



AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE PARTÍCULAS VIÁVEIS EM ÁREAS LIMPAS NO SETOR PRODUTIVO DE UMA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA CEARENSE

Wgerlys Filho Alencar Maia^{1*}

Resumo: A indústria farmacêutica enfrenta vários desafios diariamente, um deles se trata do controle microbiológico em suas instalações, e uma área em que atualmente a grande foco de atenção é a ventilação de áreas limpas, fornecendo dados acerca do impacto em que os sistemas de ar que englobam as áreas limpas da indústria podem ter no quesito microbiológico e assim realizar contagem de partículas viáveis por meio de método analítico *Spread Plate* e análises físicas visuais dos filtros usados nas áreas limpas de linhas de produção de um setor produtivo de soluções parenterais. Não foi observado a presença de partículas viáveis em nenhuma das amostragens feitas nas áreas de grau A contempladas no estudo e nenhum comprometimento físico visível que afetasse e a utilização plena da área com segurança. Não foi detectado nenhum resultado que fugisse das especificações vigentes para as amostras e filtros do estudo pondo os mesmo em total conformidade para operação e atestando sua segurança e eficiência.

Palavras-chave: Microbiologia. Área limpa. Indústria farmacêutica. Grau A. Sistemas de ventilação.

MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF VIABLE PARTICLES IN CLEAN AREAS IN THE PRODUCTIVE SECTOR OF A PHARMACEUTICAL INDUSTRY IN CEARENS

Abstract: The pharmaceutical industry faces several challenges daily, one of which is microbiological control in its facilities, and one area in which currently the great focus of attention is the ventilation of clean areas, providing data on the impact on which air systems encompassing clean areas of industry can have microbiological item and thus perform viable particle count by means of *Spread Plate* analytical method and visual physical analyses of filters used in clean areas of production lines of a productive sector of parenting solutions. The presence of viable particles in any of the samples made in the grade A areas contemplated in the study was not observed and no visible physical impairment that affected and the full use of the area safely. No results that were escaped from the current specifications for the samples and filters of the study were detected by putting them in full compliance for operation and attesting to their safety and efficiency.

Keywords: Microbiology. Clean area. Pharmaceutical industry. Grade A. Ventilation systems.

1. Graduado em Farmácia, Faculdade de Medicina de Juazeiro do Norte (FMJ)

*Autor correspondente: wgerlysmaia@gmail.com

Recebido: 12/05/2019; Aceito: 18/07/2020.

Introdução

A mudança climática enfrentada atualmente, é diferente do que era vivenciada há décadas, esta nova situação é um desafio que se enfrenta todos os dias pela indústria farmacêutica que tenta de todos os meios manter, por exemplo, as áreas limpas de preparação de medicamentos (RAMAN, et al., 2017; WHYTE, et al., 2015).

Estas diferentes condições proporcionam muitas vezes o ambiente ideal para proliferação microbiana em áreas limpas, nas quais equipamentos, insumos, pessoal e afins devem ser mantidos o mais higienizado possível, já que, irremediavelmente o ser humano carrega carga microbiana consigo (EISSA, et al., 2016; GORMLEY, 2016).

Pessoas que passam parte do seu tempo em ambientes internos estão sujeitas a uma comunidade microbiana que é específica destas áreas, o microbioma *indoor* desta maneira é necessário haver cuidado a profissionais para que se adequem as conformidades exigidas para esta nestas áreas específicas. Como a maioria destes ambientes internos é emparelhada ao ambiente externo por algum tipo de ventilação, as áreas limpas devem ter padrão mantidos e também é imprescindível o constante monitoramento destas áreas habitadas por humanos e irrevogavelmente por microrganismos (HARP, 2018; MORA, et al., 2016).

