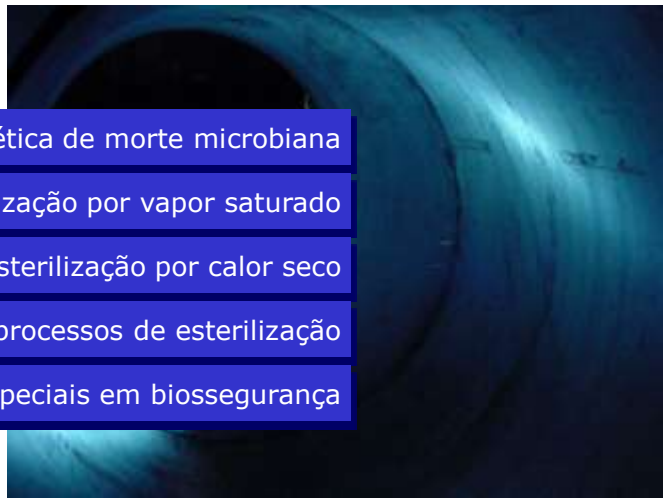
BAUMER

Aspectos relacionados a aplicação do calor à esterilização, a despirogenização e a Biossegurança

Eng° Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

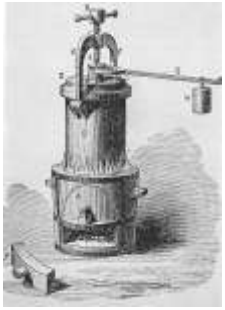
Tópicos a serem apresentados



- Cinética de morte microbiana
- Esterilização por vapor saturado
- Esterilização por calor seco
- Validação de processos de esterilização
- Tópicos especiais em biossegurança

BAUMER

Evolução do processo



1° DIGESTOR DE DENYS PAPIN - 1680

1° AUTOCLAVE - 1880 CHARLES CHAMBERLAND

AUTOCLAVE DIGITAL BAUMER - 2007

Eng° Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

O que é esterilização ?

Definição adotado pela **Farmacopeia Brasileira**:

"Método, sem prejuízo finalidade, mover ou destruir todas as formas de vida animal ou vegetal, microscópicas ou microscópicas, saprófitas ou não, presentes no produto considerado, sem garantir inativação completa de todas as formas celulares."

Eng° Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

O que é esterilização ?

Pela NBR-ISO17665-1:2010

“3.51. Esterilização: Processo validado usado para deixar um produto livre de microorganismos viáveis.”

5

BAUMER

Esterilização mal sucedida ?

o Luqueta

BAUMER

O que é esterilização ?

Conceito Mecanístico – Sterile Assurance Level

Processo pelo qual os microorganismos são inviabilizados a tal ponto que não seja mais possível detectá-los no meio de cultura padrão no qual previamente haviam proliferado. Convencionalmente considera-se um artigo estéril quando a probabilidade de sobrevivência dos microorganismos é menor do que 1:1.000.000 (10-6) (SAL - Bruch & Bruch).

Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Variáveis para escolha do processo

Material a ser esterilizado

Agente esterilizante compatível

Microorganismo alvo

Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Agentes esterilizantes

- Vapor Saturado
- Óxido de Etileno
- Formoldeído
- Plasma de peróxido
- Calor Seco - Estufas
- Processos químicos
- Raios ionizantes

Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Por que a escolha pelo calor?

- Processo seguro e eficaz
- Fácil de validar
- Rápido
- Ecologicamente correto
- Não deixa resíduos perigosos

10

Teorias dos mecanismos de ação

BAUMER

Mecanística

Destruição dos centros de controle - Matemática

Estequiométrica

Alterações quantitativas nas substâncias essenciais

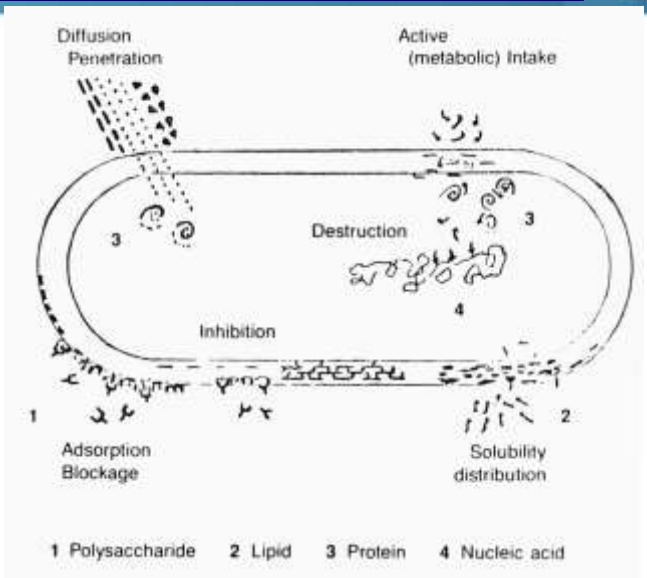
Vitalística

Intervenção localizada do processo metabólico

Engº Gerson Roberto Luqueta

Mecanismos de ação

BAUMER



Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Variáveis para escolha do processo

Material a ser esterilizado

Agente esterilizante compatível

Microorganismo alvo

Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Métodos de Esterilização

Esterilização por Sobre-morte (Overkill)

Probabilidade de Sobrevivência (biocarga)

Probabilidade de Sobrevivência (combinado)

Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Sobre-morte (Overkill)

- Materiais não degradáveis ao agente esterilizante
- Super exposição do material
- Método seguro – primeira escolha
- Duas abordagens: ciclo completo e parcial
- Bioburden somente para abordagem parcial
- Letalidade alta e excedente

Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Inativação com base na Biocarga

- Materiais facilmente degradáveis ao agente esterilizante
- Limiares de sub e sobre-processamento
- Conserva o produto – menor energia
- Requer monitoramento contínuo
- Requer controle sobre a biocarga
- Letalidade controlada por incremento

Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Combinado biocarga / indicador biológico

- Materiais Relativamente degradáveis ao agente esterilizante
- Baseado em um desafio microbiológico
- Requer inoculação e estudo de penetração
- Combina os dados do bioindicador com o Bioburden
- Maior desafio na validação x economia no processo
- Letalidade controlada

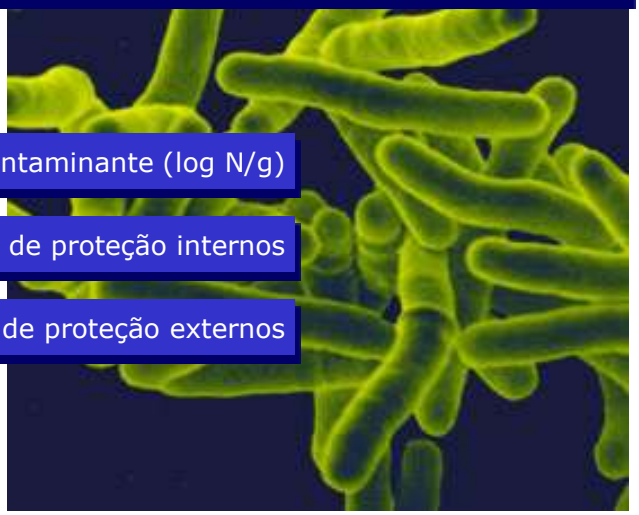
BAUMER

Estudo de Letalidade de Processo

- Estudo da resistência do bioindicador ao AE
- Determinação da temperatura de Esterilização
- Determinação do tempo de Esterilização

