção e circulação de bens e da prestação de serviços de interesse da saúde”, foi ampliado o conceito de risco e conferiu um caráter mais completo ao conjunto das ações de Vigilância Sanitária, situando-as na esfera da produção, com a revisão de todas as etapas, desde o registro até o consumo, não apenas dos produtos historicamente alvos da Vigilância Sanitária, mas quaisquer bens de consumo, desde que direta ou indiretamente ofereçam risco a saúde individual ou coletiva (SILVA, 2000).

O risco de infecção associado aos produtos farmacêuticos está vinculado a sua forma farmacêutica e a via de administração, de forma a garantir o seu uso seguro e, será considerável em produtos que se destinam a áreas normalmente estéreis do corpo (BUGNO, 2001).

A via parenteral, também chamada de injetável, foi utilizada pela primeira vez, de maneira sistemática, em 1853, na terapêutica humana pelo médico Alexander Wood, quando administrou injeção de morfina em seus pacientes, dando

origem a diversos acidentes infecciosos, já que os medicamentos não eram esterilizados (GUIA, 2005).

Pode-se dizer que a via parenteral começou a desenvolver-se depois dos trabalhos de Pasteur sobre a esterilização em 1870, onde se passou a ter como exigência o uso de produtos estéreis.

O primeiro medicamento injetável a ser oficialmente reconhecido foi a injeção hipodérmica de morfina, que apareceu pela primeira vez no adendo de 1874 da Farmacopéia Britânica de 1867, e em 1888, na primeira edição do Formulário Nacional dos Estados Unidos (ANSEL, 2000).

Os medicamentos injetáveis são preparações estéreis, livres de pirogênio e destinados à administração parenteral e podem ser injetados em quase todos os órgãos ou regiões do corpo, assim, as vias de administração mais utilizadas são veias (intravenosa, IV), músculo (intramuscular, IM), pele (intradérmica, ID, intracutânea), ou debaixo da pele (subcutânea, SC, hipodérmica). Cada via tem a sua particularidade e seu risco associado, devendo ser utilizada de forma segura e por profissional habilitado, para não colocar em risco a vida do paciente (ANSEL, 2000).

De acordo com a USP 28 (2005), os medicamentos injetáveis são classificados em cinco tipos, geralmente definidos como segue:

1 – Preparações Líquidas (soluções ou suspensões) adequadas para injeção, com rótulos do tipo “Injeção_____”. (Ex: Injeção de Insulina);

2 – Sólidos secos ou líquidos concentrados, que não contenham tampões, diluentes ou outras substâncias que, com a adição de solventes, produzam soluções que se adequam em todos os aspectos às exigências para injeções, e que se distinguem por rótulos do tipo “_____Estérel”. (Ex: Ampicilina Sódica Estérel);

3 – Preparações iguais às descritas no item 2, exceto por conterem um ou mais tampões, diluentes ou outros componentes, que se distinguem por rótulos do tipo “_____para Injeção”. (Ex: Metililina Sódica para Injeção);

4 – Sólidos suspensos em meio líquido adequado e que não devem ser injetados por via intravenosa ou no canal vertebral e que se distinguem por rótulos do tipo “Suspensão _____ Estéril”. (Ex: Suspensão de Acetato de Dexametasona Estéril);

5 – Sólidos secos que, com a adição de veículos adequados, geram preparações que conformam sob todos os aspectos às exigências para Suspensões Estéreis, e que se distinguem por rótulos do tipo “_____Estéril para Suspensão”. (Ex: Ampicilina Estéril para Suspensão).

As ocorrências de infecções mais sérias estão associadas ao uso de medicamentos injetáveis contaminados, cujas conseqüências podem envolver, em alguns casos, a morte do paciente (BUGNO, 2001).

Devido ao risco associado, a característica de esterilidade em alguns tipos de produtos como medicamentos de administração parenteral, oftálmicos, equipos, artigos e insumos de saúde, é um indicador crítico de qualidade, uma vez que, a presença de qualquer microrganismo vivo pode causar dano ao paciente (BUGNO, 2001).

O conceito de esterilidade é definido como a ausência de microrganismos viáveis. Segundo as farmacopéias, a esterilidade de um produto depende das condições do processo produtivo e deve ser confirmada pelo ensaio de esterilidade em uma amostra representativa do produto acabado, que indique a ausência de microrganismos viáveis (BOWMAN, 1969; SEYFARTH, 1983; AVALLONE, 1986; AKERS & AGALLOCCO, 1997; BUGNO, 2001; EUROPEAN PHAEMACOPOEIA, 2002)

O primeiro compêndio oficial a preconizar o ensaio de esterilidade de drogas administradas pela via parenteral foi em 1932, na Inglaterra, pela *British Pharmacopoeia* 32 (BOWMAN, 1969; VAN DOORNE et al., 1988; AKERS, 1994). Em 1936, a USP 11 e o National Formulary 6ª ed., adotaram a mesma metodologia, a qual sofreu inovações posteriores (AKERS, 1994), conforme o quadro 1.

QUADRO 1: Resumo das Mudanças e Melhorias dos Requisitos da Farmacopéia Americana para o Ensaio de Esterilidade

ANO EDIÇÃO	MUDANÇAS E MELHORIAS
1936 ¹ USP 11	<ul style="list-style-type: none"> - Oficializa o Ensaio de Esterilidade somente para a pesquisa de bactérias aeróbicas, com a utilização de caldo peptonado, em produtos líquidos. - Preconiza 5 dias de incubação à 37°C.
1942 ¹ USP 12	<ul style="list-style-type: none"> - Ensaio de esterilidade para anaeróbios, adicionando 2% de gelatina, para diminuir a penetração de oxigênio, ao caldo peptonado e a solução de Litmus, como indicador de oxi-redução, em produtos sólidos e líquidos. - Procedimento para a inativação de alguns conservantes.
1945 ¹ USP 13	<ul style="list-style-type: none"> - Introduz o meio Fluido de Tioglicolato para a pesquisa de bactérias aeróbicas e anaeróbicas. - Introduz o meio de cultura à base de mel para a pesquisa de fungos e leveduras. - Apresenta uma breve descrição da área do laboratório, treinamento do pessoal para a execução do ensaio de esterilidade.
1950 ¹ USP 14	<ul style="list-style-type: none"> - Diminui a temperatura de incubação do meio Fluido de Tioglicolato de 37°C para 32-35°C. - Substitui o meio à base de mel pelo meio líquido Sabouraud (modificado).
1955 ¹ USP 15	<ul style="list-style-type: none"> - Substitui o meio de Sabouraud modificado pelo Fluido de Sabouraud USP.
1970 USP 18	<ul style="list-style-type: none"> - Substitui o Fluido de Sabouraud USP pelo Caldo de Caseína-Soja. - Introduz a metodologia baseada na Filtração por Membrana e o período de incubação não menos que 7 dias. - Estabelece que cada lote de meio deve ser testado quanto ao ensaio de promoção de crescimento e esterilidade. - Inclui as diretrizes específicas para o uso de indicadores biológicos - Descreve a área, treinamento pessoal e técnicas para a execução do Ensaio de Esterilidade.
1975 USP 19	<ul style="list-style-type: none"> - Estabelece o uso de técnicas para a detecção de microrganismos no ambiente (invalidação do ensaio). - Não se pode extrapolar o resultado do ensaio as outras unidades não testadas a menos que se proceda a “Validação do Processo de Esterilização”. - Estabelece que o controle dos meios é por lote autoclavado. - Inclui as soluções parenterais de grande volume - SPGV (volume > 100mL por frasco). - Possibilita fazer retestes caso seja demonstrado que o contaminante seja do ambiente.

¹ AKERS, M.J. **Parenteral Quality Control: Sterility, Pyrogen, Particulate, and Package Integrity testing.** 2.ed. ver. aum. New York: Editora DeKker, 1994. p. 1-100.

<p>1980 USP 20</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Inclui o meio alternativo de tioglicolato para a análise de artigos de diâmetro pequeno, com incubação em anaerobiose. - Apresenta uma tabela para líquidos que contempla a amostragem mínima em relação ao conteúdo do frasco e o volume mínimo que deve ser retirado de cada frasco em relação à metodologia empregada. - Introduz os produtos em seringa. - Estabelece que o ensaio de promoção de crescimento deve ser feito com suspensões com contagem inferior a 100 Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de microrganismo. - Mudança na classificação de <i>Sarcina lutea</i> para <i>Micrococcus luteus</i>. - Estabelece procedimento para a análise de artigos de saúde utilizando a metodologia de filtração por membrana. - Fornece requisitos para a execução do 1º e 2º reteste.
<p>1985 USP 21</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Estabelece que quando possível, aplicar o método de filtração por membrana. - Estabelece que o ensaio de promoção de crescimento deve ser feito por carga de autoclavação. - Estabelece o quantitativo entre 10 e 100 UFC de microrganismos viáveis a ser utilizado no ensaio de promoção de crescimento. - Estabelece requisitos para a repetição dos ensaios em apenas duas etapas (segunda etapa com o dobro da amostragem). - Define a quantidade de amostras que deverão ser submetidas ao ensaio de esterilidade.
<p>1990 USP 22</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Expande a avaliação fungistática e bacteriostática no uso da metodologia da filtração por membrana. - Inclui os sólidos filtráveis. - Apresenta um guia adicional para o método de filtração por membrana em produtos contendo propriedades bacteriostáticas inerentes.
<p>1995 USP 23</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Estabelece a análise de antibióticos penicilínicos ou cefalosporínicos com a adição de penicilinase em quantidade suficiente para inativá-los e a utilização da cepa de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29737), para validação do ensaio.
<p>2000 USP 24</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Preconiza o uso da filtração por membrana quando a natureza do produto permitir. - Importância do treinamento e da qualificação do operador. - Estabelece que a esterilidade dos meios de cultura deve ser feita por lote esterilizado e a amostragem incubada na temperatura específica por não menos que 14 dias ou pelo controle negativo a cada ensaio. - Estabelece que o ensaio de promoção de crescimento deve ser feito em área separada, com uma contagem inferior a 100 UFC e tempo de incubação reduzido para 5 dias. - Possibilidade de proceder ao ensaio de promoção de crescimento por lote de meio desidratado fornecido pelo fabricante ou por lote, caso seja formulado, em paralelo ao ensaio de produtos. Sendo desconsiderado, caso o meio seja reprovado no controle de qualidade. - Inclui novas cepas para serem utilizadas no ensaio de promoção de crescimento. - Apresenta uma tabela de amostragem baseada no número mínimo a ser testado em relação à quantidade produzida no lote.

	<ul style="list-style-type: none"> - A amostragem relacionada com a metodologia utilizada. - A incubação dos meios por um período de 14 dias. - Instalações para a realização do ensaio – Área Limpa ou Isoladores. - Utilização de membrana com borda hidrofóbica para produtos com atividade fungistática ou bacteriostática. - Estabelece o procedimento de análise para cada categoria de produtos. - Inclusão de produtos em aerossol. - Estabelece a interpretação dos resultados de acordo com a área utilizada (área limpa ou isolador) e em ambos os casos não estabelece a realização de reteste. Quando é observado crescimento microbiano deve ser feita uma revisão dos procedimentos e das técnicas assépticas no sentido de identificarem falhas. Se estas não ocorrerem o ensaio é considerado insatisfatório para a condição de esterilidade. Caso ocorra, o ensaio é invalidado e nova amostragem é submetida ao ensaio nas mesmas condições do anterior. - Apresenta duas tabelas de amostragem; uma relaciona o número mínimo a ser testado em função do tamanho do lote e a outra estabelece a quantidade mínima a ser utilizada por meio.
2004 USP 27	<ul style="list-style-type: none"> - Harmonização com os textos correspondentes das Farmacopéias Japonesa e Européia. - Não permite que a esterilidade do meio de cultura seja feita em paralelo com o ensaio de esterilidade (controle negativo); - O ensaio de promoção de crescimento deve ser feito a cada partida de lote preparado e a incubação de até 3 dias para bactérias e 5 dias para fungos. - A execução do ensaio de esterilidade com a utilização de, pelo menos, dois meios específicos. - Porosidade nominal da membrana não deve ser superior a 0,45 µm. - Apresenta as condições que podem invalidar o ensaio de esterilidade. - Não estabelece a interpretação do ensaio de acordo com a área utilizada (área limpa ou isolador). - Apresenta a aplicação do ensaio de esterilidade para preparações parenterais, oftálmicas, e outras preparações não parenterais que devem cumprir a condição de esterilidade.

Atualmente, na Europa e nos Estados Unidos verifica-se a possibilidade da Liberação Paramétrica que consiste no procedimento de liberação dos lotes de produtos submetidos a um processo de esterilização terminal baseada na conformidade dos parâmetros críticos, sem a realização do ensaio de esterilidade (AKERS, 1994; PINTO ET AL., 2003), ou seja, baseia-se na informação coletada durante todo o processo de produção e no cumprimento das exigências específicas das Boas Práticas de Fabricação.

No Brasil não existe esta possibilidade, ainda é requisito para a liberação do lote a execução do ensaio de esterilidade, juntamente com o

cumprimento das Boas Práticas de Fabricação por parte das indústrias farmacêuticas.

1.1 – Ensaio de Esterilidade – Metodologias Utilizadas

Há duas possibilidades de inoculação da amostra aos meios de cultura que pode ser adotada; a inoculação direta e a inoculação indireta (BOWMAN, 1969; FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 1988; AKERS, 1994; EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2002; THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2005). Sendo a inoculação indireta também chamada de filtração por membrana e é o método de escolha quando a natureza do produto permitir (THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2005).

O método empregando a Inoculação Direta é utilizado desde a oficialização do ensaio de esterilidade, em 1932 pela *British Pharmacopeia* 32 (HOLDOWSKY, 1957; VAN DOORNE et al., 1988). O procedimento original baseia-se na transferência direta, de quantidade preestabelecida do produto ao meio de cultura estéril e a incubação na temperatura apropriada, por não menos que 7 dias, período que foi elevado para 14 dias na USP 24 (2000).

Como o produto é transferido diretamente aos meios de cultura, deve-se ter cuidado com aqueles que apresentam em sua composição agentes conservantes, pois podem provocar resultados falso-negativos, impedindo o crescimento de microrganismos contaminantes, quando presentes. Assim, conforme a natureza do produto, exige-se a inativação dos agentes conservantes através da diluição prévia do produto ou pela adição de agentes inativadores (BUGNO, 2001).

Este método parece simples na teoria, mas na prática, detém um grau de dificuldade por exigir do técnico, destreza e concentração para manter a assepsia, onde a necessidade de repetições na abertura dos frascos, amostragem, transferência e mistura pode causar fadiga com subsequente deterioração na técnica e na concentração e, com isso aumentar a ocorrência de contaminação acidental do ensaio de esterilidade (AKERS, 1994).

O volume amostrado deve ser o suficiente para representar o volume total e o volume dos meios devem ser suficiente para promover o crescimento do(s) microrganismo(s) e devem ser respeitadas as quantidades estabelecidas no quadro 2.

A mais importante evolução no ensaio de esterilidade foi a introdução do método de Inoculação Indireta também chamado de Filtração por Membrana, por Holdowisky em 1957 (HOLDOWSKY, 1957), na *British pharmacopoeia* em 1963 e oficializado pela *Food and Drugs Administration* (FDA) em 1964 e na USP 18 em 1970 (BOWMAN, 1969; VAN DOORNE et al., 1988), tendo sido aplicado inicialmente para substâncias antibióticas (PICKET & LITSKI, 1981).

Baseia-se na passagem de uma amostra líquida através de um filtro de membrana estéril, que é seccionado e transferido assepticamente para os meios de cultura apropriados. Neste método o produto não entra em contato com o meio de cultura (BUGNO, 2001).