Desse modo qualquer pessoa que está relacionada ao processo de fabricação de medicamentos deve ter a responsabilidade de assegurar a qualidade do produto que está sendo produzida, para isto a indústria farmacêutica valida e desenvolve métodos para que o ciclo de produção sempre esteja em manutenção e em evolução não apenas no seu produto final, mas durante toda a trajetória de processo industrial (DEIF, 2017; SHINTANI, 2015).

Neste contexto é indispensável atuar de maneira integral na prevenção e bloqueio de entrada de microrganismo no ambiente estéril da indústria farmacêutica, pois dados epidemiológicos mostram que, em alguns casos, os microrganismos adquirem resistência no ambiente mesmo este sendo higienizado constantemente como as áreas limpas de preparação (WANG, et al., 2016; WHYTE, et al., 2015).

Um dos meios de manter estes ambientes com a menor carga microbiana possível instituída pela Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) foi a implementação de filtros em saídas e entradas de ar que conectam estas áreas a ambientes microbiologicamente comprometidos. Estas barreiras físico-químicas devem ser avaliadas constantemente pelos controles de qualidade respectivos da indústria para garantir seu pleno funcionamento

(MINISTÉRIO DA SAÚDE 1998).

Estes filtros devem ser higienizados e isentos de qualquer tipo de partícula que ofereça risco para as pessoas que fazem uso do sistema nos ambientes em que o mesmo é direcionado e os insumos que também estão acondicionados nestes locais, além da limpeza os filtros devem oferecer proteção física e microbiológica para o ambiente da área limpa na indústria farmacêutica já que, o seu não uso pode levar ao comprometimento de todo o ambiente no qual ele estaria inserido (EISSA, 2016; LIU, et al., 2017).

A contaminação microbiana na produção de medicamentos tornou-se um ponto crítico nos últimos anos, desde a aquisição do insumo até seu preparo e envase deve-se passar por várias etapas de controle de qualidade, para assegurar que não haja tais contaminações, e assim, um dos principais desafios enfrentados pela indústria farmacêutica são as fontes aerotransportadas que funcionam como vetor para propagação microbiológica, e que se encontrarem em situações favoráveis para o processo, oferecem um grande risco de contaminação microbiana e assim colocam-se em risco de maneira direta os que se encontram em tais ambientes e indiretamente por meio do consumo do medicamento (WHYTE, et al., 2015; BUHL, et al., 2016).

Assim uma das atribuições de manutenção em que o controle de qualidade microbiológico está inserido é a de monitoramento do microbioma em que seus colaboradores e insumos estão inseridos, pois até a saúde de uma pessoa influencia o ambiente em que ela se encontra, além dos próprios riscos de comprometimento de ambiente, uma pessoa sozinha pode trazer microrganismos prejudiciais e até patológicos para as áreas limpas onde ele estará desempenhando seu trabalho laboral (EISSA, 2016; FERNÁNDEZ, et al., 2015).

Vale salientar que estas alterações do microbioma são incomuns de ocorrerem nestes tipos de ambientes, pois devem ter o mínimo de carga microbiana possível não patológica, estes mesmos afetam as pessoas que estão transitando nestes ambientes aumentando assim a capacidade de determinados microrganismos se proliferarem exponencialmente por falta de incumbência nos sistemas de ventilação e o não cumprimento do manual de boas práticas de fabricação (BUHL, et al., 2016; WANG, et al., 2016).

O problema de pesquisa visa analisar a influência do vortex produzido pelos sistemas de ventilação das áreas limpas e a presença de microrganismos patogênicos nas mesmas e também os possíveis impactos destes para a saúde humana.

Material e Métodos

Descrição

O trabalho tem abordagem qualitativa por meio de inspeção visual nos filtros, quantitativa e descritiva abordando os parâmetros de especificações microbiológicos impostos pela legislação vigente baseado em evidências obtidas por meio de testes de amostragem do ambiente em estudo conforme metodologia descrita e preconizada pela RDC 17/2010 e Farmacopeia Brasileira (2010). Trata-se uma checagem de condição ambiental em que leva em consideração a amostragem passiva da área considerando em seus resultados partículas viáveis.