BAUMER

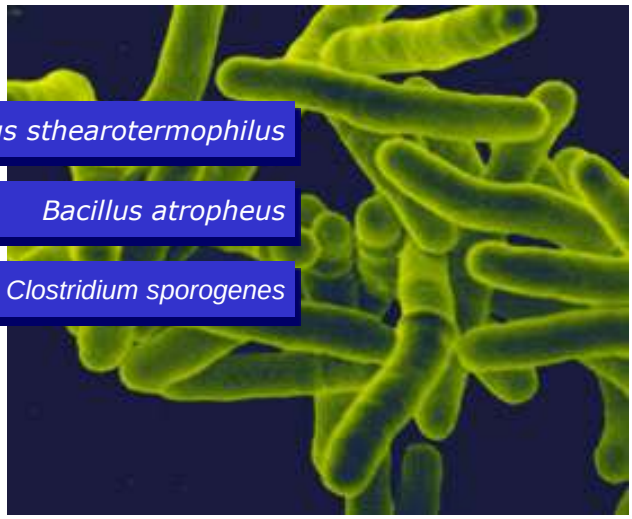
Fatores de resistência ao agente esterilizante



- Biomassa do contaminante (log N/g)
- Fatores de proteção internos
- Fatores de proteção externos

BAUMER

Um MO para cada agente esterilizante

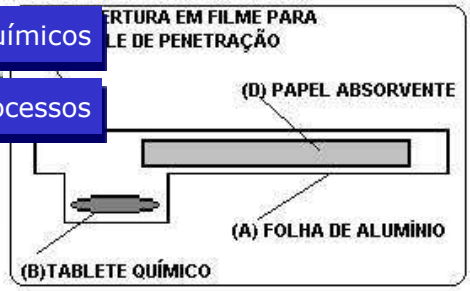


- *Geobacillus sthearotermophilus*
- *Bacillus atropheus*
- *Clostridium sporogenes*

BAUMER

Indicadores químicos e bioindicadores

- Bioindicadores auto-contidos
- Bioindicadores em fitas
- Integradores químicos
- Indicadores de processos



Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Microorganismos Emergentes

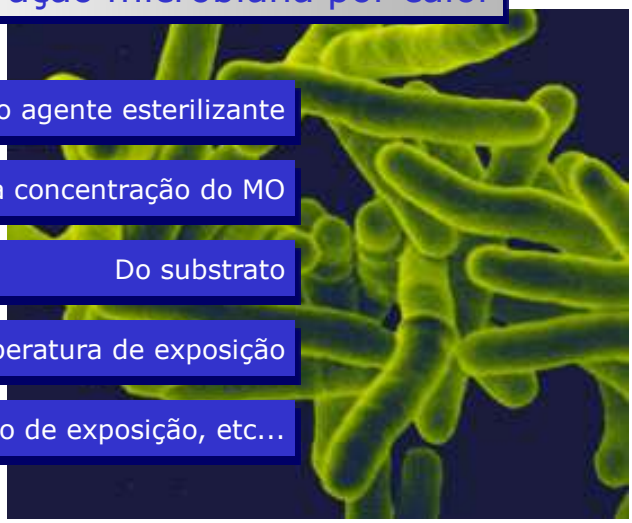
- *Bacillus sporothermodurans*
- Prions (GM ?)

Fonte:merriam-webster.com

Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Inativação microbiana por calor



- Depende do agente esterilizante
- Da concentração do MO
- Do substrato
- Da temperatura de exposição
- Do tempo de exposição, etc...

Engº Gerson Roberto Luqueta

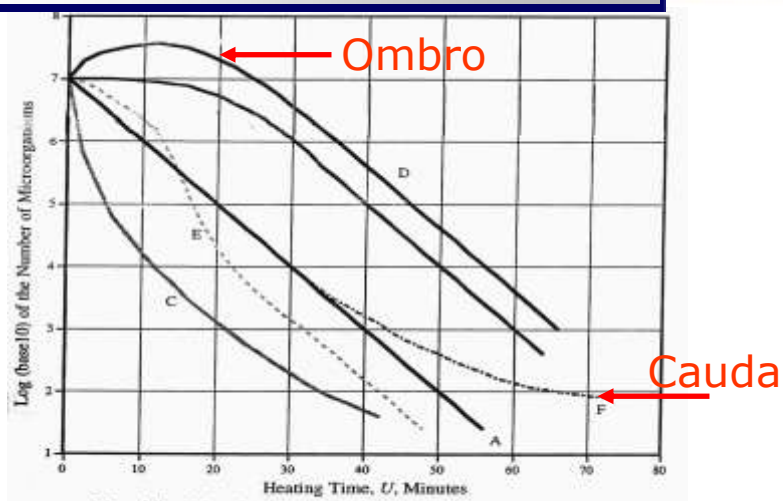
BAUMER

Inativaçao térmica - modelo matemático

- Modelos lineares
- Modelos não lineares

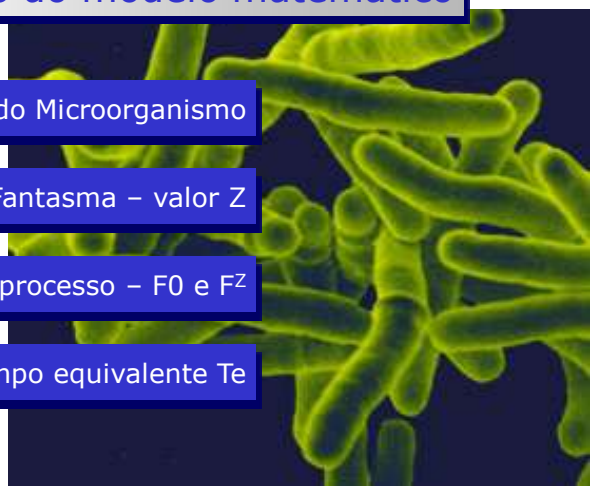
Engº Gerson Roberto Luqueta

Modelos matemáticos



2.9: Microbial semilogarithmic survivor curves may be straight lines through the Initial-Number point (line A), concave downward (line B), concave upward (line C), activation effect (line D), sigmoid (line E) and straight line with a tail (F).

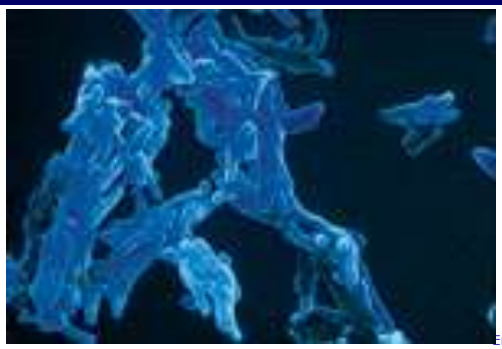
Desenvolvimento do modelo matemático



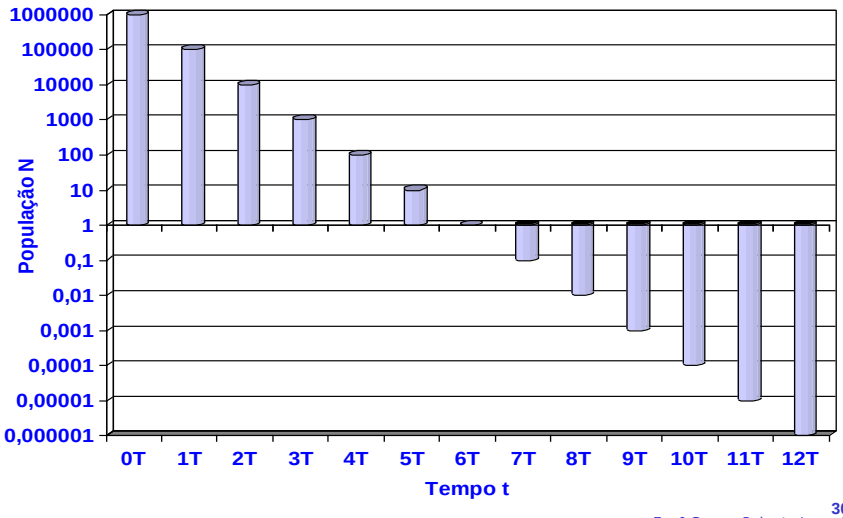
- Valores D_T do Microorganismo
- Curva Fantasma – valor Z
- Letalidade de processo – F0 e F^Z
- Tempo equivalente Te

Valor D

Definição: Tempo, em minutos, para reduzir a população de MO em 10 vezes a uma determinada temperatura.