A membrana filtrante de éster de celulose é a mais comumente usada (PICKET & LITSKI, 1981), ou de materiais sintéticos, com borda hidrofóbica, que resista, por exemplo, antineoplásicos extremamente agressivos, com porosidade nominal máxima de $0,45 \pm 0,02 \mu\text{m}$, 47 mm de diâmetro e permitir um fluxo de 55 a 75 mL de água por cm^2 por minuto, à pressão de 70 cmHg. O material da membrana deve ser escolhido com base no produto a ser testado, apresentando baixa afinidade pelos agentes antimicrobianos eventualmente presentes (PINTO et al., 2003).

Os sistemas filtrantes devem permitir a manipulação asséptica da membrana, e são em geral compostos de materiais que permitam a sua esterilização por autoclavagem. O filtro de membrana é colocado sobre um sistema filtrante, sendo montado e acoplado em uma bomba de vácuo. Após a filtração do produto a membrana é lavada, empregando-se para isto a passagem de volumes adequados de solução de lavagem com a finalidade de retirar resíduos do produto que eventualmente permaneçam sobre a membrana. O tipo de solução de lavagem mais utilizado é a água peptonada a 0,1%, podendo ou não conter inativadores

específicos. A membrana então é seccionada e transferida para os meios de cultura apropriados (SEYFARTH, 1983; AKERS, 1994).

A metodologia indireta ou filtração por membrana oferece pelo menos 5 vantagens sobre o uso da metodologia direta (SEYFARTH, 1983; AKERS, 1994):

- 1- Maior sensibilidade;
- 2- Eliminação do agente antimicrobiano pela filtração anterior à transferência da membrana para os meios;
- 3- Todo o conteúdo da amostra pode ser testado, aumentando assim a possibilidade de detecção de microrganismos contaminantes;
- 4- Concentração de um nível baixo de microrganismos contaminantes na membrana, filtrando volumes maiores do produto;
- 5- Microrganismos presentes em produtos oleosos podem ser separados do produto durante a filtração e cultivados em meios aquosos apropriados.

Em contra partida, apresenta 2 desvantagens quando comparado à metodologia direta (AKERS, 1994):

- 1- Maior probabilidade de contaminação acidental durante o procedimento de análise por necessitar de uma maior habilidade do operador, um monitoramento ambiental melhor em virtude da exposição da unidade de filtração, remoção da membrana, para proceder ao corte e em seguida a transferência para os meios de cultura. (Sistemas fechados como Steritest, elimina esta desvantagem).
- 2- Não é possível discriminar a extensão da contaminação entre as unidades, se presente, porque todo o conteúdo dos frascos é concentrado em uma única membrana.

Outra evolução importante no ensaio de esterilidade foi a introdução do Sistema Steritest® que consiste de uma bomba peristáltica e unidades filtrantes pré-esterilizadas e contempla o ensaio de esterilidade completo, incluindo a amostragem, filtração, adição de meios de cultura e incubação (BUGNO, 2001).

Neste sistema, não ocorre a exposição da amostra, da membrana, do líquido de lavagem e dos meios de cultura, no ambiente onde é realizado o ensaio, diminuindo assim o risco de contaminação acidental e conseqüentemente a ocorrência de resultados falso-positivos (PICKET & LITSKI, 1981).

Por ser um ensaio destrutivo, não pode ser aplicado a todo o lote. A falta de certeza absoluta quanto ao estado de esterilidade de todas as unidades pertencentes ao lote é uma limitação estatística do ensaio, razão pela qual o critério de amostragem é extremamente importante (AKERS, 1994), pois apenas uma porção de todo o lote é submetida ao ensaio de esterilidade (Quadros 2, 3 e 4) e, o resultado obtido só deve ser extrapolado para as unidades não testadas a partir do momento que se tenha autoclaves qualificadas e com o processo de esterilização validado.

1.2 – Amostragem

A probabilidade de rejeição de um lote baseada no ensaio de esterilidade depende do nível de contaminação e do número de unidades testadas, quanto maior for o número de unidades testadas e maior o volume de cada unidade, maior será a probabilidade em detectar microrganismos contaminantes, caso presentes (BOWMAN, 1969; BROWN & GILBERT, 1977; BUGNO, 2001).

A relação entre o nível de contaminação e a probabilidade de rejeição do lote é dada pela fórmula (BROWN & GILBERT, 1977; VAN DOORNE et al., 1988):

$$P = [1 - (1 - x)^N]$$

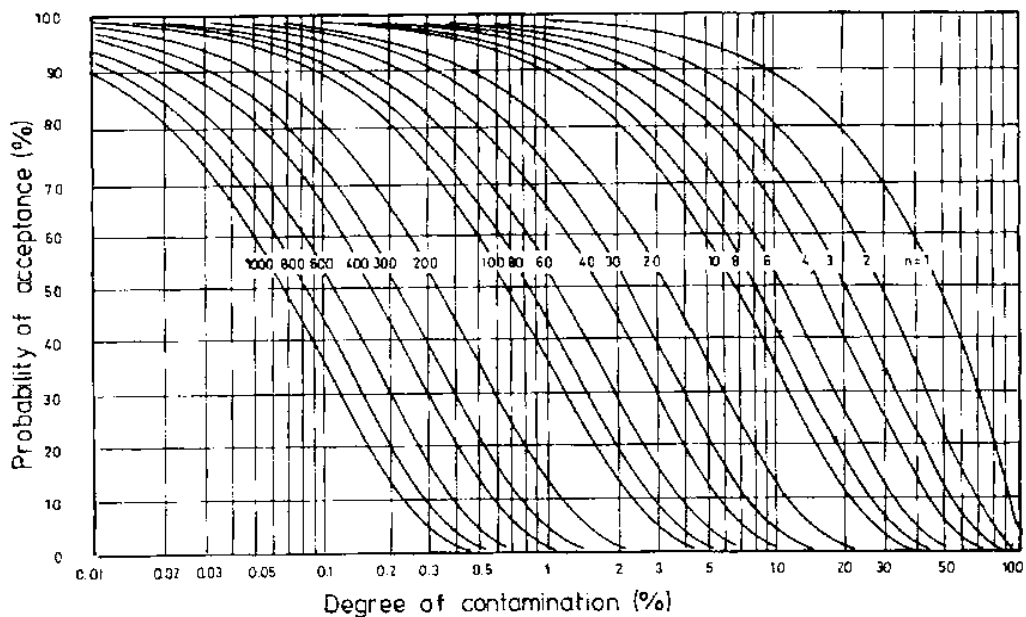
Onde, P = probabilidade de rejeição do lote

x = nível de contaminação do lote

N = número de unidades analisadas

A figura 1, mostra a probabilidade de aceitação de um lote, de acordo com o nível de contaminação e o número de unidades submetidas ao ensaio de esterilidade.

FIGURA 1: PROBABILIDADE DE ACEITAÇÃO DE UM LOTE, DE ACORDO COM O NÍVEL DE CONTAMINAÇÃO E O NÚMERO DE UNIDADES SUBMETIDAS AO ENSAIO DE ESTERILIDADE



A probabilidade de aceitação de um lote contendo 1% de unidades contaminadas no ensaio de esterilidade, executado sobre 20 unidades, é de 82%, ao passo que quando executado sobre 250 unidades, deste mesmo lote, a probabilidade de aceitação passa a ser de 10%. Para não se ter o risco de aceitar este mesmo lote 600 unidades deveriam testadas, tornando o ensaio inviável na prática. Verifica-se assim, que o aumento do número de unidades submetidas ao ensaio de esterilidade diminui a probabilidade de aceitação de lotes contendo baixo nível de contaminação (SEYFARTH, 1983).

Segundo a USP 28 (2005), a amostragem que deve ser submetida ao ensaio de esterilidade, está relacionada com o tamanho do lote (Quadro 3) e a quantidade mínima a ser testada de acordo com a quantidade do produto em cada frasco (Quadros 2 e 4).

QUADRO 2: QUANTIDADE DE AMOSTRA A SEREM TESTADAS DE ACORDO COM O VOLUME DO FRASCO E A ALÍQUOTA A SER TRANSFERIDA DE ACORDO COM O MÉTODO EMPREGADO

Volume de cada frasco (mL)	Alíquota a ser transferida de cada unidade	Volume de Meio de Cultura (mL)	
		Método Direto	Método Indireto
< 10	1mL, ou todo o conteúdo se < 1mL	15	100
10 – 50	5mL	40	100
51 – 100	10mL	80	100
51 – 100, para administração intravenosa	½ do conteúdo	200	100
101 – 500	½ do conteúdo	Não se aplica	100
> 500	500mL	Não se aplica	100
Antibióticos (líquido)	1mL	Não se aplica	100

QUADRO 3: NÚMERO MÍNIMO DE UNIDADES A SEREM TESTADOS EM RELAÇÃO AO TAMANHO DO LOTE

Número de Unidades no Lote	Número de Unidades que Devem Ser Testadas para cada Meio.
Preparações Parenterais Não mais que 100 unidades 101 – 500 unidades > 500 unidades Parenterais de grande volume	10% ou 4 unidades, o quanto for maior. 10 unidades. 2% ou 20 unidades, o que for menor. 2% ou 10 unidades, o que for menor.
Antibióticos sólidos Embalagens < 5g Embalagens > ou = 5g	20 unidades 6 unidades
Preparações oftálmicas e outras preparações não injetáveis Não mais que 200 unidades Maior que 200 unidades Se o produto é apresentado na forma de dose única, aplicar o plano apresentado para preparações parenterais.	5% ou 2 unidades, o que for maior 10 unidades

QUADRO 4: QUANTIDADE DE UNIDADES PARA PRODUTOS SÓLIDOS

Conteúdo do Frasco (g)	Quantidade mínima retirada de cada frasco	Volume de Meio de Cultura (mL)	
		Método Direto	Método Indireto
< 50mg	todo o conteúdo	200	100
51 – 200mg	Metade do conteúdo	200	100
200 – 300mg	100mg	200	100
300 – 600mg	200mg	200	100
> 600mg	200mg	200	100
Antibióticos sólidos			
Para injeção (<5g)	150mg	200	100
Para injeção, pharmacy bulk packages (> 5g)	500mg	200	100

1.3 – Meios de Cultura

Após várias tentativas de obtenção das condições ideais para promover o crescimento dos microrganismos contaminantes desde a oficialização do ensaio, atualmente diversas farmacopéias preconizam a utilização de, pelos menos, dois meios de cultura; o meio fluido de tioglicolato e o caldo de caseína soja^{10,12,25,26,30,31,32}.

O meio fluido de tioglicolato foi introduzido em 1945, na USP XIII¹⁷, recomendado por promover condições de anaerobiose e aerobiose em um mesmo cultivo, apresentando em sua composição uma pequena quantidade de ágar bacteriológico para dificultar a penetração do oxigênio e a rezarzurina como indicador de oxi-redução, que forma um anel de coloração púrpura quando em contato com oxigênio. Além de neutralizar a ação bacteriostática de conservantes à base de mercúrio^{10,31}.

O caldo de caseína-soja foi introduzido em 1970, na USP XVIII^{17,18} em substituição ao caldo Sabouraud por permitir o crescimento de bactérias, fungos e leveduras apesar do valor de pH $7,3 \pm 0,2$.

Os meios de cultura destinados ao ensaio de esterilidade devem passar por um rígido controle de qualidade, com o objetivo de garantir a utilização de meios estéreis e capazes de promover o crescimento de microrganismos contaminantes, quando presentes.

A esterilidade é garantida retirando uma porção do lote dos meios de cultura, submetidos ao mesmo ciclo de esterilização, de forma aleatória, e incubando nas temperaturas específicas do ensaio de esterilidade por um período de 14 dias ²⁶. Nenhum crescimento microbiano deve ser observado, eliminando a ocorrência de resultados falso-positivos.

Para verificar a capacidade de promoção de crescimento microbiano, as farmacopéias recomendam a inoculação, nos meios de cultura, de uma suspensão com contagem inferior a 100 UFC (Quadro 5) sendo que após o período de incubação (por não mais que 3 dias no caso de bactérias e não mais que 5 dias no caso de fungos), devem apresentar crescimento do microrganismo específico ^{12,17,25,32,33}.

QUADRO 5: MICRORGANISMOS INDICADOS PARA O ENSAIO DE PROMOÇÃO DE CRESCIMENTO E PARA A VALIDAÇÃO DO ENSAIO DE ESTERILIDADE.

Meios de cultura	Microrganismos	Temperatura
Fluido de Tioglicolato	<i>Clostridium sporogenes</i> (ATCC 11437;INCQS 0060)	32,5 ± 2,5°C
	<i>Kocuria rhizophila</i> (ATCC 9341;INCQS 0010)	32,5 ± 2,5°C
	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633;INCQS 00001)	32,5 ± 2,5°C
Caldo Caseína - soja	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633;INCQS 00001)	22,5 ± 2,5°C
	<i>Candida albicans</i> (ATCC 10231;INCQS 40006)	22,5 ± 2,5°C
	<i>Aspergillus niger</i> (ATCC 16404;INCQS 40036)	22,5 ± 2,5°C

1.4 – Condições para Incubação

No decorrer da evolução do ensaio de esterilidade, foram adotados vários períodos de tempo de incubação. Considerando que os microrganismos, quando presentes em um produto, encontram-se em um ambiente inóspito e muitas vezes sob a forma esporulada, estes necessitam de um tempo para se adaptarem e se multiplicarem a níveis detectáveis. A maioria das farmacopéias recomendava um período de incubação conforme o método empregado. Entretanto, desde a

publicação da USP XXIV¹⁵, passou a adotar o período de 14 dias independente do método utilizado, permitindo o desenvolvimento de microrganismo de crescimento lento^{17,25,26}.

Durante o período de incubação, é preciso ter condições ótimas em termos de nutrientes, pH, pressão osmótica além do tempo e da temperatura ótima para permitir o crescimento microbiano. Desta forma, adotam-se as seguintes condições de incubação:

- Para a detecção de bactérias, o meio fluido de tioglicolato é incubado a temperatura de $32,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$;
- Para a detecção de fungos, o caldo caseína soja é incubado a temperatura de $22,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$.

1.5– Validação do Ensaio de Esterilidade

Deve ser executada quando o produto for novo, quando houver alguma mudança nas condições do ensaio e na avaliação da eficácia de um agente inativador. Consiste na avaliação da existência de atividade antimicrobiana por parte do produto, eliminando a possibilidade de ter resultado falso-negativo.

Como controle negativo, todos os materiais envolvidos no procedimento do ensaio de esterilidade como: meios de cultura, soluções-diluentes, seringa, agulha e etc, devem ser submetidos ao ensaio de esterilidade para evitar a ocorrência de resultados falso-positivos.

A validação inicia-se com a preparação de suspensões bacterianas e fúngicas dos microrganismos listados no Quadro 5, na concentração de até 100 UFC/mL. Estas serão inoculadas aos meios de cultura, que servirão de controles positivos e também aos meios de cultura com o produto, onde será avaliada a presença de atividade antimicrobiana assim como a eficiência do agente inativador^{12,25,26,32}.

1.6– Condições para a realização do Ensaio de Esterilidade

O ensaio de esterilidade deve ser executado sob condições assépticas, ou seja, em ambiente que não ofereça risco de contaminação acidental, seja por fontes externas ou pelos operadores, por exemplo, em fluxo Grau A em área Grau B¹². Desta forma é sugerida a utilização da tecnologia de sala limpa.