Local de estudo

O estudo ocorreu em uma indústria farmacêutica de grande porte produtora de medicamentos parenterais em embalagens plásticas e vidros. Por estar em um local fora do perímetro urbano a mesma está muito suscetível aos impactos de pestes, insetos e animais o que põe uma maior ênfase na rigorosidade microbiológica que se deve ter em todo o perímetro industrial já que estes são grandes vetores para propagação de cepas de microrganismos.

Segundo as Boas Práticas de Fabricação (BPF), deve haver um constante monitoramento para o controle de carga microbiana em áreas de grau A todos os dias, estas áreas são classificadas de acordo com o tipo de atividade que a mesma irá comportar no dia a dia do ciclo produtivo de medicamentos (ANVISA, 2010).

Este monitoramento é feito pelo controle microbiológico nos procedimentos para controle ambiental da área, pois o objeto de estudo é a carga de partícula viáveis que esta área possa ou não ter.

Amostragem

A coleta das amostras foi feita por colocação de placas de petri (coleta passiva) no ambiente por 4 horas para após análise microbiológica, segundo o procedimento operacional padrão (POP) CQM 020 W da própria indústria, com os dados obtidos é feita uma compilação e comparação com as especificações que a empresa utiliza segundo o POP citado anteriormente.

São dispostas placas de Petri Ágar TSA para amostragem, as mesmas são distribuídas em posicionamentos pré-definidos em procedimento operacional padrão (POP) na área em que se realiza a coleta, estas áreas sendo classificadas como grau A no contexto de controle

microbiológico e o local sendo uma área limpa de um setor produtivo de soluções parenterais de pequeno volume. Após a exposição das placas por no máximo 4 horas, as mesmas coletam as partículas presentes no ambiente para que em laboratório sejam feitos os procedimentos de análises, estas coletas ocorrem em todo turno de trabalho no setor todos os dias, onde na empresa de estudo há três: 1º turno (06:00 as 14:20), 2º turno (14:20 as 22:30 e 3º turno (22:30 as 06:00), estes totalizando 24 horas de duração, em um período de 6 dias de coleta contínua em todos os turnos.

Análise microbiológica

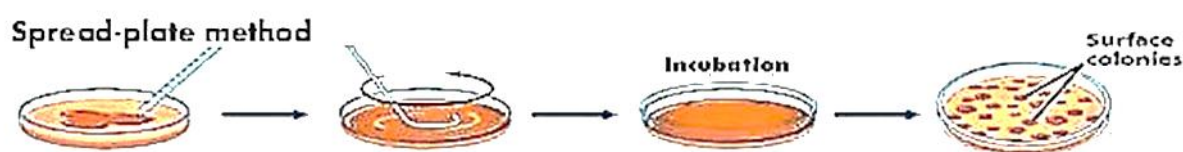
Todas as técnicas de análise das amostras são realizadas em capela de fluxo laminar com os devidos cuidados de higienização e assepsia para que as amostras não sofram interferências de falsos resultados positivos ou negativos.

Após a coleta das amostras as mesmas são condicionadas e armazenadas em câmara fria com um tempo máximo de espera de uma hora para assim que possível ser feita sua análise seguindo para incubação de 5 dias, 3 dias em câmara com temperatura baixa para proporcionar um ambiente favorável para crescimento fúngico e 2 dias em câmara com temperatura quente para também ter um ambiente favorável para crescimento de bactérias.

Contagem de Microrganismos Viáveis

Teste realizado, através da contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) por plaqueamento, as placas que foram utilizadas na amostragem fizeram o uso do método *spread plate*, para todas as amostras coletadas seguindo a metodologia apresentada na Figura 1.