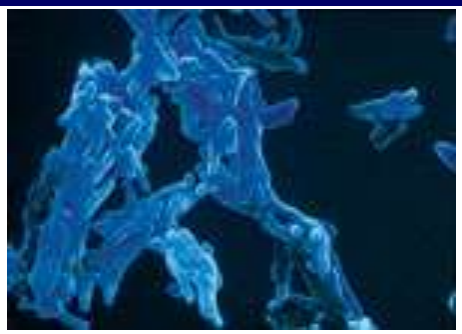


Variação do valor D



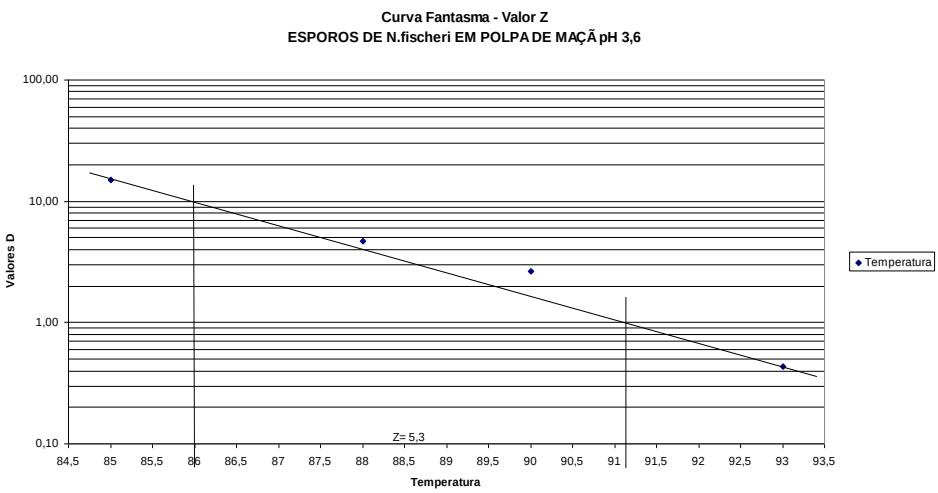
Valor Z

Definição: Temperatura, em graus Celcius, para reduzir a população de MO em 10 vezes.



Engº Gerson Roberto Luqueta

Gráfico do valor Z



Engº Gerson Roberto Luqueta

Letalidade de Processo

BAUMER

Valor F – Tempo mínimo de processo

$$F = D \times (\log N_0 - \log N)$$

Exemplo:

$$D_{121} = 1{,}5$$

$$N_0 = 10^6$$

$$N = 10^{-6}$$

$$F = 1{,}5 \times (\log 10^6 - \log 10^{-6}) = 1{,}5 \times 12 = 18\,\text{min}$$

Engº Gerson Roberto Luqueta

Letalidade de Processo

BAUMER

Valor Fz – letalidade

$$F_t^z = \int_0^t 10^{\frac{(T - Tref)}{Z}} dt$$

Valor F0 – letalidade equivalente a 121°C

$$F0 = \int_0^t 10^{\frac{(T - 121{,}1)}{10}} dt$$

Engº Gerson Roberto Luqueta

Letalidade de Processo

BAUMER

Exemplo tempo equivalente

$$F_t^z = 10^{\frac{T-121,1}{10}}$$

$$F = 18\,\min(121C)$$

$$F_{134}^z = 10^{\frac{(134-121,1)}{10}} = 19,5\,\min$$

$$Te = \frac{F}{F_{134}} = \frac{18}{19,5} \cong 1\,\min$$

Engº Gerson Roberto Luqueta

Letalidade de Processo

BAUMER

Letalidades equivalentes

118°C	2 MINUTOS
121°C	1 MINUTO
124°C	0,5 MINUTOS

Pequenas variações de temperatura demandam variações consideráveis de tempo de exposição para manter a letalidade do processo !

Engº Gerson Roberto Luqueta

Letalidade de Processo

BAUMER

Problema proposto: Qual o MO mais resistente ao AE?

Geobacillus sthearotermophilus :
1) $N=4,9.10^5$, D_{121}= 1,6 min e Z=10
2) $N=1,6.10^6$, D_{121}= 1,5 min e Z=10

$$Caso1:$$

$$T_{min} = [\log(4,9.10^5) - \log(1.10^{-6})].1,6 = [5,7-(-6)].1,6 = 18,7\,\text{min}$$

$$Caso2:$$

$$T_{min} = [\log(1.10^6) - \log(1.10^{-6})].1,5 = [6-(-6)].1,5 = 18\,\text{min}$$

Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Letalidade – esterilização de Prions

Departament of Health and Social Security (DHSS) – 18 logs

DHSS 1984 – 18 minutos a 134°C ±4°C

The American Neurological Association (ANA) – 50 logs

ANA (1986) - 60 minutos a 132°C

São considerados Valores Z=10 e F0 de 200 e 600

Engº Gerson Roberto Luqueta

Matemática, palestrando baixinho...

BAUMER

BAUMER

Esterilização a vapor

- Método eficaz
- Método rápido
- Melhor relação custo / Benefício
- Validação / Monitoração
- Baixo impacto ambiental

BAUMER

Esterilização a vapor

- Presença de Vapor Saturado Seco
- Tempo de Exposição
- Temperatura de esterilização

BAUMER

Agente esterilizante – Vapor Saturado

- Forma Gasosa
- Sujeito à lei dos gases ideais
- O título do vapor é importante

BAUMER

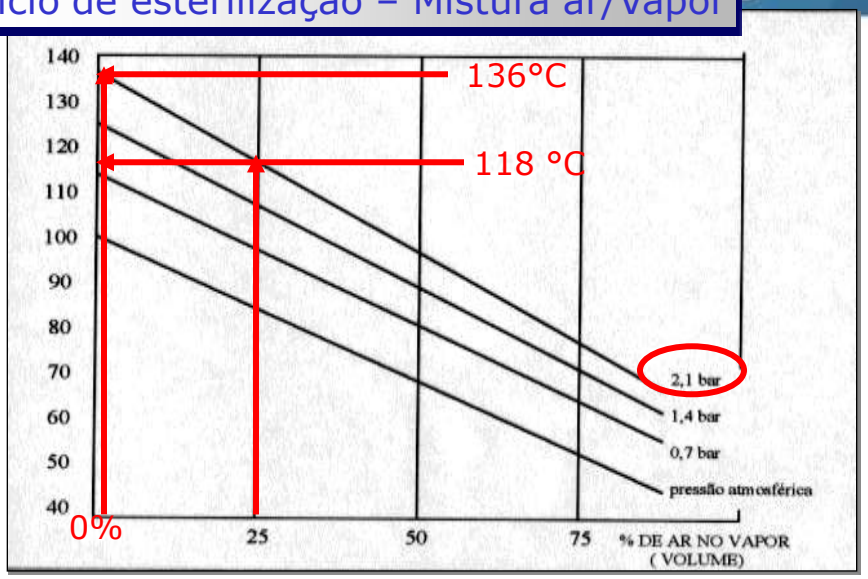
Ciclo de esterilização

- *Condicionamento (remoção de ar / umidificação)*
- *Obtenção da temperatura e pressão*
- *Tempo de Exposição*
- *Exaustão / Secagem*
- *Aeração*

Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Ciclo de esterilização – Mistura ar/Vapor



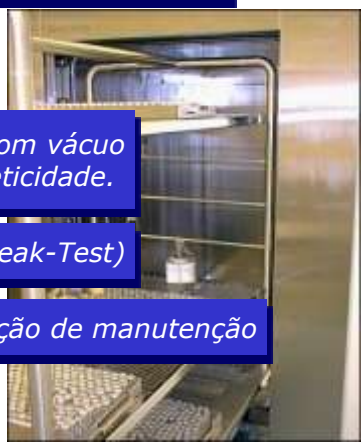
Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Teste Bowie & Dick – Mistura ar/Vapor

BAUMER

Controle periódico de hermeticidade

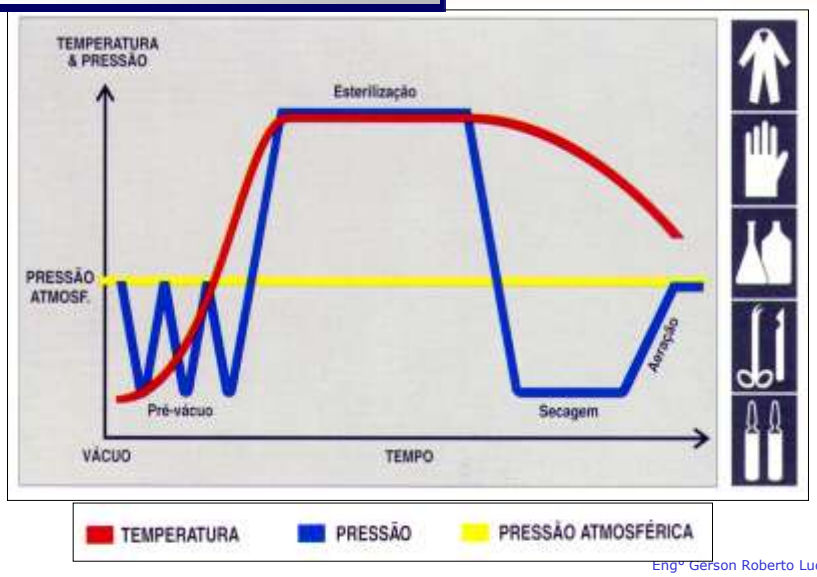


A RDC-17 determina que ciclos com vácuo devem ter controle periódico de hermeticidade.

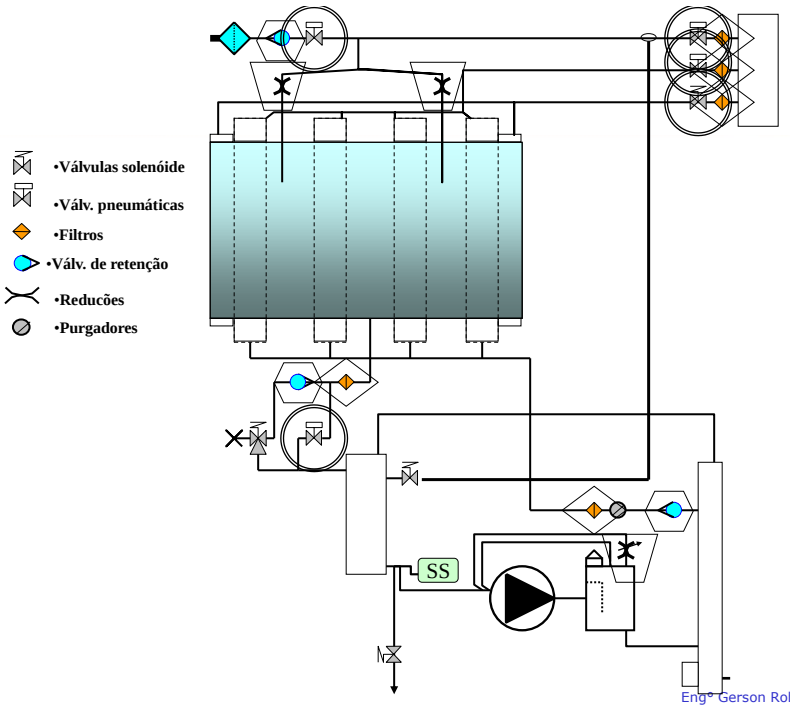
Este ciclo é fixo conforme EN-286 (Leak-Test)