Esta tecnologia tem como definição uma sala na qual o suprimento e a distribuição do ar, filtragem, materiais de construção e procedimentos de operação visam controlar as concentrações de partículas em suspensão, atendendo aos níveis apropriados de limpeza, conforme definidos pelo usuário e de acordo com a ISO Standard 14644-1 – *Classification of Air Cleanlines*³⁴.

O sistema de ar condicionado deve ser exclusivo e projetado de forma que todo o ar insuflado passe por filtros HEPA (Alta Eficiência de Filtração), cuja eficiência varia de 99,97% para partículas de 0,5 µm a 99,9999% para partículas de 0,12 µm, tenha sua integridade testada quanto a vazamento e saturação. Além da concentração de partículas, outros parâmetros são também controlados, como por exemplo, a umidade e a temperatura que são mantidas a $50 \pm 10\%$ e $22 \pm 2^\circ\text{C}$.

Deve passar por um processo de balanceamento para que seja mantido um diferencial positivo de pressão adequado (normalmente em torno de 1,2 milímetros de coluna d'água (mmCa)) entre a sala mais crítica, onde são realizados os ensaios de esterilidade e a sala de apoio, como, por exemplo, a de troca de vestimenta.

A área deve ser projetada para facilitar a limpeza e evitar depósito de partículas contaminantes, como arredondamento dos cantos, tubulações embutidas, visores e luminárias faceando a parede.

O revestimento das paredes, piso e teto devem ser resistentes, não porosos e nem gerador de partículas, impermeáveis, resistentes à corrosão e aos agentes de limpeza e desinfecção. Não devem apresentar reentrâncias nem saliências. Geralmente é utilizada tinta epóxi ou poliuretano, aço inoxidável, alumínio anodizado, além de laminado melanínico.

A principal fonte de contaminação em uma área limpa são as pessoas, pelo processo de escamação da pele, respiração, roupas e pelos movimentos efetuados em seu interior, razão pela qual o treinamento prévio para a qualificação e conscientização do pessoal é de fundamental importância.

Para eliminar o risco de contaminação pessoal é imprescindível o uso de vestimenta esterilizada, composta por macacão, gorro e botas que devem ser confeccionadas em tecido especial que permita a esterilização, não emita partícula, ofereça segurança, conforto e praticidade ao operador, permitindo movimentos livres e luvas estéreis livres de pó.

Deve ser estabelecido um programa de limpeza, com a utilização de desinfetantes eficientes a fim de reduzir a concentração de partículas totais, como também um programa de monitoramento ambiental para verificar o número de partículas viáveis, em toda a área e o tipo de microrganismos presentes.

Este monitoramento ambiental pode ser feito por dois métodos, o passivo (placas de sedimentação), que não deve ser usado como avaliação quantitativa dos níveis de partículas viáveis em ambientes controlados e o método ativo, considerado como método de referência para o monitoramento microbiológico quantitativo do ar através do uso de amostradores de ar ³⁵.

A coleta das partículas viáveis, pelo método ativo, consiste na impactação direta do ar amostrado sobre a superfície do meio de cultura e os resultados são expressos em UFC e podem ser correlacionados com o volume de ar amostrado.

Com o objetivo de eliminar a probabilidade de ocorrer contaminações provenientes de qualquer origem, desde os anos 80, tem sido amplamente usada a tecnologia do Sistema de Isolador pelas indústrias farmacêuticas na área de produção, enchimento asséptico e principalmente para a realização do ensaio de esterilidade ¹⁵.

O Sistema de Isolador pode ser definido como um mini ambiente controlado, hermeticamente fechado, dotado de tecnologias eficientes e seguras que

protegem os componentes dos processos biofarmacêuticos (produto, operador e ambiente)³⁶. Possui fluxo de ar de cima para baixo, com filtros HEPA em posições adequadas proporcionando um ambiente Grau A, estéril, cuja manipulação por luvas e roupas especiais (meio escafandro), substituindo com grandes vantagens a sala limpa.

O processo de esterilização do sistema isolador baseia-se no fechamento de todas as entradas e saídas de ar e a unidade é então operada com a ventilação em circuito fechado. O primeiro passo é a secagem deste ar em circulação, mediante um processo de adsorção, até a umidade relativa chegar abaixo de 30%. Então, vapores do agente químico são misturados ao ar em recirculação, devendo a concentração do agente esterilizante ser sempre mantida abaixo da saturação, para evitar a condensação nas superfícies internas do isolador. São utilizados como agentes químicos esterilizantes o ácido peracético ou peróxido de hidrogênio.

Depois de um período pré-determinado, na validação do processo de esterilização, inicia-se um ciclo de purgação. Uma vez diminuída a concentração do agente químico esterilizante, o sistema de circulação do ar volta a funcionar normalmente.

Todo o material necessário para proceder ao ensaio de esterilidade, inclusive as amostras, tem sua superfície descontaminada em uma unidade de transferência. Terminada a descontaminação, são transferidos para a unidade de trabalho através de um sistema de dupla porta, podendo ser submetidas ao ensaio de esterilidade.

Uma vantagem frente à utilização da área limpa é por não precisar ter área classificada, regime de fluxo de ar com a utilização de filtros HEPA, diferencial de pressão, controle de temperatura, umidade, o uso de vestimenta e da necessidade de antecâmara.

Trata-se de uma tendência mundial quando utilizado para a execução do ensaio de esterilidade, pois possui como principal vantagem a eliminação da principal fonte de contaminação que é o fator humano evitando a ocorrência de resultados falso-positivos³⁶.

O ambiente estéril é garantido a partir da qualificação do equipamento e da validação do processo de esterilização. Desta forma, garante-se que qualquer evidência de crescimento microbiano em um ensaio de esterilidade seja proveniente do produto, eliminando a ocorrência de retestes.

1.7 – Interpretação dos Resultados

Desde a sua origem, a interpretação do ensaio de esterilidade baseia-se na evidência macroscópica de crescimento microbiano, promovendo uma turbidez no meio de cultura, durante o período de incubação ^{9,12,25,26,32}

A evidência de crescimento microbiano pode se dar pela formação de aglomerados das colônias, pela formação de películas na superfície dos meios de cultura, pela presença de sedimentos depositados, pela turvação dos meios de cultura ou pela presença de fibras – soltas ou enoveladas como algodão - caracterizando as hifas dos fungos filamentosos. É importante que qualquer alteração observada no meio de cultura a partir do primeiro dia de incubação, deva ser levada em consideração, esgotando assim todas as possibilidades no procedimento de identificação de microrganismos identificados até, pelo menos, o nível de gênero e, preferencialmente, até nível de espécie⁴.

Segundo a USP XXVIII ²⁶, se após o tempo de incubação nenhum crescimento microbiano for observado, a amostra é considerada satisfatória. Se for observado crescimento microbiano, a amostra é considerada insatisfatória, ao menos que seja constatada alguma irregularidade quanto aos procedimentos executados durante o ensaio, então, se o ensaio é considerado inválido, é repetido com o mesmo número de unidades testadas no ensaio original. Se não for observada evidência de crescimento microbiano, neste novo ensaio, a amostra é considerada satisfatória quanto ao ensaio de esterilidade, mas, se for encontrado crescimento microbiano, o produto é considerado insatisfatório para o ensaio de esterilidade.

O ensaio de esterilidade pode ser considerado inválido somente quando ocorrer um dos casos relatados abaixo ^{16,26}.

- Monitoramento ambiental não estiver de acordo com os limites estabelecidos;
- Ocorrer falhas durante o procedimento de análise;
- Observar crescimento microbiano no controle negativo;
- Após a determinação da identidade do microrganismo isolado no ensaio, o crescimento desta(s) espécie(s) for atribuído inequivocadamente a alguma falha relacionada ao material e/ou a técnica usada durante o procedimento do ensaio de esterilidade.

A Farmacopéia Brasileira²⁵ permite a execução do ensaio em até três etapas. Se, ao final do período de incubação não houver evidência de crescimento microbiano, a amostra é considerada satisfatória. Havendo crescimento microbiano, o produto é considerado impróprio, a menos que se possa demonstrar o contrário por reteste, ou por meios que comprovem não ter a contaminação causa relacionada com a amostra (ex.: contaminação ambiente, contaminação de controle negativo).

O reteste deve ser feito de maneira idêntica ao teste inicial. Se não aparecer evidência de crescimento microbiano, a amostra é satisfatória para o ensaio de esterilidade. Se houver crescimento no primeiro reteste, isolar e caracterizar o(s) contaminante(s) do primeiro reteste e comparar com o(s) contaminantes do ensaio de esterilidade original. Se o contaminante for o mesmo nos dois ensaios, a amostra é considerada insatisfatória no ensaio de esterilidade. Se os dois contaminantes forem diferentes, deve ser realizado um segundo reteste.

O segundo reteste deve ser feito utilizando o dobro de unidades da amostra utilizadas no ensaio inicial. Os volumes de cada unidade devem ser os mesmos indicados para o ensaio inicial. Se não houver evidência de crescimento, a amostra é satisfatória para o ensaio de esterilidade. Se houver crescimento de qualquer microrganismo, a amostra é considerada insatisfatória.

1.8– Importância da Identificação dos Microrganismos

É importante a identificação não somente do gênero, mas também, da espécie do(s) microrganismo(s) isolado(s), seja do ensaio de esterilidade como do monitoramento ambiental.

A identificação dos microrganismos provenientes do monitoramento ambiental permite: conhecer a flora do ambiente, avaliar a eficácia do procedimento de limpeza e desinfecção (métodos e agentes), avaliar os procedimentos assépticos realizados pelos técnicos, dando suporte no direcionamento dos treinamentos com o pessoal, principalmente, quando o nível de alerta é excedido.

O nível de alerta no monitoramento microbiológico ambiental é aquele que indica um aumento da carga microbiana, fora das condições normais que, uma vez excedido, não implica, necessariamente, numa ação corretiva definitiva, mas merece uma investigação e tomada de ação para não interferir na qualidade da resposta do ensaio analítico.

Quanto à identificação dos microrganismos provenientes do ensaio é de suma importância porque é a partir da espécie isolada que se invalida ou não o ensaio, comparando com a(s) espécie(s) encontrada(s) no monitoramento ambiental, como também, a reprovação do produto é baseada na coincidência de espécies isoladas no caso da realização de dois ensaios como no ensaio que chega a realizar o 2º reteste, que para a VISA verifique a possibilidade de estabelecimento denexo causal em amostras de denúncia, ou ainda a origem da contaminação no processo produtivo.

2 – RELEVÂNCIA

Em virtude do risco associado ao uso de medicamentos injetáveis contaminados, tem-se exigido por parte dos órgãos reguladores a adequação das indústrias quanto às Boas Práticas de Fabricação (BPF), como forma de garantir a esterilidade destes produtos, pois o avanço tecnológico permite a produção de lotes cada vez maiores e os ensaios que garantam a segurança do produto ganham importância pela possibilidade de ocorrência de falhas e agravos à saúde extremamente sérios e em grandes proporções.

Desta forma, o Ensaio de Esterilidade ainda é considerado como última ferramenta do controle de processo para verificar a segurança do lote produzido e a verificação da adoção das Boas Práticas de Fabricação.

A execução deste ensaio num laboratório oficial em produtos alvos da vigilância sanitária tem grande importância, pois além de avaliar a qualidade do processo produtivo, fornece subsídios através do laudo analítico para que o órgão fiscalizador execute as ações de vigilância sanitária.

A avaliação do ensaio de esterilidade e outros aspectos considerados como medida de controle e de fatores que influenciaram a não execução do ensaio de esterilidade e os resultados quando da sua realização em medicamentos injetáveis que vem sendo recebidos pelo INCQS, seja por denúncia ou por programas em parceria com as instituições do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS) à luz das legislações publicadas muito poderão contribuir para o planejamento e organização das ações de Vigilância Sanitária.

3 - OBJETIVOS

O estudo proposto tem por finalidade:

- a) Avaliar os processos das amostras de medicamentos injetáveis que entraram no INCQS no período de 1999 a 2002, por demanda espontânea e por programas, considerando a modalidade de análise, a descrição do motivo de apreensão, local de coleta, o quantitativo, o fabricante, a pertinência da execução do ensaio de esterilidade, o tempo para a emissão do Laudo Analítico, a VISA responsável pela coleta e estabelecimento de exigência.

- b) Avaliar a representatividade dos medicamentos injetáveis em relação ao total de medicamentos recebidos no INCQS, o percentual de amostras submetidas ao ensaio de esterilidade e verificar a predominância da modalidade de análise; identificar e discutir os principais fatores que reduzem a eficácia da análise laboratorial, ou a sua não realização, se há predominância de algum produto e produtor; identificar os principais requerentes e a resposta à Vigilância Sanitária para as devidas tomadas de ação.

4 – MÉTODO

Para a realização deste trabalho foi feito um levantamento de todas as amostras de medicamentos que deram entrada no Instituto Nacional de Controle de Qualidade em (INCQS) no período entre 1999 a 2002.

Inicialmente foi feito um levantamento no caderno de registro de entrada de amostras do Setor de Esterilidade dos medicamentos injetáveis analisados no referido período.

Em seguida foi solicitada uma pesquisa no Sistema de Gerenciamento de Amostra (SGA) de todas as amostras de medicamentos que deram entrada em programas de medicamentos com os seguintes dados:

- Número da amostra
- Data de Fabricação
- Data de recebimento
- Data de Cadastro
- Programa
- Situação da amostra
- Nome do Produto
- Data de vencimento
- Local de Coleta
- Data de coleta
- Forma Farmacêutica
- Número do Lote
- Modalidade de Análise
- Complemento do Produto
- Nome do Ensaio
- Conclusão
- Detentor
- Requerente
- Avaliação Final
- Data da Avaliação Final

- Motivo de Apreensão
- Nome marca
- Registro

Posteriormente, foi feita uma comparação dos dados obtidos nos dois levantamentos para validar o banco de dados do SGA.

Na tentativa de identificar o maior número de amostras de medicamentos injetáveis, foi feita uma filtragem a partir dos ensaios realizados, forma farmacêutica, complemento do produto sendo excluídas as amostras de medicamentos fitoterápicos, as drágeas, os comprimidos e pelos ensaios realizados.

O restante das amostras foi identificado partir da análise dos dados contidos nos processos de medicamentos recuperados no arquivo intermediário.

A partir dos processos selecionados, preencheu-se a Ficha para Coleta de Dados (Ficha 1) com as informações contidas.