Figura 1. Procedimento *Spread Plate* passo a passo



Fonte: Paramedics World Website (2019)

A contagem e procedimento de demais análises segue as instruções do POP CQM 020 W feito pelo controle microbiológico da empresa, para assim checar com maior especificidade se de fato os dados coletados para estudo estão de fato em conformidade com as especificações da empresa que usa como base o regulamento da ABNT NBR ISO 14644, RDC 17/2010, Farmacopeia Brasileira 5º edição e o guia da qualidade para sistemas de tratamento de ar e monitoramento ambiental na indústria farmacêutica.

Análise dos dados

Os dados são compilados em tabela com resultados retirados do relatório de controle microbiológico realizado durante o período de julho de 2019 nas áreas limpas do setor produtivo de medicamentos parenterais, este relatório sendo de análise quantitativa de partículas viáveis.

Resultados e Discussão

Ao término do período de incubação de 5 dias as placas foram analisadas e diante dos resultados obtidos e exemplificados na Tabela 2 não se constatou nenhum resultado que fugisse da especificação requerida segundo o procedimento N° CQM 020 W que usa como referência para os testes analíticos de desenvolvimento local, farmacopeia 5ª edição, RDC 17/2010 e o Guia de qualidade para sistemas de tratamento de ar e monitoramento ambiental na indústria farmacêutica.

Tabela 2: Monitoramento ambiental de partículas viáveis de grau A.

Setor de soluções parenterais de pequeno volume (SPPV)						
Área de estudo (VIDRO 03)						
ARV 0513 - Sala de envase sob fluxo laminar (UFC/m³)				SP 0512 - Sala de envase sob fluxo laminar (UFC/m³)		
Data	1º Turno	2º Turno	3º Turno	1º Turno	2º Turno	3º Turno
01/07/19	<1	<1	<1	<1	<1	<1
02/07/19	<1	<1	<1	<1	<1	<1
03/07/19	<1	<1	<1	<1	<1	<1
04/07/19	<1	<1	<1	<1	<1	<1

05/07/19	<1	<1	<1	<1	<1	<1
06/07/19	<1	<1	<1	<1	<1	<1

Fonte: (Próprio autor 2019)

Em uma área limpa usualmente a carga microbiana é bastante reduzida, isto dificulta a obtenção de dados estatísticos e expressões quantitativas significativas maiores por serem ambientes já propensos a um quantitativo mínimo, por isto com as especificações de controle ambiental de áreas grau A possuindo bastante rigorosidade quaisquer resultados quantitativos significativos já é um acusador para desvios de qualidade na área em questão segundo Moura (2016). Esta situação deve ser considerada no desenvolvimento estrutural da área que irá compor o determinado processo necessitante deste tipo de rigorosidade, a área de estudo foi projetada visando este desempenho no impedimento de propagação de carga microbiana, aliado a isto também há o fluxo máximo determinado de pessoal na área proporcionando assim antecipadamente melhores condições para contenções de possíveis desvios ou inconformidades para com o quesito microbiológico aos quais as áreas devem ter segundo as instruções normativas vigentes (EISSA, 2016; LIU, et al., 2017).

Levando em consideração os dados resgatados foi possível constatar uma total conformidade em relação a especificação de análise para a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) da área de estudo amostrada, porém, diferentemente de Abreu (2003) o estudo se deu em um ambiente com um fluxo de pessoal maior e em uma área mal projetada para as operações destinadas, isto pode ter sido o diferencial entre os dados obtidos no estudo citado e este terem resultados diferentes. Como abordado anteriormente o fluxo de pessoal e área física são de suma importância para o setor ter as condições mínimas de operação para que seu produto resultante esteja conforme com as especificações vigentes que exigem um limite máximo aceitável de UFC.

Além dos resultados obtidos por meio das análises microbiológicas foi feito uma avaliação física visual a qual não foi observado qualquer irregularidade ou inconformidades macroscópicas nos filtros ARV 0513 e SP 0512 que englobam as áreas limpas do vidro 03 do setor soluções parenterais de pequeno volume - SPPV.