Falhas no Leak-Test requerem intervenção de manutenção

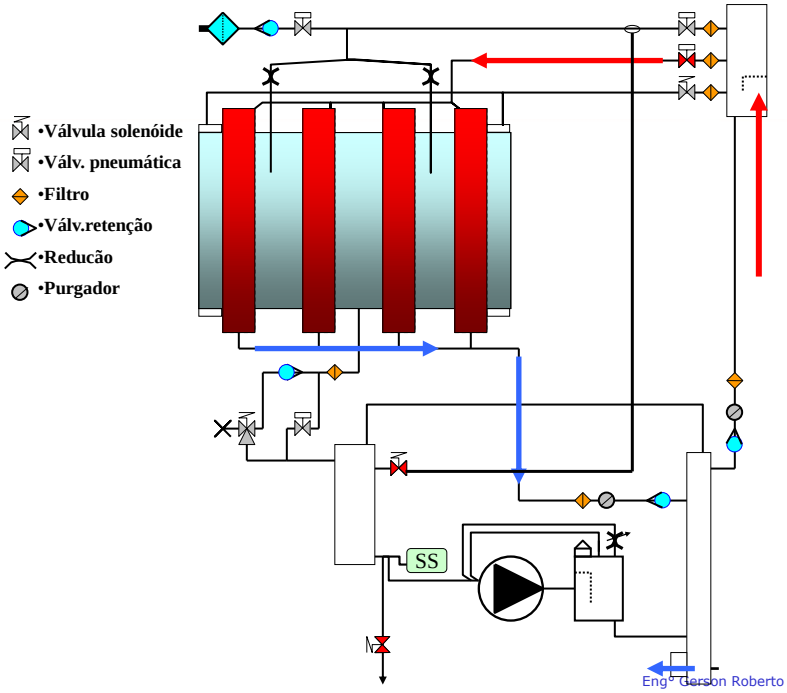
Ciclo de esterilização

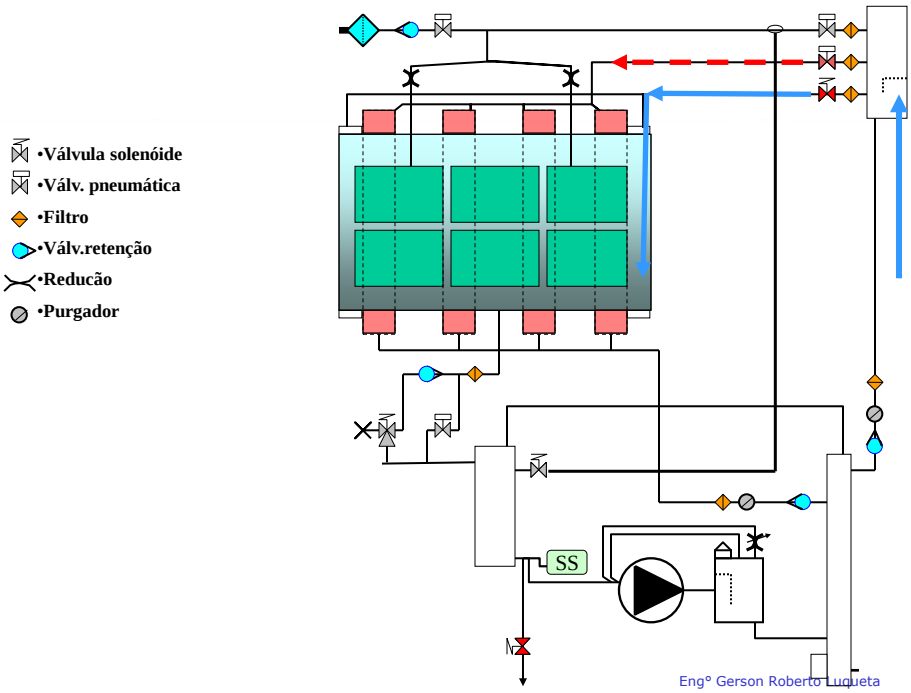


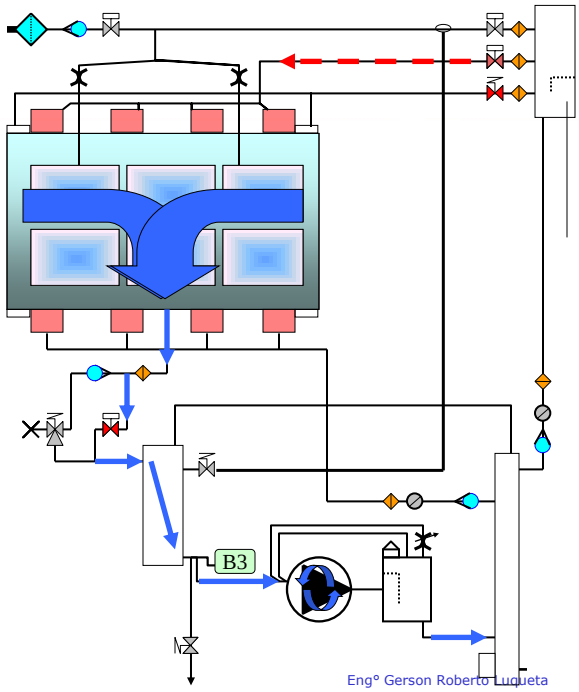
Engº Gerson Roberto Luqueta



Engº Gerson Roberto Luqueta

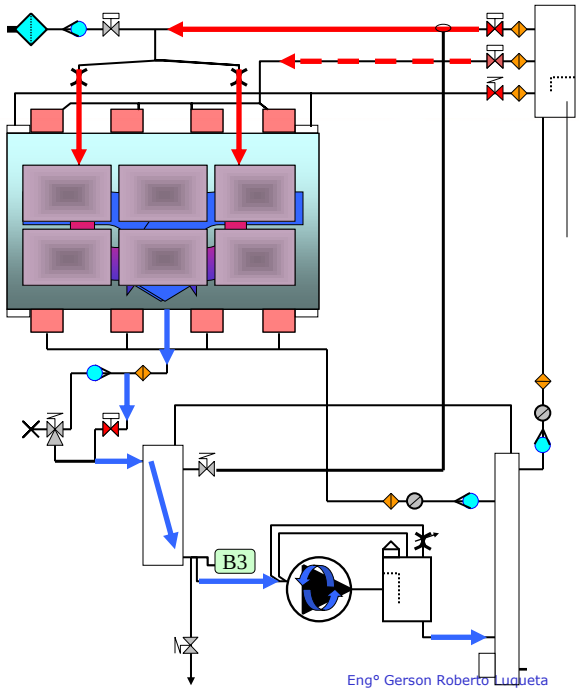

•Válvula solenóide
•Válv. pneumática
•Filtro
•Válv.retenção
•Reducão
•Purgador
SS
Engº Gerson Roberto Luqueta


•Válvula solenóide
•Válv. pneumática
•Filtro
•Válv.retenção
•Reducão
•Purgador
SS
Engº Gerson Roberto Luqueta