FICHA 1: Ficha para coleta de dados

Amostra Nº _____	
Modalidade da Análise: _____ () Triplicata () Amostra Única	
Nome do Produto: _____	
Apresentação: _____	
Lote: _____	
Motivo da Apreensão: _____	
Fabricante: _____	
Logradouro: _____	
Local de coleta: _____	
VISA responsável pela coleta: _____	
Foi feita alguma solicitação a VISA? _____	
Foi respondido? Quanto tempo depois? _____	
Requerente: _____	
Unidades Analíticas Seleccionadas: _ () DQ () DM () DFT _____	
Ensaio realizado: () Esterilidade () aspecto () descrição () rótulo () volume Médio. () pH () pirogênio () L.A.L. _____	
A execução do ensaio de esterilidade responderia a denúncia? _____	
A amostra foi cancelada? _____	
Motivo da não realização (sem Termo de Apreensão de Amostra (T.A.A); violação ; quantitativo; amostra com prazo de validade vencido e etc) _____	
Como está preenchido o T.A.A? _____	
Como está documentada a denúncia? Os dados levaram a relacionar o ocorrido com o produto encaminhado? _____	
Data de Fabricação: ___/___/___	Data de Validade: ___/___/___
Data de entrada: ___/___/___	Data de liber. do laudo analítico: ___/___/___
OBS: _____	

Após finalizar o preenchimento das fichas de todos os injetáveis, realizaram-se os seguintes procedimentos:

- 1- Identificou-se a representação das amostras de medicamentos injetáveis em relação ao total de amostras recebidas pelo INCQS no referido período e, para isso, foi necessário fazer uma nova pesquisa no SGA para levantar o quantitativo de amostras de medicamentos cadastradas nos Programas de Medicamentos no período proposto;
- 2- Verificou-se a distribuição das amostras por programas específicos e demanda espontânea;
- 3- Identificou-se o percentual de amostras de medicamentos injetáveis submetidos ao ensaio de esterilidade;
- 4- Verificou-se o motivo de apreensão das amostras de medicamentos injetáveis submetidas e não submetidas ao ensaio de esterilidade;
- 5- Avaliou-se o resultado do ensaio de esterilidade das amostras de medicamentos injetáveis submetidos ao ensaio de esterilidade;
- 6- Verificou-se o(s) motivo(s) pelo(s) qual(ais) 220 amostras de medicamentos não foram submetidos ao ensaio de esterilidade;
- 7- Identificaram-se os motivos de cancelamento das amostras de medicamentos injetáveis;
- 8- Verificou-se a avaliação final do Laudo Analítico dos medicamentos injetáveis submetidos e os não submetidos ao ensaio de esterilidade cadastrados no INCQS no período de 1999 a 2002;
- 9- Verificou-se no total de medicamentos injetáveis cadastrados os principais “Requerentes”;
- 10- Verificou-se a predominância de produtos e produtores nas amostras de medicamentos injetáveis advindos da demanda espontânea;
- 11- Por último, avaliou-se o tempo para a emissão do Laudo Analítico das amostras satisfatórias, insatisfatórias e o tempo para o cancelamento.

5 – RESULTADOS

Tabela 1 – Total de amostras de medicamentos injetáveis recebidos anualmente em relação ao total de medicamentos cadastrados

Ano	Total de amostras	Medicamentos Injetáveis
1999	276	74 (26,8%)
2000	376	88 (23,4%)
2001	324	132 (40,7%)
2002	386	172 (44,6%)
Total	1362	466 (34,2%)

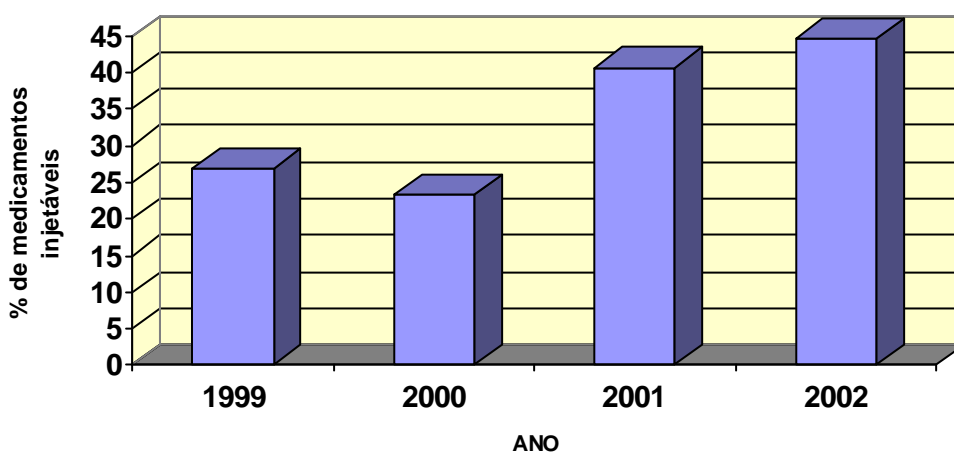


Figura 2 – Distribuição do percentual de amostras de medicamentos injetáveis em relação ao total de medicamentos cadastrados.

Tabela 2: Quantitativo de medicamentos injetáveis advindas de demanda espontânea e de programas específicos

Ano	Demanda		Programa		
	Espontânea	Genérico	SPGV	SES/RJ	
1999	73 (98,6%)	-	-	-	1(1,4%)
2000	82 (93,2%)	6 (6,8%)	-	-	-
2001	119 (90,2%)	13 (9,8%)	-	-	-
2002	143 (83,1%)	2 (1,2%)	27(15,7%)	-	-
Total	417	21	27		1

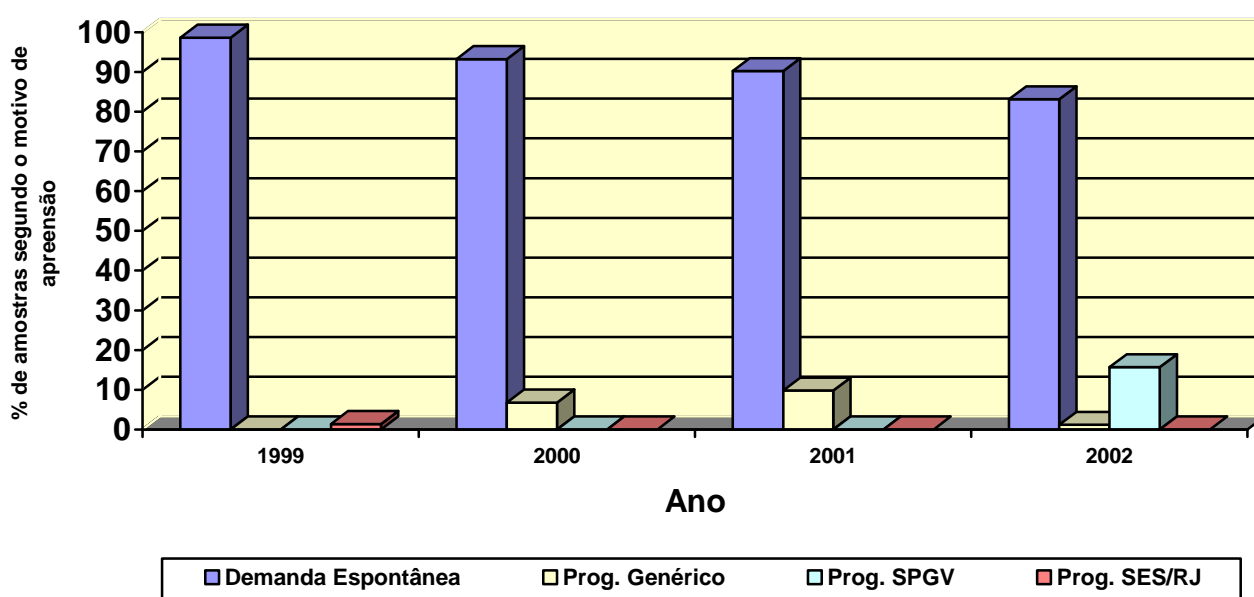


Figura 3: Distribuição do percentual de medicamentos injetáveis advindos da demanda espontânea e programas específicos por ano.

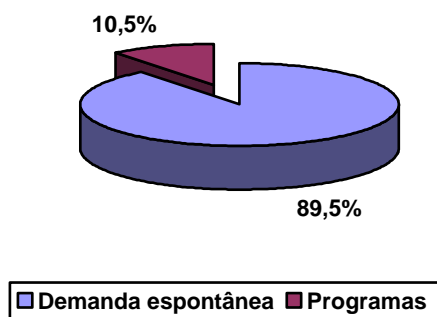


Figura 4: Distribuição do percentual total de medicamentos injetáveis advindos da demanda espontânea e programas específicos no período de 1999 a 2002.

Tabela 3: Distribuição das modalidades de análises nas amostras de medicamentos injetáveis por ano

Ano	Total de Amostras	Modalidades de Análise			
		Fiscal Triplicata	Amostra Única	Orientação	Controle
1999*	74	40 (54,0%)	25 (33,8%)	5(6,8%)	0
2000	88	69 (78,4%)	12 (13,6%)	7 (7,9%)	0
2001	132	97 (73,5%)	18 (13,6%)	12 (9,1%)	5 (3,8%)
2002	172	137 (79,6%)	11 (6,4%)	24 (14%)	0

* 04 amostras s/ o termo de apreensão

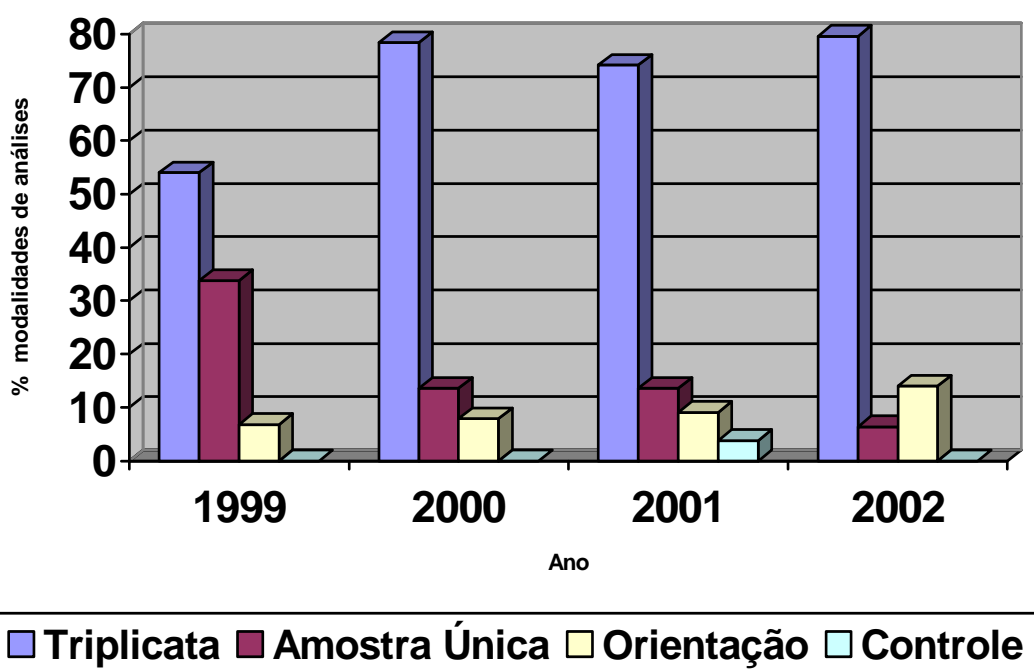


Figura 5: Distribuição das modalidades de análise por ano.

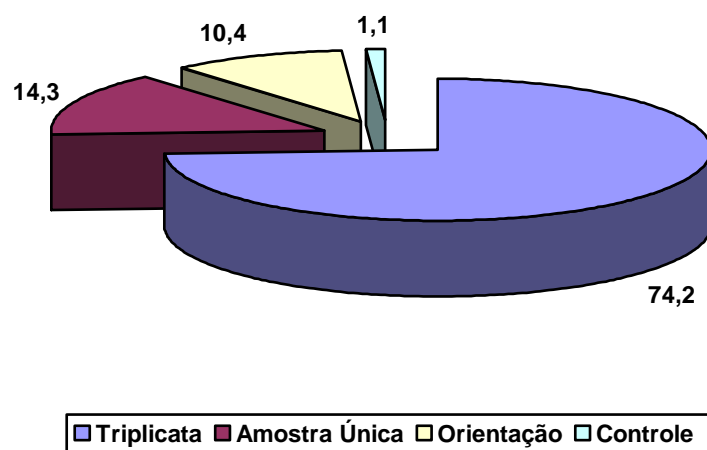


Figura 6: Distribuição do percentual das modalidades de análise no período de 1999 a 2002

Tabela 4: Quantitativo de amostras de medicamentos injetáveis submetido ao ensaio de esterilidade

ANO	Nº Amostras recebidas	Nº Amostras submetidas ao ensaio de esterilidade	Nº de Amostras não submetidas ao ensaio de esterilidade
1999	74	22 (29,7%)	52 (70,3%)
2000	88	45 (51,1%)	43 (48,9%)
2001	132	60 (45,5%)	72 (55,5%)
2002	172	119 (69,2%)	53 (30,8%)
Total	466	246 (52,8%)	220 (47,2%)

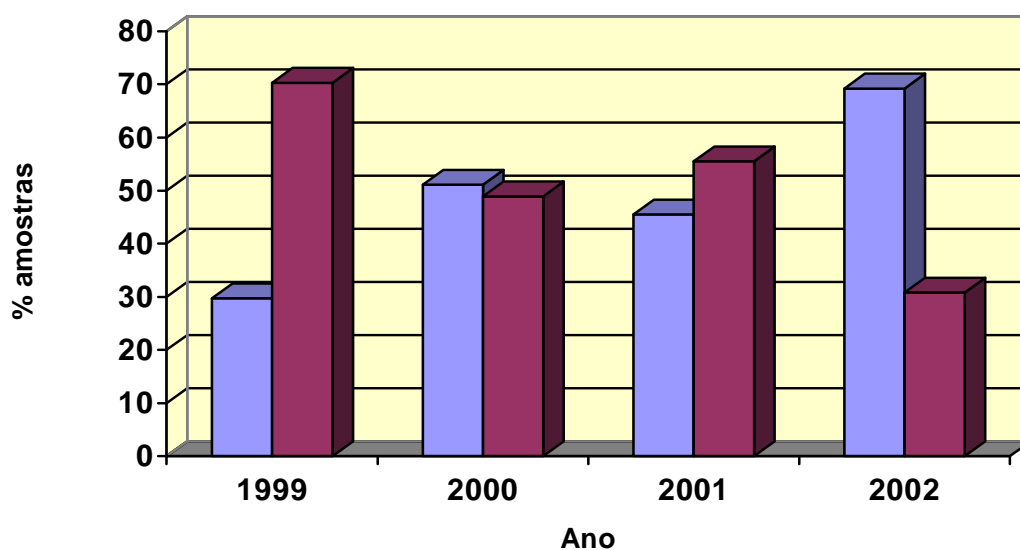


Figura 7: Distribuição do percentual de amostras de medicamentos injetáveis submetidas e não submetidas ao ensaio de esterilidade.

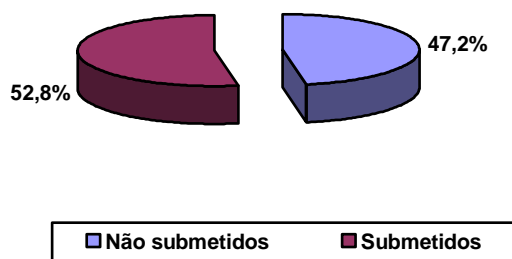


Figura 8: Distribuição do total de amostras submetidas ao ensaio de esterilidade em relação ao total de amostras cadastradas no período de 1999 a 2002.