No quesito de avaliação física e de desempenho dos filtros existe uma empresa terceirizada que realiza este serviço, e quando determinado filtro não possui um desempenho aceitável é feito a troca do mesmo e testado este novo no ambiente para que se possa atesta que de fato a operação

a qual ele fora destinado está sendo desempenhada.

Conclusão

De acordo com todos os testes realizados em sua totalidade não foi detectada nenhuma anormalidade, desvio de qualidade e ou resultados fora do limite de especificação segundo os procedimentos pertinentes, diante disto é seguro afirmar que o contexto microbiológico das áreas que necessitam dos filtros de ar que integraram este estudo estão em total conformidade e evidenciam um controle microbiológico eficaz possibilitando o pleno funcionamento de suas operações.

Recomenda-se mesmo com os resultados satisfatórios o uso de uma maior quantidade de pré-filtros antes do filtro HEPA (*High Efficiency Particulate Air*), filtro este, responsável pela ventilação e higienização da área grau A do presente estudo, estes pré-filtros adicionais melhorariam o tempo de vida do filtro principal pois reteriam maior número de partículas com tamanho elevado que iriam normalmente para o filtro principal e o inviabilizariam mais rápido que o normal, isto é recomendado pois mesmo com as boas condições visíveis dos filtros há um tráfego de pessoal considerável na área em questão e mesmo sendo bem restrito isso intensifica a propagação de partículas e aumenta o possível risco de comprometimento da área.

Referências

ABREU, C. et al. Áreas limpas: estudo de correlação entre partículas viáveis e não viáveis. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, n. 2, p.177-184, 2003.

ALMEIDA, R.M. **Farmacopeia**. [S.I.], 2010. Disponível em: <<http://www.netwise.com.br/lagoadaptata/robson/curiosidade.html>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

AQUINO, V. A tecnologia dos filtros para salas limpas. **Revista Meio Filtrante**, n. 41, 2009.

ARDUTEC. **Áreas limpas e controladas**. São Paulo, 2009. Disponível em: <<http://www.ardutec.com.br/Telas/areas.html#>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

BUHL, S. et al. Multiple factors influencing OR ventilation system effectiveness. **Current Directions in Biomedical Engineering**, v. 2, n. 1, p. 333-335, 2016.

DEIF. Study on sources and effect of microbial contamination on stability of certain non-sterile preserved oral pharmaceutical products. **B.Sc. Pharmaceutical sciences, Faculty of Pharmacy**,

Cairo University, 2017. Disponível em: <<http://erepository.cu.edu.eg/index.php/cutheses/article/view/7391>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

DESHMUKH, A. **Aseptic process simulation: an assessment of aseptic processing capability**. 2018. Disponível em: <http://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:uCIMgfsaoWYJ:scholar.google.com/+DESHMUKH,+Aaishwarya.+Aseptic+process+simulation:+an+assessment+of+aseptic+processing+capability&hl=pt-BR&as_sdt=0,5>. Acesso em: 10 jan. 2019.

EISSA, M. E. Novel rapid method in ecological risk assessment of air-borne bacteria in pharmaceutical facility. **Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 43, n. 3, p. 115-126, 2016.

EISSA, M.; MAHMOUD, A.; NOUBY, A. Evaluation and failure risk of microbiological air quality in production area of pharmaceutical plant. **RGUHS Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 5, p. 155-166, 2016.

EUSEBIO, L. et al. Assessment of the indoor odour impact in a naturally ventilated room. **Sensors**, v. 17, n. 4, p. 778, 2017.