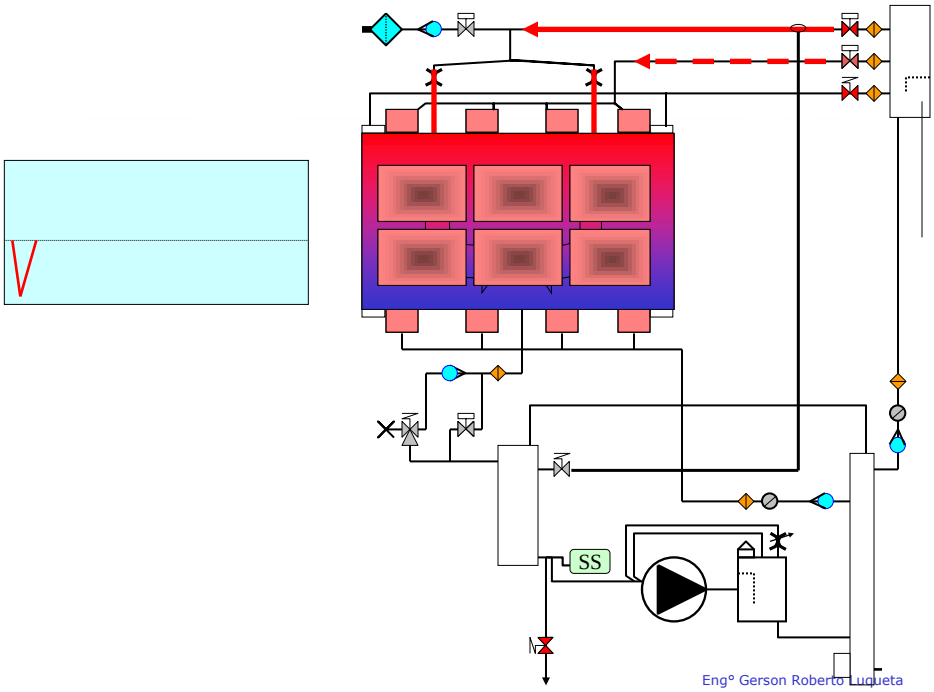


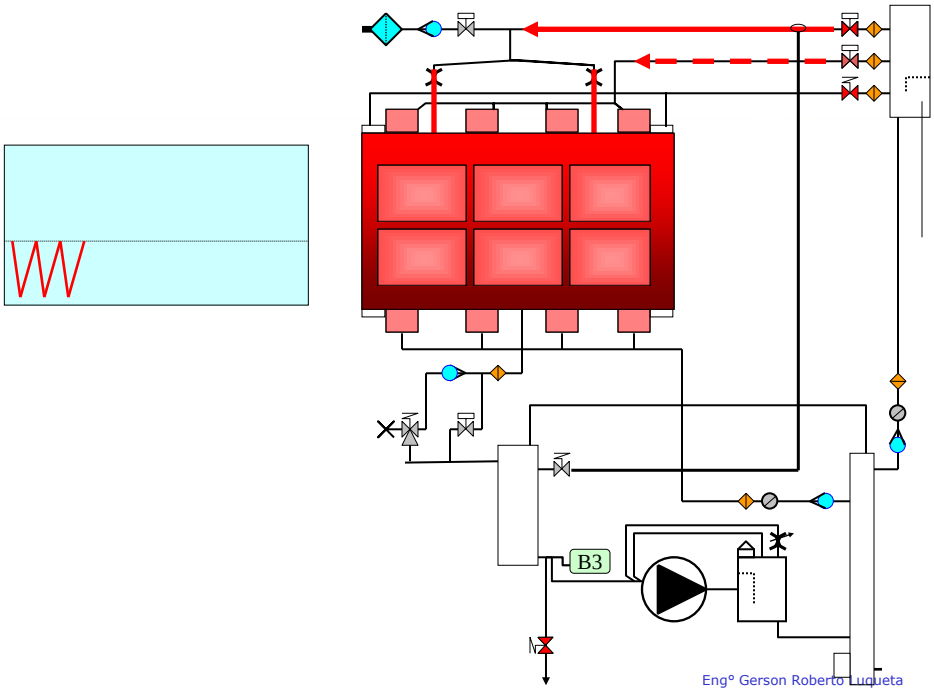
50

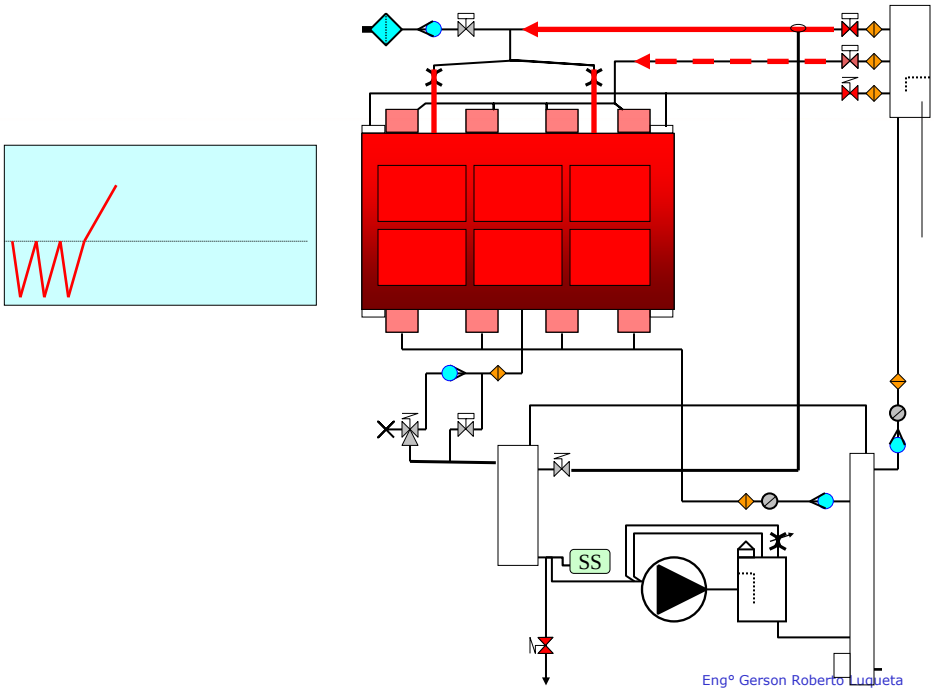
Engº Gerson Roberto Luqueta

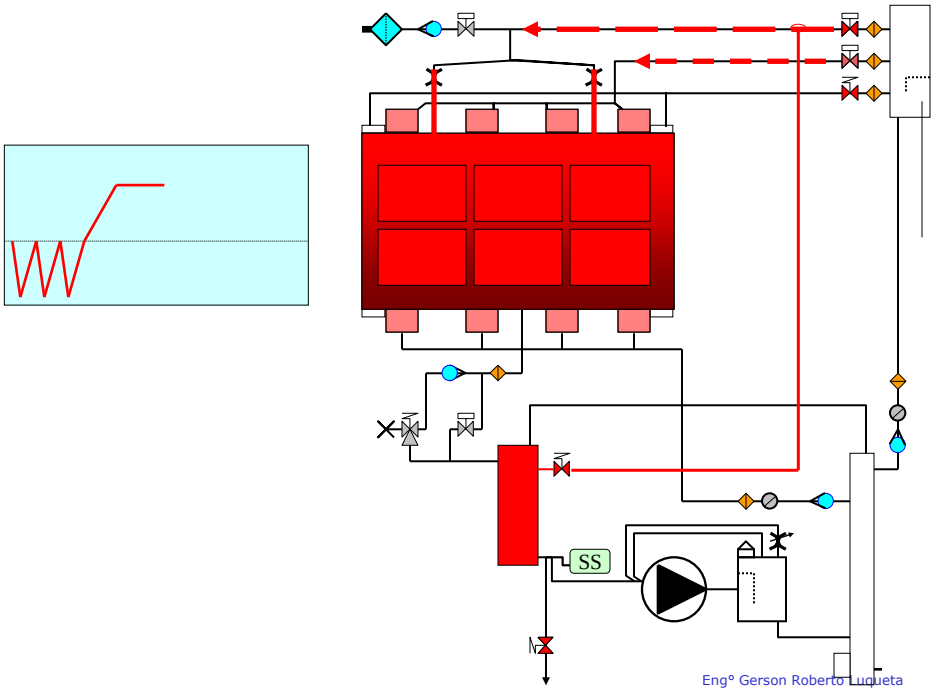


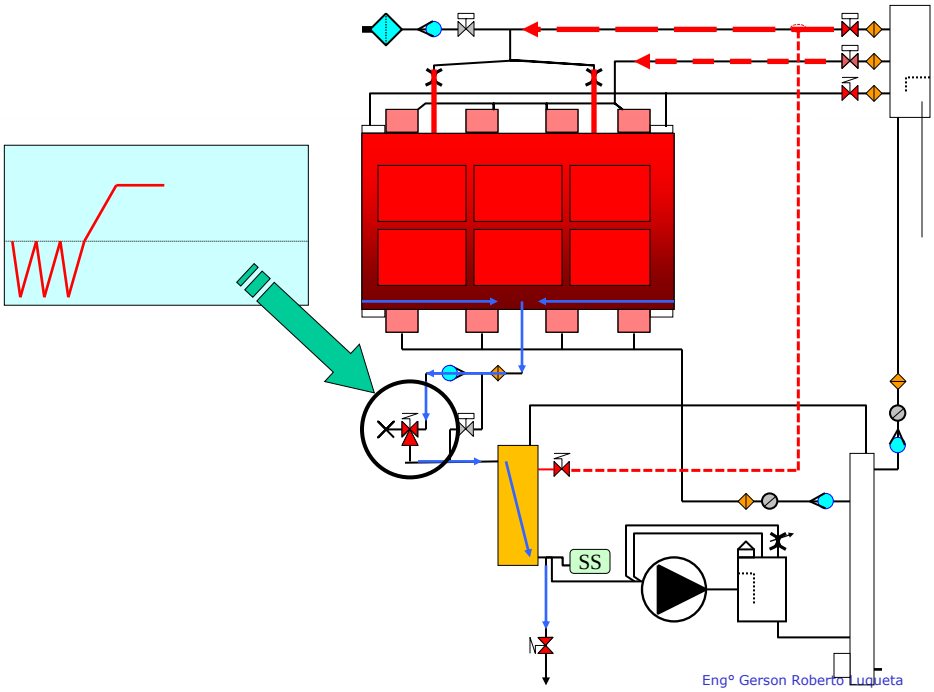
Engº Gerson Roberto Luqueta

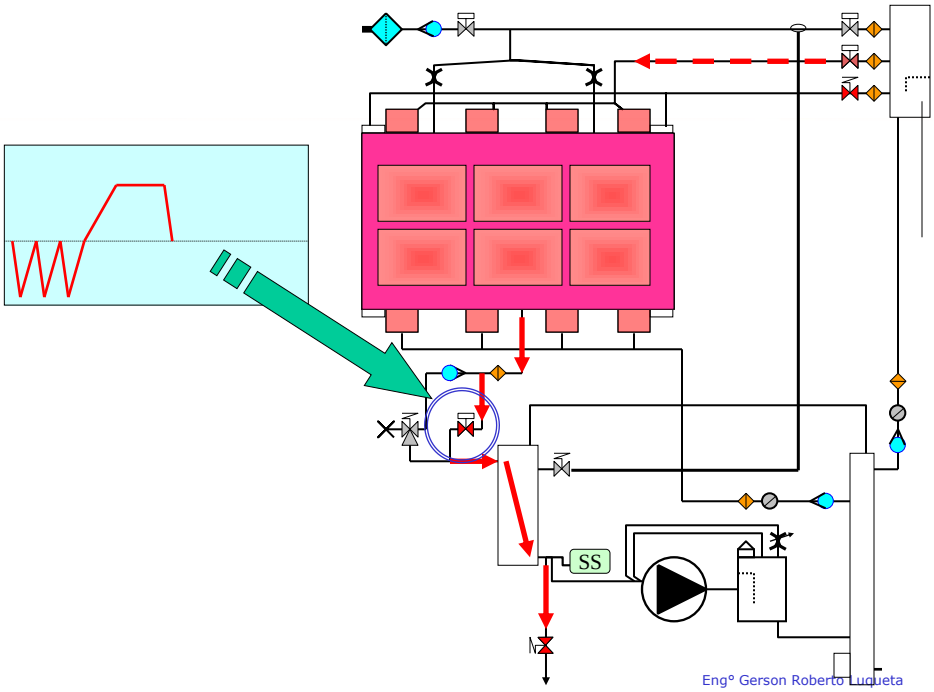

SS
Engº Gerson Roberto Luqueta