Tabela 5: Resultado analítico das amostras submetidas ao ensaio de esterilidade no período de 1999 a 2002

Total de amostras	Ensaio de Esterilidade	
	Satisfatório	Não concluído
246	242 (98,4%)	4 (1,6%)

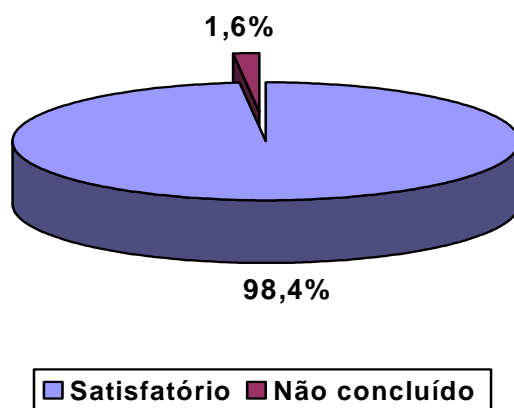
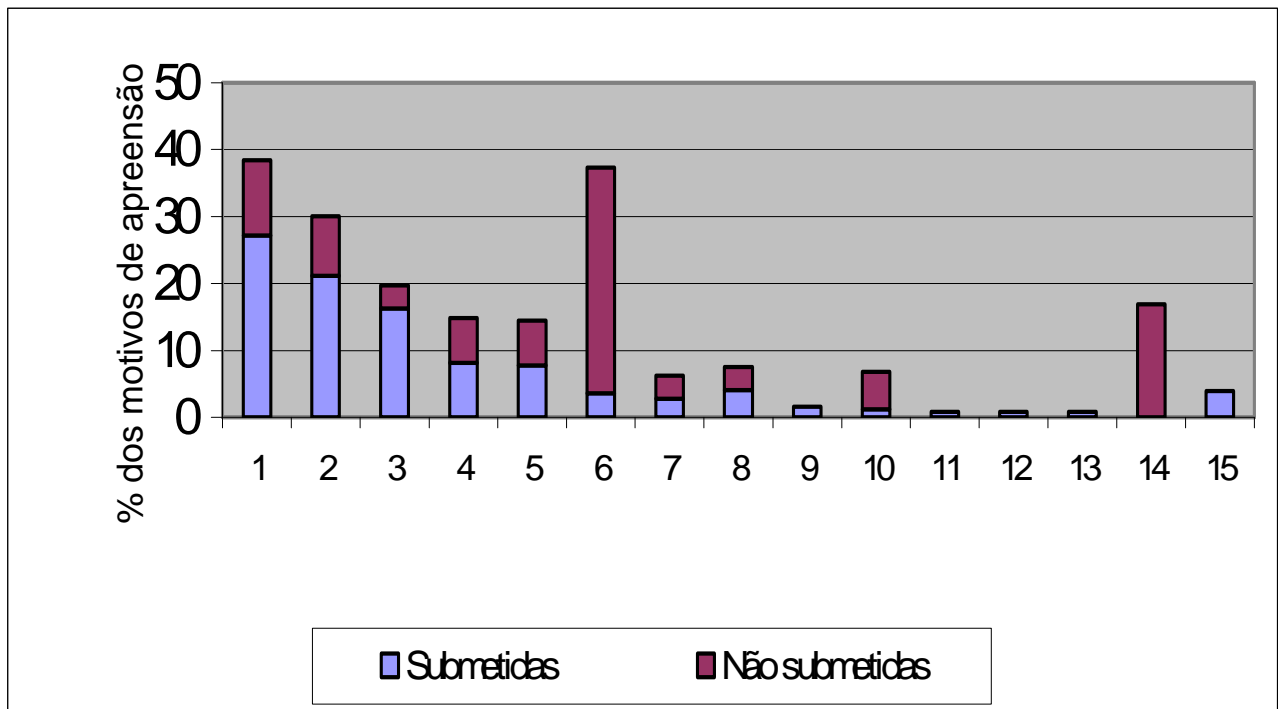


Figura 9: Distribuição dos resultados do ensaio de esterilidade realizados nos medicamentos injetáveis no período de 1999 a 2002.



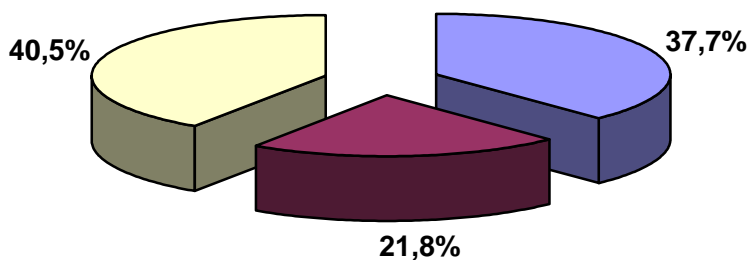
* Dados brutos no Anexo A

- 1- Choque pirogênico
- 2- Não apresenta o motivo de apreensão
- 3- Programa
- 4- Depósito sugestivo de crescimento microbiano
- 5- Suspeita de causar reações adversas
- 6- Suspeita de ineficácia terapêutica
- 7- Suspeita de óbitos
- 8- Desvio da qualidade
- 9- Alteração de cor
- 10- Presença de corpo estranho
- 11- Suspeita de causar meningite
- 12- Ulceração da córnea e perda total da visão
- 13- Parada cardiorrespiratória
- 14- Pesquisa de insulina
- 15- Outros

Figura 10: Distribuição dos motivos de apreensão das amostras submetidas e não submetidas ao ensaio de esterilidade no período de 1999 a 2002.

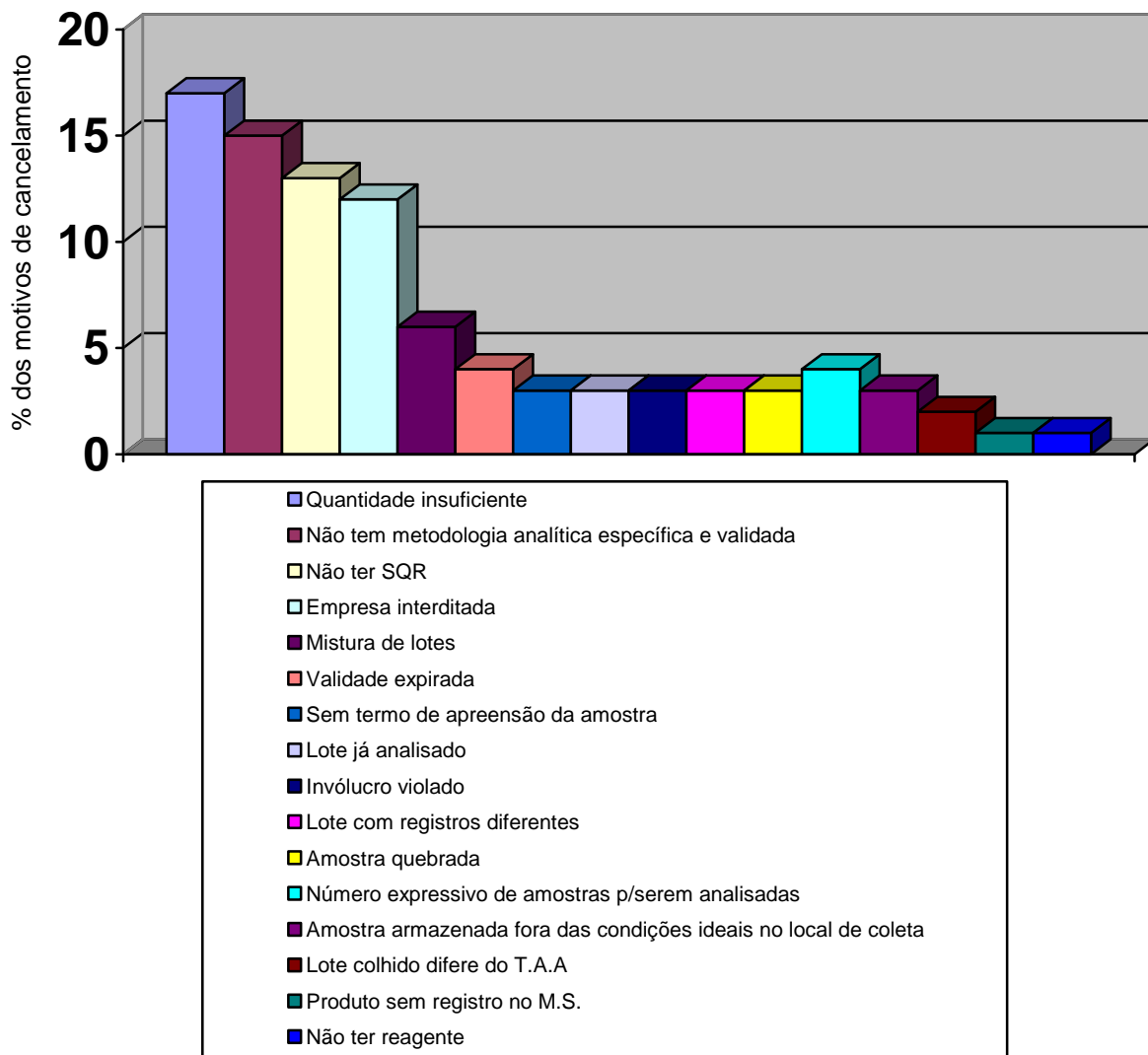
Tabela 6: Motivos pelos quais as amostras de medicamentos injetáveis não foram submetidas ao ensaio de esterilidade

Motivos	1999	2000	2001	2002	Total
Cancelamento	16	11	27	29	83 (37,7%)
Reprovadas na potência	01	04	0	0	05 (1,8%)
Reprovadas no rótulo	04	0	0	01	05 (1,8%)
Reprovadas no aspecto	09	06	05	01	21 (9,3%)
Reprovadas no teor	01	04	04	0	09 (5,3%)
Reprovadas no rótulo e no aspecto	03	0	0	0	03 (1,3%)
Reprovadas por teor e pH	0	0	01	0	01 (0,4%)
Reprovadas no pH	0	02	0	0	02 (1,3%)
Reprovadas no pirogênio	0	0	0	01	01 (0,4%)
Reprovadas no rótulo e potência	0	0	0	01	01(0,4%)
Analizadas e aprovadas por outros departamentos	18	16	35	20	89(40,5%)
Total	52	43	72	53	220



■ Canceladas ■ Reprovadas ■ Analizadas e Aprovadas p/outros Deptos

Figura 11: Distribuição dos motivos que levaram a não realização do ensaio de esterilidade.



* Dados brutos no Anexo B

Figura 12: Distribuição dos principais motivos de cancelamento das amostras de medicamentos injetáveis no período de 1999 a 2002.

Tabela 7: Avaliação final do laudo analítico das amostras submetidas ao ensaio de esterilidade

Avaliação Final	1999	2000	2001	2002	Total
Aprovada	21	36	49	117	223 (90,6%)
Reprovada	0	06	10	2	18 (7,3%)
Não se aplica	01	0	0	0	1
Total	22	42	59	119	242*

* Excluindo os quatro ensaios de esterilidade que não foram concluídos pelo não envio de amostras para proceder aos retestes.

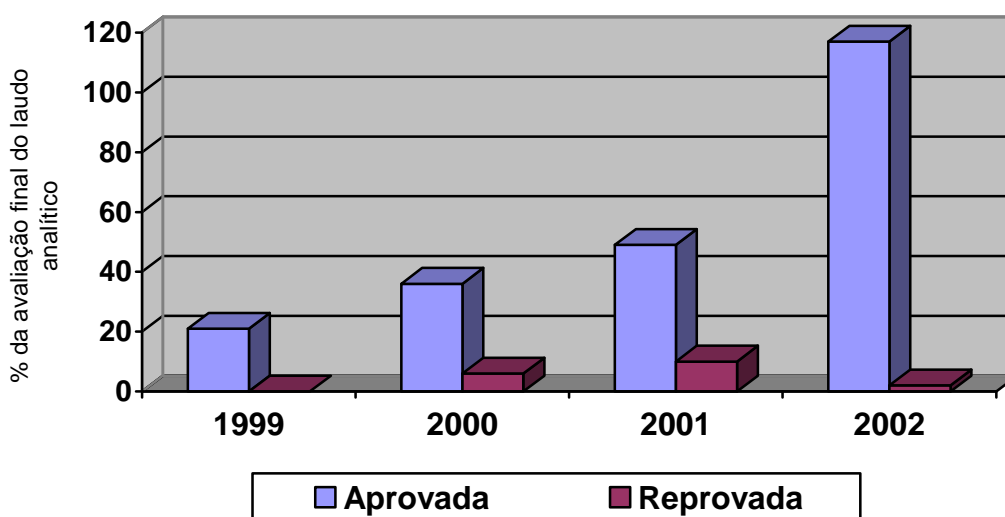


Figura 13: Distribuição da avaliação final do laudo analítico das amostras de medicamentos injetáveis submetidos ao ensaio de esterilidade.

Tabela 8: Avaliação dos laudos analíticos dos medicamentos injetáveis cadastrados no INCQS por ano

Avaliação Final	1999	2000	2001	2002	Total
Aprovada	39 (52%)	56 (63%)	86 (59%)	137 (80%)	318 (68,0%)
Reprovada	18 (24%)	21 (23%)	20(16%)	6 (4%)	65 (14,0%)
Cancelada	16 (23%)	11 (14%)	26 (19%)	29 (16%)	82 (17,6%)
Não se aplica	1 (1%)	0	0	0	1 (0,2%)
Total	74	88	132	172	466

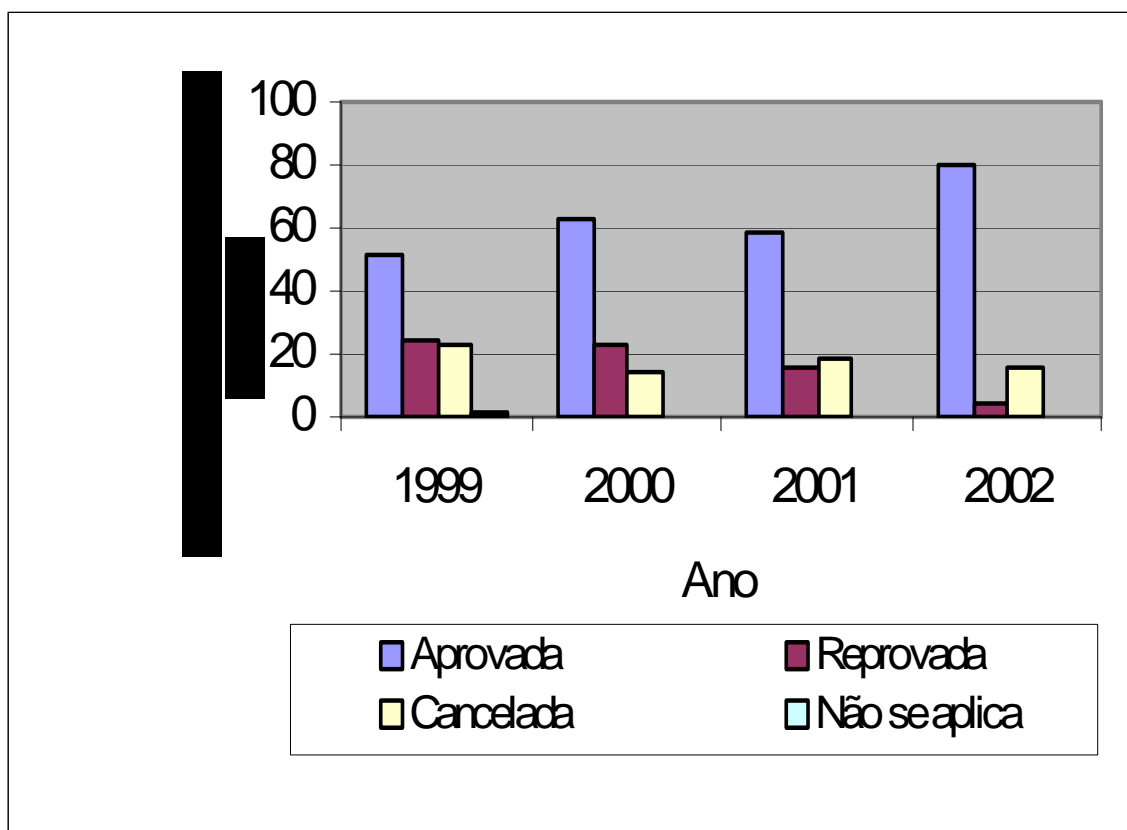


Figura 14: Distribuição da avaliação final do Laudo Analítico das amostras de medicamentos injetáveis por ano.