GORMLEY. Assessment of the Environmental and Economic Impact of Air Changes in a Hospital Operating Room. **Faculty of the Graduate School of Vanderbilt University**, 2016. Disponível em: <<https://etd.library.vanderbilt.edu/available/etd-11102016-154455/unrestricted/Gormley.pdf>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

HARP, John H. A Clinical Test to Measure Airborne Microbial Contamination on the Sterile Field During Total Joint Replacement: Method, Reference Values, and Pilot Study. **JB&JS Open Access**, v. 3, n. 3, 2018.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Diretoria Colegiada. Instrução Normativa - **IN nº 35, de 21 de agosto de 2019**. Disponível em: <<http://www.in.gov.br/en/web/dou/-/instrucao-normativa-in-n-35-de-21-de-agosto-de-2019-211914062>>. Acesso em: 10 jan. 2019.

KOCHANSKI, S. et al. Avaliação das condições microbiológicas de uma unidade de alimentação e nutrição Evaluation of microbiology conditions in a food and nutrition unit. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 20, n. 4, p. 663-668, 2010.

KRIPPNER, E. Classificação de áreas limpas. **Revista SBCC**, n. 36, 2008.

KRIPPNER, E. Classificação de áreas limpas. **Revista SBCC**, v. 44, 2010.

LIU, G. et al. A review of air filtration technologies for sustainable and healthy building ventilation. **Sustainable Cities and Society**, v. 32, p. 375-396, 2017.

MIRHOSEINI, S. H. et al. Monitoring of airborne bacteria and aerosols in different wards of hospitals - Particle counting usefulness in investigation of airborne bacteria. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine**, v. 22, n. 4, 2015.

MORA, M. et al. Microorganisms in confined habitats: microbial monitoring and control of intensive care units, operating rooms, cleanrooms and the International Space Station. **Frontiers in Microbiology**, v. 7, p. 1573, 2016.

PARAMEDICS WORLD WEBSITE. **Spread Plate Culture Technique for the Isolation of Microorganism / Bacteria in Pure Culture**. Disponível em: <<https://paramedicsworld.com/microbiology-practicals/spread-plate-culture-method-isolation-bacteria-microorganism-pure-culture/medical-paramedical-studynotes>>. Acesso em: 10 jul. 2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria GM/MS nº. 3.523, de 28 de agosto de 1998. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/1998/prt3523_28_08_1998.html>. Acesso em: 10 jan. 2019.

RAHMAN, S. M. et al. Fuzzy logic-based improved ventilation system for the pharmaceutical industry. **International Journal of Engineering & Technology**, v. 7, n. 2, p. 640-645, 2018.

RAMAN, B.; MORRISSEY, H.; BALL, P. Pharmaceuticals in the tropics: A quantitative study measuring changes in quantity of the active ingredient and microbiological growth. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v.7, n. 9, 2017.

REDMOND, R. W.; KOCHEVAR, I. E. Spatially resolved cellular responses to singlet oxygen. **Photochemistry and Photobiology**. v. 82, n. 5, p. 1178-1187, 2006.

Resolução RE nº. 9, de 16 de janeiro de 2003. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/RE_09_2003.pdf/f4af80d4-8516-4f9c-a745-cc8b4dc15727>. Acesso em: 10 jan. 2019.

ROSSO-FERNÁNDEZ, C. et al. Safety and efficacy of colistin versus meropenem in the empirical treatment of ventilator-associated pneumonia as part of a macro-project funded by the Seventh Framework Program of the European Commission studying off-patent antibiotics: study protocol for a randomized controlled trial. **Trials**, v. 16, n. 1, p. 102, 2015.

SHINTANI, H. Validation study on how to avoid microbial contamination during pharmaceutical production. **Biocontrol Science**, v. 20, n. 1, 2015.

WANG, S. et al. Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of Escherichia coli causing bloodstream infections in three hospitals in Shanghai, China. **PloSone**, v. 11, n. 1, p. e0147740, 2016.

WHYTE, W.; EATON, T. Assessment of degree of risk from sources of microbial contamination in cleanrooms; 1: Airborne. **European Journal of Parenteral and Pharmaceutical Sciences**, v. 20, n. 2, p. 52-62, 2015.

■