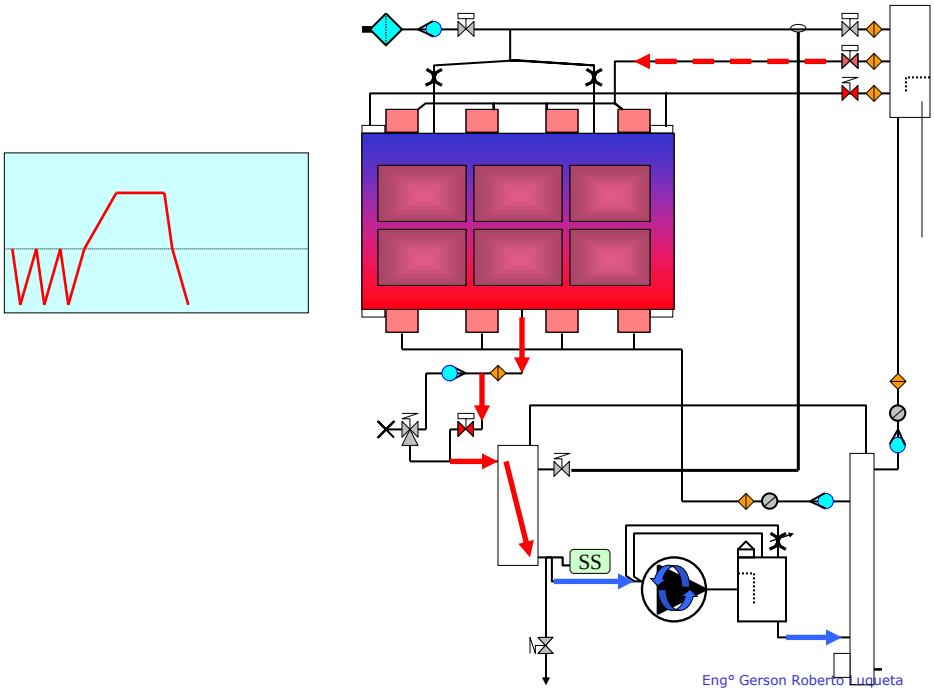

B3
Engº Gerson Roberto Luqueta

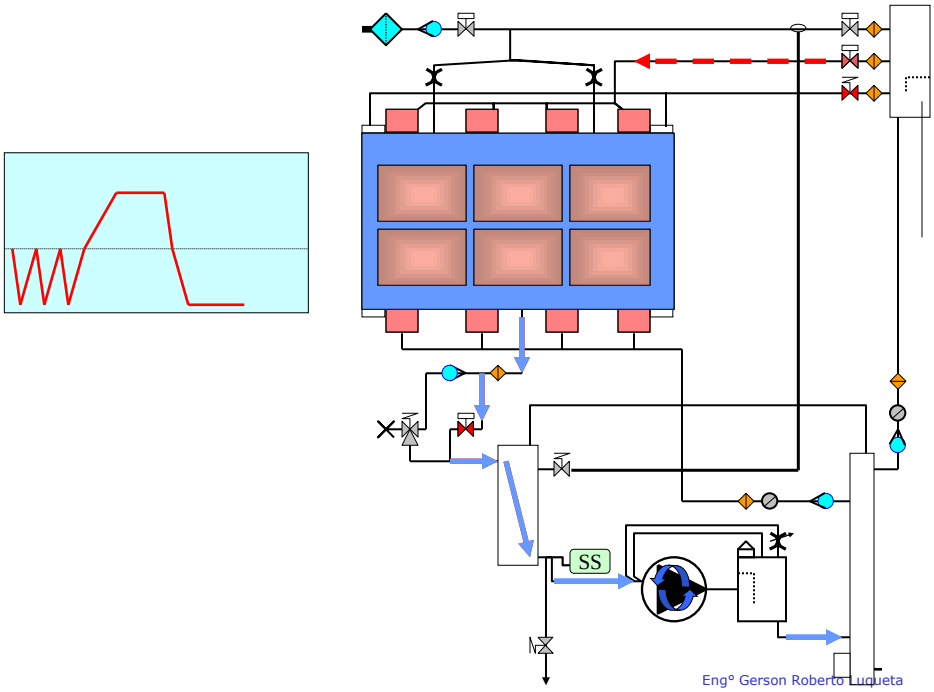

SS
Engº Gerson Roberto Luqueta

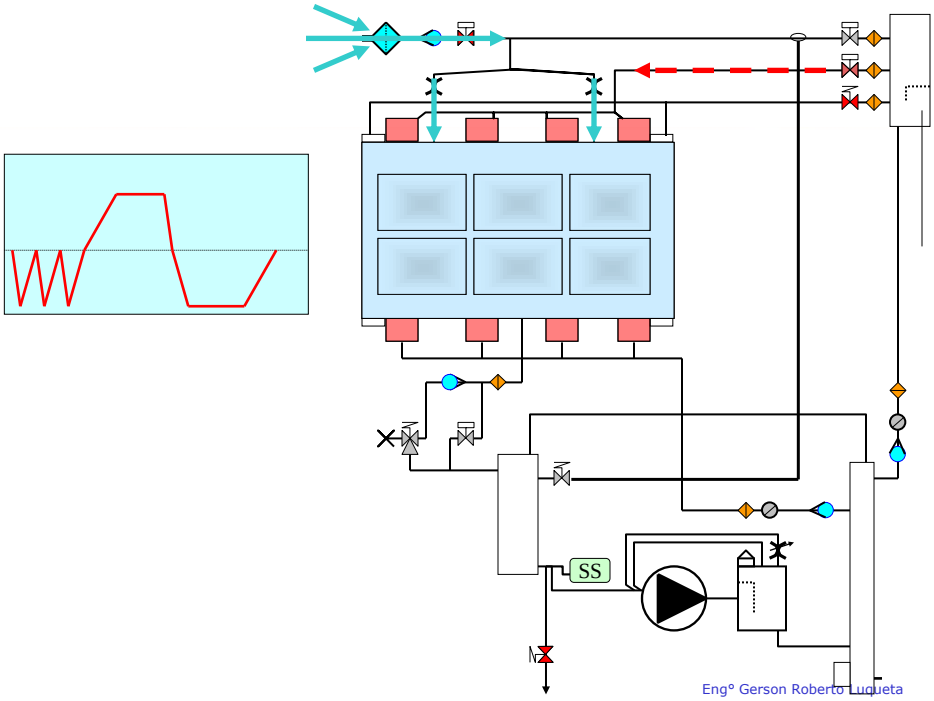

SS
Engº Gerson Roberto Luqueta

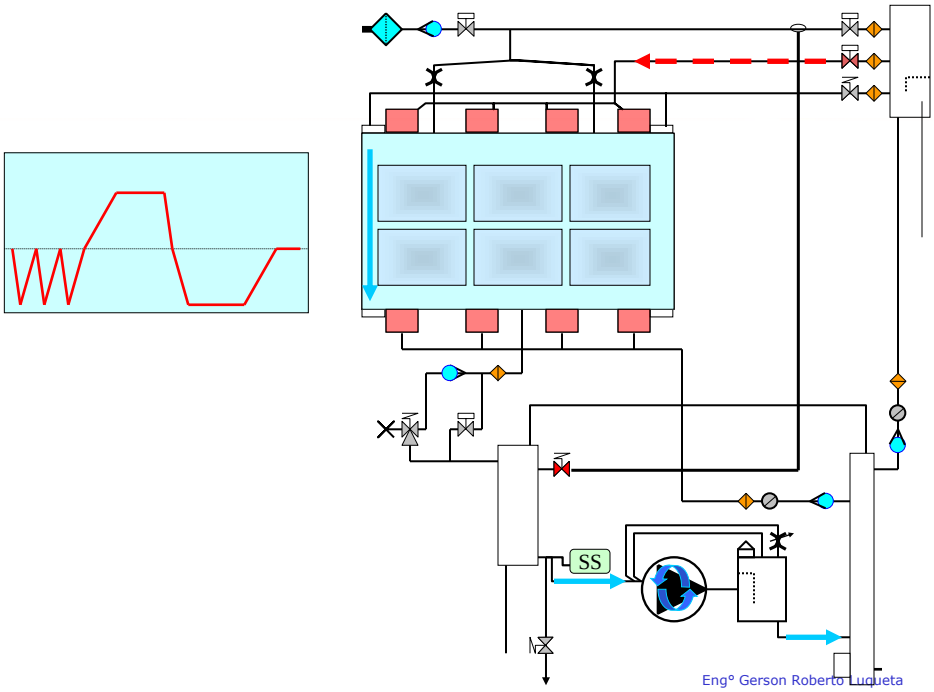

SS
Engº Gerson Roberto Luqueta

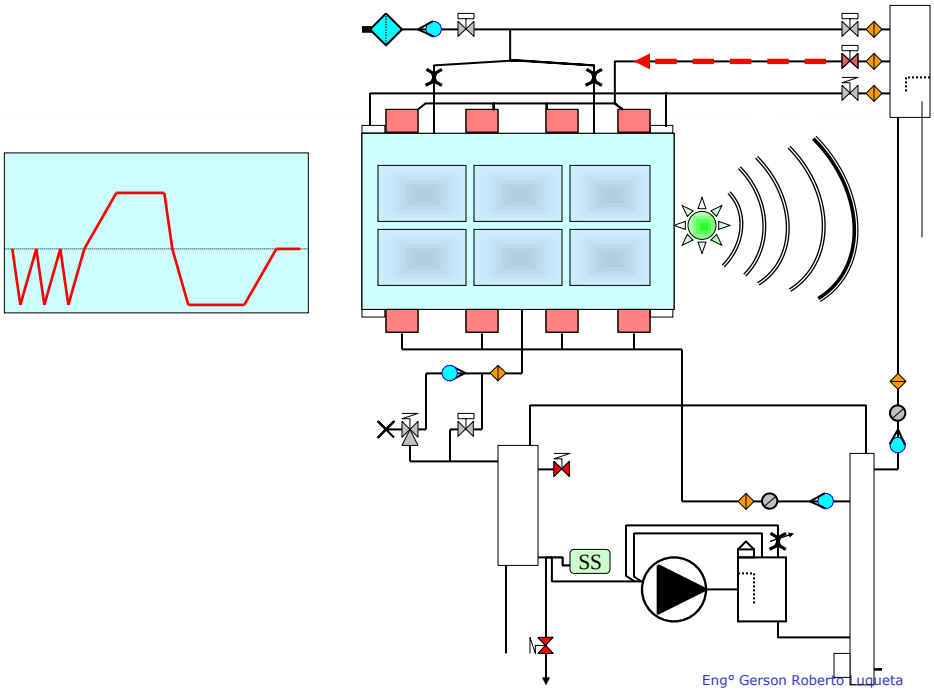