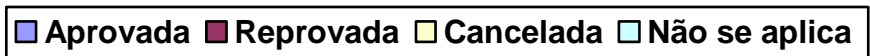
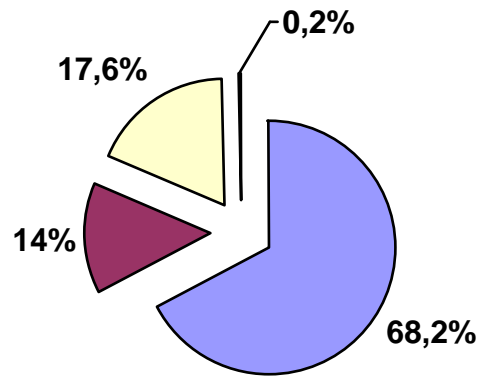
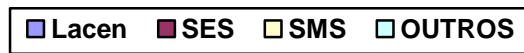
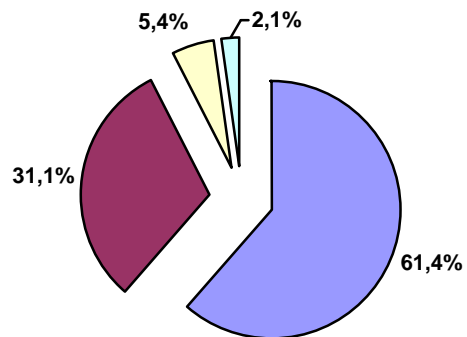
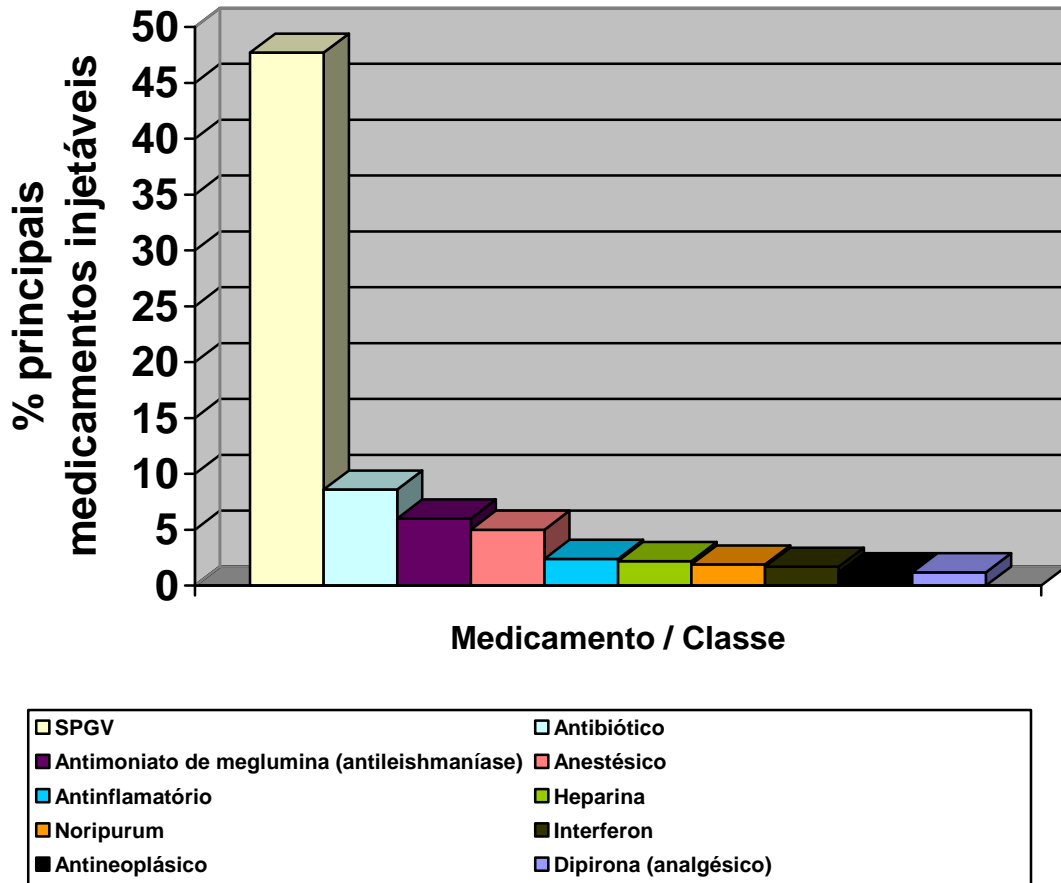


Figura 15: Distribuição da avaliação final do laudo analítico das amostras de medicamentos injetáveis no período entre 1999 a 2002.



* Dados brutos no Anexo C

Figura 16: Distribuição dos principais requerentes no período de 1999 a 2002.



* Dados brutos no Anexo D

Figura 17: Distribuição do percentual dos principais medicamentos injetáveis advindos da demanda espontânea.

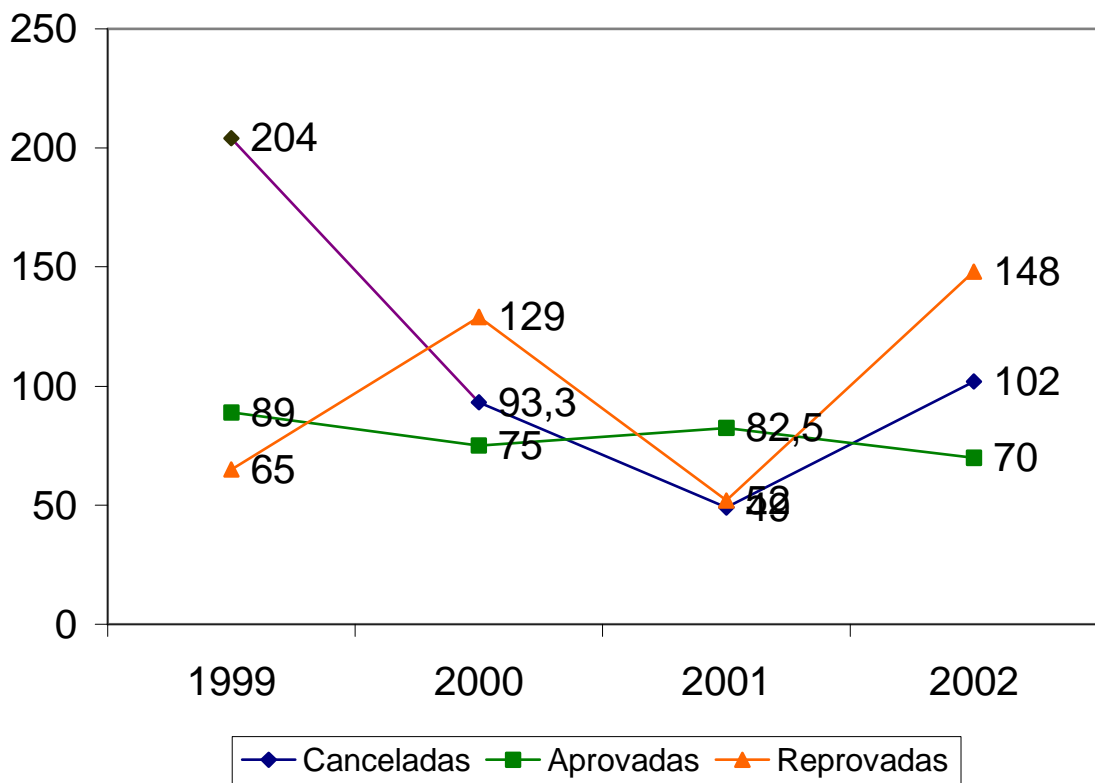


Figura 18: Tempo para a emissão do laudo analítico das amostras aprovadas, reprovadas e canceladas.

6 – DISCUSSÃO

Apesar do ensaio de esterilidade ser considerado como a última ferramenta no controle do processo para verificar a segurança do lote produzido, apresenta algumas limitações no que diz respeito à segurança das informações, pois não se tem certeza da esterilidade das outras unidades do lote pelo fato da própria metodologia ser falha por não propiciar abrangência necessária quanto ao crescimento de todos os microrganismos e, além da temperatura de incubação ter uma faixa restrita, não permitindo a detecção dos microrganismos psicrófilos e termófilos. Diante destas limitações, dá-se importância ao cumprimento das Boas Práticas de Fabricação a fim de se obter um lote homogêneo e com a carga microbiana inicial extremamente baixa, de maneira que níveis de potenciais negativos elevados sejam atingidos no processo de esterilização pressupondo a condição de esterilidade do lote.

Quanto aos medicamentos injetáveis, pode-se observar na Tabela 1 e Figura 2, que representaram em média, 25% do universo de amostras de medicamentos recebidos em 1999 e 2000, em 2001 teve um aumento de 50% de amostras recebidas e em 2002 o aumento foi de 95%, comparado ao ano 2000.

Este aumento de medicamentos injetáveis recebidos em 2001 foi em virtude de denúncias de amostras de Solução Parenteral de Grande Volume (SPGV) suspeitas de causarem choque pirogênico e como consequência, a Anvisa elaborou um Programa de Monitoramento das Empresas Produtoras de Solução Parenteral de Grande Volume (SPGV), cujos objetivos eram: avaliar o cumprimento das BPFs; avaliar a eficácia do Sistema de Inspeção e avaliar os instrumentos legais existentes.

O INCQS teve uma participação importante, pois um dos critérios para a formação da equipe de inspeção era a participação de um profissional capacitado para avaliar o controle da qualidade efetuado pelas indústrias farmacêuticas.

Desta forma obteve-se uma troca de experiências, como também um panorama a nível nacional das empresas produtoras de SPGV, dentre estas, as com capacidade de produzir e fornecer produtos com qualidade à população, as que deveriam cumprir exigências para continuar produzindo e interditas.

A realização de Programas coordenados na área de Medicamentos em parceria com a Anvisa e as VISAS estaduais e municipais é de grande importância, pois através da coleta programada de amostras e o encaminhamento para o INCQS e Lacens (na modalidade fiscal) possibilita um diagnóstico da situação nacional proporcionando o caráter preventivo das ações de vigilância sanitária, além do melhor planejamento das atividades analíticas.

Embora se possa verificar na Tabela 2 e na Figura 3 uma diminuição do percentual de amostras advindas da demanda espontânea a partir do estabelecimento de programas, estes, por sua vez, não apresentaram uma quantidade expressiva de amostras e ocorreram em curto período, não sendo verificado o resultado esperado, tendo em vista o aumento do número absoluto de amostras por demanda espontânea que dobrou de 1999 a 2002.

Na figura 4, observa-se que as amostras de medicamentos injetáveis oriundos de programas representam apenas 10,5% do total de amostras recebidas e que 89,5% advém da demanda espontânea. Isto revela que a atuação da VISA tem-se concentrado na prestação de serviço à demanda espontânea⁴⁰.

Quando se tem uma ação programada permite ao laboratório uma organização quanto à disponibilidade técnica, de aparelhos, metodologias validadas e conseqüentemente respostas mais rápidas quanto à qualidade do produto, o que não pode ser garantido quando se trabalha com amostras advindas da demanda espontânea.

Ao analisar a demanda das amostras em relação às modalidades de análise (Tabela 3 e Figuras 5 e 6), verifica-se que a modalidade fiscal é a de maior incidência (87,7%), isto representa a rotina da atividade de fiscalização, a seguir vem a modalidade orientação (10,3%) e por último a análise de controle (1,1%), não havendo nenhum caso de análise prévia.

Para o risco que os medicamentos injetáveis oferecem, este quadro é crítico, pois as análises previstas em lei, têm como principal função fornecer subsídios aos órgãos fiscalizadores e completar as ações de vigilância sanitária onde cada modalidade de análise está associada a um momento do ciclo de fabricação.

Diante disto, para uma ação eficaz de vigilância sanitária e cumprimento da sua legislação, era de se esperar uma maior quantidade de análise de controle, pois é obrigatória para todos os produtos quando entra na cadeia de consumo (Art. 152 do Decreto 79.094/77)⁴¹, sob pena de ter o registro cancelado, em seguida um quantitativo de análise prévia e a inexistência legal da análise de orientação.

A análise prévia avaliaria a segurança e a eficácia do produto, e se dá no momento da avaliação da concessão do registro, como não é exigida por lei, fica a cargo da autoridade avaliadora do pedido de registro, a responsabilidade em julgar a sua necessidade (Art. 18, inciso III, do Decreto 79.094/77)⁴¹. Tal fato é contraditório quando se tem a preocupação em oferecer ao consumidor produtos seguros e eficazes, principalmente, quanto a medicamentos injetáveis que são administrados em grande quantidade e direto na corrente sangüínea do paciente, podendo levar à morte.

É neste momento que os ensaios analíticos nos laboratoriais oficiais têm importância para verificar a segurança e eficácia por não se tratar, apenas, dos ensaios farmacopeicos exigidos no produto acabado. Neste caso, o produto está “nascendo” e, qualquer modificação na sua formulação, deverá ser feita antes de ser colocado no mercado, ou seja, antes de ser coletado para a análise de controle.

Deve-se considerar que o cumprimento dos ensaios farmacopeicos é o padrão mínimo de qualidade para a aceitação do produto, objetivando assegurar a segurança e a eficácia do mesmo, desde que cumpridas as boas praticas de fabricação.

Como a análise de orientação não está prevista na legislação, a coleta de amostras não é, em consequência, realizada segundo procedimentos amparados por lei, o resultado analítico das amostras para análise de orientação, não determinam, em princípio, ações previstas na legislação sanitária⁴². No caso de um laudo reprovando o produto, deverá ser comunicado à vigilância sanitária, que tomará suas ações mediante à coleta na modalidade fiscal ou efetuará uma inspeção na indústria e a partir daí suas ações estarão respaldadas na legislação sanitária.

Para reforçar a importância destas análises, o Art. 6º da Lei nº 6.360/1976⁴³, determina:

“A comprovação de que determinado produto até então considerado útil, é nocivo à saúde ou não preenche os requisitos estabelecidos em lei implica na sua imediata retirada do comércio e na exigência da modificação da fórmula de sua composição e nos dizeres dos rótulos, das bulas e embalagens, sob pena de cancelamento do registro e apreensão do produto em todo território nacional”.

O percentual de amostras coletadas na modalidade fiscal, sob a forma de amostra única (14,3%) das amostras de injetáveis, embora permitida por lei, é um problema para o laboratório analítico, visto que, na legislação vigente, para a execução do ensaio de esterilidade, é necessário um quantitativo mínimo a ser testado para se ter representatividade estatística do lote e não ocorrer a liberação de resultados falso-negativos, como também, é necessário comprovar a partir de um segundo ensaio o microrganismo encontrado no primeiro ensaio. O que se torna inviável na prática devido à quantidade insuficiente de amostras à realização do ensaio.

Este é um ponto importante porque o resultado condenatório do ensaio de esterilidade pode indicar a ineficácia do processo de esterilização do produto acabado, ou seja, sugere o não cumprimento das boas práticas de fabricação por parte da indústria e a impossibilidade de um ensaio confirmatório levaria o laboratório oficial à não responder à vigilância sanitária e conseqüentemente expor a população ao risco.

Quando se analisa o quantitativo das amostras de medicamentos injetáveis submetidos ao ensaio de esterilidade (Tabela 4 e Figura 7), observa-se um aumento a partir de 2000, que pode estar relacionado com o aumento da coleta de amostra em triplicata, conforme foi observado na Figura 5, sendo as amostras coletadas em quantidade suficiente para a realização do ensaio e ao fato de amostras com suspeitas de causarem choque pirogênico e pelo programa de SPGV, chegando a 69,2% no ano de 2002.

A criação do Manual de Coleta de Amostras pelo INCQS vem servindo de base para os agentes fiscalizadores avaliarem o quantitativo de amostras que devem ser coletadas para que os ensaios necessários sejam executados. Isto demonstra que a troca de informação entre o fiscal e o laboratório analítico é uma forte aliada no sucesso da ação de vigilância sanitária.

Observando a Figura 8, verifica-se que 52,8% das amostras de medicamentos injetáveis cadastradas foram submetidas ao ensaio de esterilidade e de acordo com a Tabela 5 e Figura 9, 98,4% mostraram-se satisfatórias indicando a eficiência do processo de esterilização do produto acabado, sugerindo o cumprimento das boas práticas de fabricação por parte das indústrias.

Também se pode observar que 1,6% das amostras não tiveram o seu laudo concluído em virtude do não cumprimento de exigências feitas às VISAS responsáveis pela não coleta de amostras em quantidade suficiente para a execução do ensaio confirmatório (retestes). Fato grave, pois o laboratório analítico não tem como comprovar que a contaminação é do produto, assim, a população fica exposta ao risco e não se agregam provas para as devidas ações de VISA.

Outro ponto, para obter sucesso no fornecimento de subsídios à ação da fiscalização, através dos resultados das análises laboratoriais, é a apreensão de amostras, que, deve ser feita rigorosa e criteriosamente, como determina a legislação, pois qualquer irregularidade no procedimento administrativo ou técnico invalida a medida adotada⁴⁴, mesmo em apreensões programadas, ou seja, quando não existe suspeita.

Observando a Figura 10, verifica-se que a falha no fornecimento de subsídios à vigilância começa por ela própria, onde 30% das amostras de medicamentos injetáveis não apresentaram o motivo pelo qual foram coletadas e sendo isto de fundamental importância para orientar e direcionar a abordagem laboratorial.

Nesta mesma figura pode-se observar que os motivos de apreensão, praticamente, não variam quando se comparam as amostras que foram, das que não foram submetidas ao ensaio de esterilidade, indicando que as análises laboratoriais são direcionadas ao cumprimento dos ensaios oficiais relativos à monografia do

produto e não em responder às denúncias. Com exceção das amostras suspeitas de conter insulina.

Na análise da Figura 8 ou Tabela 6, observa-se que 220 (47,2%) das amostras dos medicamentos injetáveis cadastrados não foram submetidos ao ensaio de esterilidade porque de acordo com a Tabela 6 e Figura 11, 83 (37,7%) amostras foram canceladas, 48 (21,8%) foram analisadas em outros departamentos e foram reprovadas e 89 (40,5%) apesar de aprovadas não foram encaminhadas para a realização do referido ensaio.

Pelo acima exposto e segundo a figura 11, são alarmantes os dados do percentual de amostras canceladas (37,7%) ser superior ao percentual de amostras reprovadas (21,8%), considerando o universo de amostras de medicamentos não submetidos ao ensaio de esterilidade. Mesmo considerando o número total de amostras de medicamentos injetáveis verifica-se que 13,9% são reprovadas por algum motivo e 17,6% canceladas (Tabela 8 e Figura 15).

Então, fica a seguinte questão: Quantos destes medicamentos cancelados poderiam estar reprovados?

Quanto as amostras canceladas, este procedimento pode acarretar a não finalização do ciclo de fiscalização e conseqüentemente medidas punitivas e corretivas deixam de ser cumpridas no âmbito da vigilância sanitária. Então, ao se analisar a Figura 12, que apresenta a distribuição dos principais motivos de cancelamento, observa-se que dos 16 motivos apresentados, 07 (44%) referem-se a erros no momento da apreensão das amostras: quantidade insuficiente, mistura de lotes, amostras sem o termo de apreensão, validade expirada, invólucro violado, amostra quebrada e lote colhido diferente do apresentado no T.A.A., o que indica problemas no aspecto legal, pois se verifica o não cumprimento da Lei nº6.437/77⁴⁵, como também podem estar relacionados a falta de capacitação técnica.

Na tentativa de retificar estes erros e submeter às amostras à análise laboratorial, é gerada a condição de exigência elevando assim o tempo de permanência da amostra no INCQS. Caso seja ou não cumprida, é o principal fator

que eleva o prazo para a liberação do laudo analítico ou cancelamento da amostra, como pode ser observado na figura 18.

O grande percentual de amostras canceladas (30%) por falta de metodologia analítica específica e validadas, seguida da falta de SQR e por não ter reagentes, pode ser atribuído à falta de elaboração de programas e demonstra que o laboratório não está conseguindo acompanhar o avanço tecnológico da indústria farmacêutica.

Importante nesta Figura 12 é o cancelamento de amostras devido ao lote já ter sido analisado. Isto pode ser um indicativo de que algum desvio de qualidade poderia estar ocorrendo e deveria ser observado se o local de coleta difere do anterior, se haveria coincidência do motivo de apreensão e principalmente se o laudo anteriormente emitido respondeu ou não a dúvida levantada.

A coleta de produto sem registro de produto importado, apreendido em um Hospital, transgredindo o Art. 12 da Lei 6.360/76⁴³, seria passível de sofrer punições referendadas no Art. 10, item IV da Lei nº 6.437/77⁴⁵ e deveria ser apreendido em todo território nacional.

Outro ponto observado foi o cancelamento de amostras diferentes de SPGV, que apresentaram na rotulagem do mesmo lote dois números de registro diferentes no Ministério da Saúde, pertencendo ao mesmo produtor. Fato que merecia a elaboração de laudo reprovando no ensaio de rótulo e documento relatando o caso, sugerindo uma investigação por parte da vigilância sanitária, pois um produto com a mesma apresentação, formulação e embalagem não pode apresentar dois registros diferentes.

Quanto à avaliação final do laudo analítico das amostras submetidas ao ensaio de esterilidade (Tabela 7 e Figura 13), pode-se verificar que embora tenha ocorrido um aumento significativo de amostras, conforme observado na tabela 1 e figura 2, 223 (90,6%) foram aprovadas e 18 (7,3%) reprovadas, com maior percentual de reprovação nos anos de 2000 e 2001.

Observa-se na avaliação dos laudos analíticos de medicamentos injetáveis cadastrados no período (Tabela 8 e Figura 14) um aumento das amostras aprovadas, uma constância na proporção de amostras reprovadas nos anos de 1999 e 2000, diminuindo em 2001 e uma queda significativa no ano de 2002. Quanto às amostras canceladas, observa-se uma queda em 2000 quando comparado a 1999, seguido de um aumento em 2001 e uma pequena queda em 2002, que quando comparado ao número de amostras reprovadas, representa quase 5 vezes maior e quase 20% do total de medicamentos recebidos no período entre 1999 e 2002 (Figura 15). Fato preocupante que já foi mencionado anteriormente.

Na análise dos principais requerentes no referido período (Figura 16) verifica-se que 61,4% das amostras são enviadas pelos Lacens, seguido de 31,1% das SES, 5,4% das SMS e por último 2,1% referentes a outros órgãos como FUNASA, UFRJ, entre outros.

Estes dados ratificam os apresentados no Relatório dos Dados de Atualização dos Lacen, Anvisa, 2003⁴⁶, revelando que no período entre 1999 e 2002, as amostras de água e alimentos são responsáveis por quase 80% das amostras analisadas e que somente 1/3 dos Lacens realizam análise de medicamentos devido os demais apresentarem falta de padrões, métodos analíticos, de equipamento e pessoal qualificado.

No Anexo D são assinalados os principais tipos de produtos que representaram problema para a vigilância sanitária: 47,2% referem-se às SPGV, seguido dos antibióticos com 8,6%, antimoníato de meglumina (6%), anestésicos (5,0%), anti-inflamatórios (3,1%), nutrição parenteral (0,6%) e outros.

Este levantamento tem grande importância por tratar de medicamentos advindos de demanda espontânea, ou seja, foram apreendidos por denúncias, podendo significar possíveis irregularidades, feitas por profissionais de saúde ou por usuários, sendo importante fonte de informação para a vigilância sanitária.

O tratamento destes dados no Laboratório Oficial pode gerar programas, apresentar avaliação para a vigilância sanitária a respeito de um fabricante específico ao longo do tempo, como por exemplo: 23 amostras de

antimoniato de meglunina eram referentes a apenas 3 fabricantes; 197 SPGV eram referentes a 27 produtores diferentes, considerando que no Brasil há 34 empresas produtoras de SPGV. Isto evidencia problemas na qualidade de produtos onde vários lotes de um mesmo produtor foram reprovados no INCQS ou estiveram envolvidos em denúncias de agravo à saúde.

Observa-se que a coleta de amostras por denúncia tornou-se rotina aos órgãos de vigilância sanitária, visto que 68,2% das amostras foram aprovadas, demonstrando que não há investigação do fator gerador da denúncia para eliminar definitivamente as apreensões desnecessárias; ou o laboratório não ser capaz de encontrar o fator gerador.

Quanto ao tempo para a emissão do laudo analítico, foi considerado o período entre a entrada da amostra no INCQS e a emissão do laudo analítico e se pode observar que este quadro é crítico, pois considerando o tempo estabelecido de 90 dias (Art. 23, § 4º, da Lei nº 6437/77) ⁴⁵, findo o qual o produto ora interdito será automaticamente liberado para uso. O que se observa na figura 18 que isto só é conseguido nas amostras aprovadas e está longe de ser alcançado nas amostras reprovadas e canceladas. As amostras reprovadas que oferecem risco ao usuário e são as que apresentam maior demora.

7 – CONCLUSÃO

Baseando-se no levantamento no caderno de registro de entrada de amostras do setor de esterilidade, foi verificado que todas as amostras de medicamentos injetáveis analisadas encontravam-se contempladas no levantamento apresentado no SGA, o que conferiu à validação do sistema, mas em virtude da dificuldade de identificar os medicamentos injetáveis, evidenciou-se a necessidade do preenchimento do campo “Forma Farmacêutica” de todos os produtos cadastrados no SGA.

Foi constatada a representatividade dos medicamentos injetáveis em relação ao total de medicamentos recebidos no INCQS, como também se configurou a predominância destas amostras advindas da demanda espontânea, ou seja, proveniente de denúncias, apreensões não programadas.

Embora a elaboração de programas devesse ser a base da fiscalização, estas amostras advindas da demanda espontânea merecem uma atenção especial, porque evidenciam agravos à saúde causados por um determinado produto, servindo de base para direcionar a ação da vigilância sanitária.

Em relação às modalidades de análise, evidenciou-se o não cumprimento da legislação e da capacidade de produção seguindo as BPF, pois cada modalidade está associada a um momento do ciclo de fabricação.

Quanto a não realização da análise de controle permitiria a entrada de produtos no mercado de qualidade duvidosa. A inexistência da análise prévia corrobora com a questão da concessão do registro ser cartorial, oferecendo risco à população por não avaliar a segurança, eficácia e inocuidade do medicamento.

A execução da análise prévia pelos principais laboratórios que realizam o controle da qualidade de produtos sujeitos à vigilância sanitária, permite o

conhecimento das formulações, apresentações e principalmente a avaliação da metodologia utilizada pelos fabricantes para garantir sua qualidade.

As análises de orientação realizadas em medicamentos injetáveis tornam-se preocupantes quando se constata a reprovação de produtos, pela inexistência desta modalidade de análise na legislação sanitária, sendo necessária a coleta de amostra, sob a modalidade fiscal para que a vigilância sanitária tenha o respaldo legal para a tomada de ação, continuando a população exposta ao risco.

As Visas deveriam ser esclarecidas de que a coleta de amostra única deve ser evitada quando o ensaio de esterilidade for essencial para responder à denúncia, pois como foi mencionado na introdução, a detecção da contaminação está diretamente relacionada ao nível de contaminação e ao número de unidades testadas. Havendo necessidade de confirmação do microrganismo isolado, pois o quantitativo coletado inviabiliza a realização de retestes.

A respeito da quantidade de medicamentos injetáveis submetidos ao ensaio de esterilidade, verificou-se que a sua realização depende da quantidade de amostras enviadas para o laboratório e não da denúncia.

O percentual de amostras aprovadas no ensaio de esterilidade, aponta para a eficiência do processo de esterilização a qual o produto está sendo submetido ou a incapacidade do ensaio em detectar contaminantes devido às limitações que apresenta. Desta forma, dá-se importância ao cumprimento das BPF na produção de produtos estéreis.

Verificou-se a necessidade de maior interface de comunicação com as vigilâncias para minimizar os erros que foram identificados no momento da coleta de amostra e no prazo de cumprimento de exigências, que foi identificado como o principal fator de aumento do prazo para a liberação do laudo analítico.

Quanto ao número de amostras canceladas, verificou-se que deve haver um maior empenho por parte do laboratório oficial em evitar que as amostras se inaptas à avaliação laboratorial através de melhor comunicação com as Visas para completar o ciclo de fiscalização e evitar a dúvida quanto a qualidade destes

produtos. Além do próprio cancelamento equivocado de amostras que deveriam ter sido reprovadas.

Na avaliação final dos laudos analíticos, verificou-se uma queda considerável das amostras reprovadas o que pode indicar uma melhoria do processo produtivo e da eficiência do processo de revalidação anual das Boas Práticas de Fabricação. Também aponta a inexistência de investigação da denúncia no momento da coleta e da abordagem analítica.

Outro ponto que foi observado na análise dos processos é o fato dos termos de apreensão de amostras não apresentarem dados relevantes para condução da análise pelo laboratório analítico, pois inexistem campos referentes a informações da amostra, da denúncia, das condições de armazenamento e etc. justificando o grande percentual de amostra sem motivo de apreensão, sugerindo a necessidade de sua reformulação.

A construção de tabelas, conforme o Anexo D, pelo Laboratório Oficial podem gerar programas para a vigilância sanitária a respeito da prevalência de produtores e produtos, envolvidos em denúncias com agravos à saúde.

A oferta de medicamentos injetáveis seguros depende do sucesso na execução de várias etapas que vão desde o planejamento da formulação, estudos pré-clínicos, concessão do registro, capacidade de produzir, cumprimento das boas práticas de fabricação, monitoramento através de programas de fiscalização, aplicação de normas e leis atualizadas, profissionais capacitados e os laboratórios oficiais devidamente equipados para darem respostas ágeis na avaliação da qualidade.

8 - PERSPECTIVAS

1- Uniformizar os procedimentos de abordagem analítica das amostras com denúncia de maneira a elucidar a investigação sanitária.

2 – Padronizar os procedimentos burocráticos prévios à avaliação analítica de modo a diminuir o prazo de solicitação de informações e colocação em exigência.

3 – Rediscutir o T.A.A. com os laboratórios oficiais, Visas e Anvisa de maneira a poder atender as necessidades específicas de cada esfera no processo investigativo.

4 - Fazer uma avaliação dos motivos de cancelamento já identificados, nos demais anos, para verificação da frequência e proposições de ações.

9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COSTA, E. A.; ROZENFELD, S. Constituição da Vigilância Sanitária no Brasil. In: Rosenfeld, S.,org. **Fundamentos da Vigilância Sanitária**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2000. p. 15-39.
2. BRASIL. Lei nº 8080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições de promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. In: VIGILÂNCIA Sanitária Digital. Versão 5.09. São Paulo: Stahl Informática, jul. 2005. 1 CD-ROM.
3. SILVA, A.C.P. O Laboratório Oficial na Avaliação Analítica. In: Rosenfeld, S.,org. **Fundamentos da Vigilância Sanitária**. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2000. p. 271-301.
4. BUGNO, A. **Esterilidade**: Validação de Metodologia e propostas de Otimização de Resultados. São Paulo: USP, 2001. 161p. il. Tese (Mestrado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo.
5. GUIA de Preparações de administração de medicamentos por via parentérica. Disponível em: <<http://www.injectaveis.com/introducao.html>>. Acesso em: 13 jun. 2005.
6. ANSEL, H. C; POPOVICH, N. G; ALLEN, L.V. **Farmacotécnica**: Formas Farmacêuticas e Sistema de Liberação de Fármacos. São Paulo: Editorial Premier, 2000. p. 317-372.
7. INJECTIONS. In: THE UNITED States Pharmacopoeia. 28 ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 2005. 1 CD-ROM. Cap. 1.
8. AKERS, J.; AGALLOCCO, J. Sterility and Sterility Assurance. **PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, Bethesda, v.51, n.2, 1997. p. 72-77.

9. AVALLONE, H. L. Sterility Retesting. **Journal of Parenteral Science and Technology**, Philadelphia, v.40, n.2, 1986. p.56-57.
10. BOWMAN, F. W. The Sterility Testing of Pharmaceuticals. **Journal of Pharmaceuticals Sciences**, Washington, v. 58, n. 11, 1969. p.1301–1307.
11. EUROPEAN Pharmacopoeia. 3. ed. Strasbourg: Council of Europe. 1997. p. 283-285.
12. EUROPEAN Pharmacopoeia. 4. ed. Strasbourg: Council of Europe. 2002. p. 123-127.
13. SEYFARTH, H. Examination of Pharmaceutical Preparations for Sterility According to the Regulations of the USP XX and the Ph. EUR. (Supplement 1980). **Drugs Made in Germany**, v.26, n.1, 1983. p. 21-29.
14. VAN DOORNE, H.; VAN KAMPEN, B. J.; VAN DER LEE, R. W.; RUMMENIE, L.; VAN DER VEEN, A. J. e DE VRIES, W. J. Industrial Manufacture of Parenteral Products in the Netherlands. A Survey ou Eight Years os Media Fills and Sterility Testing. **PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, Bethesda, v. 52, n. 4, 1988. p. 159-164.
15. THE UNITED States Pharmacopoeia. 24. ed. Rockville, United States Pharmacopeial Convention, 2000. p. 1818-1823.
16. THE UNITED States Pharmacopoeia. 22. ed. Rockville, United States Pharmacopeial Convention, 1990. p. 1483-1488.
17. AKERS, M.J. **Parenteral Quality Control: Sterility, Pyrogen, Particulate, and Package Integrity testing**. 2.ed. ver. aum. New York: Editora DeKker, 1994. p. 1-100.
18. THE UNITED States Pharmacopoeia. 18. ed. Rockville, United States Pharmacopeial Convention, 1970. p. 851-857.

19. THE UNITED States Pharmacopoeia. 19. ed. Rockville, United States Pharmacopeial Convention, 1975. p. 592-595.
20. THE UNITED States Pharmacopoeia. 20. ed. Rockville, United States Pharmacopeial Convention, 1980. p. 878-882.
21. THE UNITED States Pharmacopoeia. 21. ed. Rockville, United States Pharmacopeial Convention, 1985. p. 1156-1160.
22. THE UNITED States Pharmacopoeia. 23. ed. Rockville, United States Pharmacopeial Convention, 1995. p. 1686-1690.
23. THE UNITED States Pharmacopoeia. 27. ed. Rockville, United States Pharmacopeial Convention, 2004. p. 2157-2162.
24. PINTO, T.A. (Coord). **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 325p.
25. FARMACOPÉIA Brasileira. 4. Ed. São Paulo: Atheneu, 1988. Parte I. p. V.5.1.1-V.5.1.1.-6.
26. STERILITY Tests. In: THE UNITED States Pharmacopoeia. 28 ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 2005. 1 CD-ROM. Cap. 71.
27. HOLDOWSKY, S. A new sterility test of antibiotics: An application of the membrane filter technique. **Antibiotics & Chemotherapy**, v.7, n. 2, 1957. p. 49-54.
28. PICKET, M.; LITSKI, W. An effective alternative for testing antibiotics sterility. **Pharm. Technol.**, v.5, n. 5, 1981. p. 63-68.

29. CHRISTIANSON, G.G.; KOSKI, A. A. A comparason of a disposable membrane filtration system with a direst inoculation system for the sterility testing of veterinary biologics. **J. Biological Standarization**, v.11, n. 2, 1983. p. 83-89.
30. BROWN, M.R.; GILBERT, P. Increasing the Probability of Sterility of Medical Products. **Journal of Pharmacology**, London, v.29, 1977. p. 517-523.
31. ABDOU, M. A. F. Comparative Study of Seven Media for Sterility Testing. **Journal of Pharmaceutical Science**, Washington, v.63, n.1, 1974. p.23-26.
32. BRASIL. Leis, decretos, etc. Portaria 500, de 09 de outubro de 1997. Diário Oficial da União, Brasília, n. 197, 13 de outubro de 1997. Seção I, p. 22996-23027. [A Secretaria de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde estabelece regulamento técnico sobre as Soluções Parenterais de Grande Volume – SPGV].
33. MENDES, I. F.; PRAL, E. M. F.; TAKATA, C. S.; RIZZO, E.; SAITO, T. Estudo Comparativo dos Meios de Cultura para Testes de Esterilidade de Produtos Biológicos. **Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo**, São Paulo, v. 21, n. 1, 1985. p. 62-70.
34. ISO 14644-1, Cleanrooms and associated controlled environments: part 1- classification of air cleanliness. Switzerland: ISO, 1999. 16p.
35. MICROBIOLOGICAL Evaluation of Clean Rooms and Other Controlled Environments. In: THE UNITED States Pharmacopoeia. 24. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2000. cap. 1116.
36. TSUKUDA, S. Tecnologia dos Isoladores: Alternativa Vital para os Processos Estéreis. **Revista Controle de Contaminação**, São Paulo: RPA Editorial, fev. 2005. n. 70. 4p.
37. BRASIL. Resolução RDC nº 134, de 13 de julho de 2001. Determina a todos os estabelecimentos fabricantes de medicamentos, o cumprimento das diretrizes estabelecidas no Regulamento Técnico das Boas Práticas de Fabricação de

- Medicamentos. In: VIGILÂNCIA Sanitária Digital. Versão 5.0. São Paulo: Stahl Informática, jul. 2005. 1 CD-ROM.
38. BRASIL. Resolução RDC nº 210, de 04 de agosto de 2003. Estabelece o Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos. In: VIGILÂNCIA Sanitária Digital. Versão 5.0. São Paulo: Stahl Informática, jun. 2005. 1 CD-ROM.
39. BRASIL. Portaria nº 272/MS/SNVS, de 08 de abril de 1998. Aprova o Regulamento Técnico para fixar os requisitos mínimos exigidos para a Terapia de Nutrição Parenteral. In: VIGILÂNCIA Sanitária Digital. Versão 5.0. São Paulo: Stahl Informática, maio. 2005. 1 CD-ROM.
40. COSTA, E. A. Vigilância sanitária, saúde e cidadania. In: **Caderno de Saúde, n. 4.** Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/institucional/snvs/coprh/cad_saude/cad_saude4.pdf. Acesso em: 20 dez. 2005.
41. BRASIL. Decreto nº 79094, de 05 de janeiro de 1977. Regulamenta a Lei nº 6360, de 23 de setembro de 1976, submete a vigilância sanitária os medicamentos, insumos farmacêuticos, drogas, correlatos, cosméticos, produtos de higiene, saneantes e outros. In: VIGILÂNCIA Sanitária Digital. Versão 5.0. São Paulo: Stahl Informática, fev. 2005. 1 CD-ROM.
42. FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **Manual de coleta de amostras de produtos sujeitos à vigilância sanitária.** Rio de Janeiro, 1998. 60p.
43. BRASIL. Lei nº 6360, de 23 de setembro de 1976. Dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos e dá outras providências. In: VIGILÂNCIA Sanitária Digital. Versão 5.0. São Paulo: Stahl Informática, fev. 2005. 1 CD-ROM.

44. LIMA, L. F. M et al. **Vigilância sanitária de medicamentos e correlatos**. Rio de Janeiro: Qualitymark,1993. 383 p.
45. BRASIL. Lei nº 6437, de 20 de agosto de 1977. Configura infrações à legislação sanitária federal, estabelece sanções respectivas, e dá outras providências. In: VIGILÂNCIA Sanitária Digital. Versão 5.0. São Paulo: Stahl Informática, fev. 2005. 1 CD-ROM.
46. BICHO, G.G. (coord.). **Relatório dos dados de atualização dos Lacen**. Brasília: ANVISA, 2003.

ANEXO A

Denúncias das amostras de medicamentos injetáveis submetidos ao ensaio de esterilidade.

Denúncia	1999	2000	2001	2002	Total
Choque pirogênico	1	2	11	53	67
Não apresenta o motivo de Apreensão	2	19	20	11	52
Programa	1	3	9	27	40
Depósito sugestivo de crescimento microbiano	2	8	7	3	20
Suspeita de causar reações adversas	2	0	4	13	19
Desvio da Qualidade	1	5	3	1	10
Suspeita de Ineficácia Terapêutica	5	4	0	0	9
Suspeita de óbitos	2	1	2	2	7
Alteração de cor	0	2	0	2	4
Presença de corpo estranho	2	0	0	1	3
Suspeita de causar meningite	2	0	0	0	2
Ulceração da córnea e perda total da visão	0	0	0	2	2
Parada cardiorespiratória	0	0	0	2	2
Cristalização do produto em uma das ampolas	1	0	0	0	1
Saco plástico externo embaçado	1	0	0	0	1
Cianose perioral	0	1	0	0	1
Hiperemia	0	0	1	0	1
Surto de Infecção Hospitalar	0	0	1	0	1
Biscoito roído dentro da caixa	0	0	1	0	1
Solicitação da ANVISA	0	0	1	0	1
Reação alérgica	0	0	0	1	1
Líquido extravasa pelo lacre	0	0	0	1	1
Total	22	45	60	119	246

ANEXO B

Motivos de cancelamento das amostras de medicamentos injetáveis no período de 1999 a 2002

Motivos de Cancelamento	Quantidade
Quantidade insuficiente	15
Não tem metodologia analítica específica e validada	13
Não ter SQR	11
Empresa interdita	11
Mistura de lotes	5
Validade expirada	4
Sem termo de apreensão da amostra	3
Lote já analisado	2
Invólucro violado	3
Lote com registros diferentes	3
Amostra quebrada	3
Número expressivo de amostras p/serem analisadas	3
Amostra armazenada fora das condições ideais no local de coleta	3
Lote colhido difere do T.A.A	2
Produto sem registro no M.S.	1
Não ter reagente	1

ANEXO C

Requerentes das Análises de Medicamentos Injetáveis

Requerentes	1999	2000	2001	2002	Total
Coord. de Acompanhamento Farmacêutico - MS	0	0	02	0	02
FUNASA – Vitória	0	02	0	0	02
Fundação Nacional de Brasília	01	0	01	0	02
Hospital Universitário Pedro Ernesto	0	0	0	02	02
Lacen – AP	02	0	01	0	03
Lacen – CE	02	17	07	0	26
Lacen – DF	0	0	06	10	16
Lacen – ES	04	0	03	0	07
Lacen - GO	14	12	13	15	54
Lacen – MA	0	0	0	01	01
Lacen – MG	11	02	04	06	23
Lacen – MS	0	0	0	05	05
Lacen – MT	01	0	0	0	01
Lacen – PR	01	06	05	02	14
Lacen – RN	0	03	0	0	03
Lacen – RR	01	0	0	01	02
Lacen – RS	02	03	07	37	49
Lacen – SP	0	08	31	03	42
Lacen – BA	02	0	04	15	21
Lacen – PA	02	0	01	01	04
Lacen – PE	0	08	0	05	13
Lacen - RJ	2	0	04	0	06
Prefeitura Municipal de Sorocaba	01	0	0	0	01
Secret. Estadual de Saúde – PE	12	0	0	0	12
Secret. Estadual de Saúde – SC	07	11	01	12	31
Secret. Municipal de Saúde de Vitória	03	0	0	0	03
Secretaria Estadua de Saúde – MS	0	03	0	0	03
Secretaria Estadual de Saúde – AC	0	0	0	01	01
Secretaria Estadual de Saúde – AM	0	1	01	0	02
Secretaria Estadual de Saúde – AM	0	0	0	03	03
Secretaria Estadual de Saúde – CE	0	0	0	35	35
Secretaria Estadual de Saúde - DF	01	0	01	0	02
Secretaria Estadual de Saúde – MA	0	03	0	0	03
Secretaria Estadual de Saúde - PB	0	01	0	0	01
Secretaria Estadual de Saúde – PI	01	0	0	0	01
Secretaria Estadual de Saúde – RJ	03	06	18	08	35

Secretaria Estadual de Saúde - RN	0	0	0	04	04
Secretaria Estadual de Saúde - RS	0	0	04	0	04
Secretaria Estadual de Saúde – SP	0	0	03	02	05
Secretaria Estadual de Saúde - PR	0	0	02	01	03
Secretaria Municipal – RJ	0	0	10	02	12
Secretaria Municipal de Saúde – Curitiba	0	02	0	0	02
Secretaria Municipal de Saúde – Londrina	0	0	0	1	01
Secretaria Municipal de Saúde – Lorena	0	0	01	0	01
Secretaria Municipal de Saúde – MT	0	0	02	0	02
UFRJ – Instituto de Neurologia Deoli	01	0	0	0	01

ANEXO D

Relação dos medicamentos / classe advindos da demanda espontânea

Medicamentos / classe	1999	2000	2001	2002	Total
Adesivos Transdérmicos	2	0	0	0	2
Adrenalina (hormônio)	2	0	0	0	2
Aminofilina (broncodilatador)	1	0	0	0	1
Amplopec	0	0	0	1	1
Analgésico	0	1	1	1	3
Anestésico	6	7	1	7	21
Antibiótico	9	12	5	15	41
Antimoniato de meglumina (antileishmaníase)	5	9	11	0	25
Antineoplásico	11	1	1	0	13
Antiinflamatório	4	1	3	2	10
Aredia (anti-osteolítico)	1	0	0	0	1
Celotrex	0	0	0	1	1
Clorpromazina (neuroléptico)	1	0	0	0	1
Depo-provera (corticoesteróide)	0	0	1	0	1
Dexavision (colírio)	0	0	0	3	3
Diazepan (ansiolítico)	1	0	2	0	3
Dicloridrato de quinina	1	0	0	0	1
Dipirona (analgésico)	1	0	3	1	5
Dobtan (cardiotônico)	0	2	1	0	3
Dopamina	0	1	0	0	1
Entamolin	2	0	0	0	2
Furosemida (diurético)	0	1	0	1	2
Gluconato de cálcio	2	0	0	0	2
Haloperidol (neuroléptico)	1	0	0	0	1
Hemissiccinato de hidrocortizona (corticóide)	2	0	1	0	3
Heparina sódica (anticoagulante)	1	4	1	3	9
Hioscina (antipasmódico)	1	0	1	0	2
Insulina (hormônio)	0	2	1	0	3
Interferon (hormônio)	1	0	6	0	7
Isetionato de pentamidina	0	0	0	1	1
Metoclopramida (antiemético)	1	0	2	0	3
Metronidazol (anti-helmíntico)	1	0	0	0	1
Nausicalm (anticinetótico)	0	1	0	0	1
Nitroprussiato de sódio (vasodilatador)	1	0	0	0	1
Norditropin (hormônio do crescimento)	0	1	0	0	1
Noripurum (antianêmico)	0	0	0	8	8

Nutrição parenteral	0	0	15	0	15
Ocitocina	0	0	0	3	3
Procpen	0	0	0	1	1
Ranitidina	0	1	0	0	1
Respitrat	1	0	0	0	1
SPGV	12	35	62	90	199
Sulfato de magnésio	1	0	0	0	1
Sulfato de morfina	0	0	0	1	1
Syntocinon (hormônio)	0	0	0	2	2
Tinax (eritropoetina)	1	2	1	2	6
Vitamina K	0	1	0	0	1