SS
Engº Gerson Roberto Luqueta


SS
Engº Gerson Roberto Luqueta


SS
Engº Gerson Roberto Luqueta


SS
Engº Gerson Roberto Luqueta

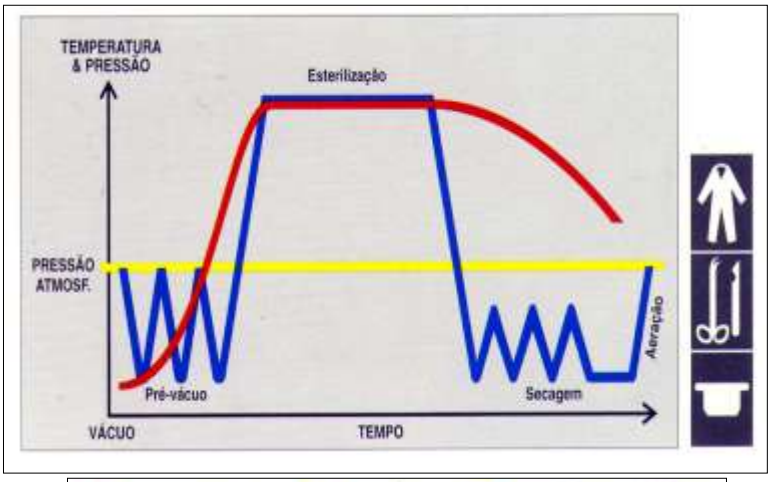

SS
Engº Gerson Roberto Luqueta



Engº Gerson Roberto Luqueta

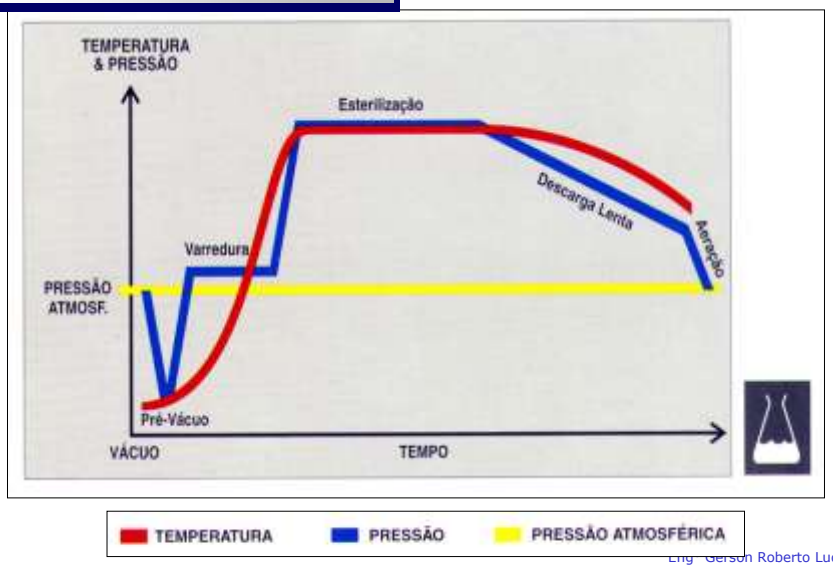
Ciclo de esterilização

BAUMER



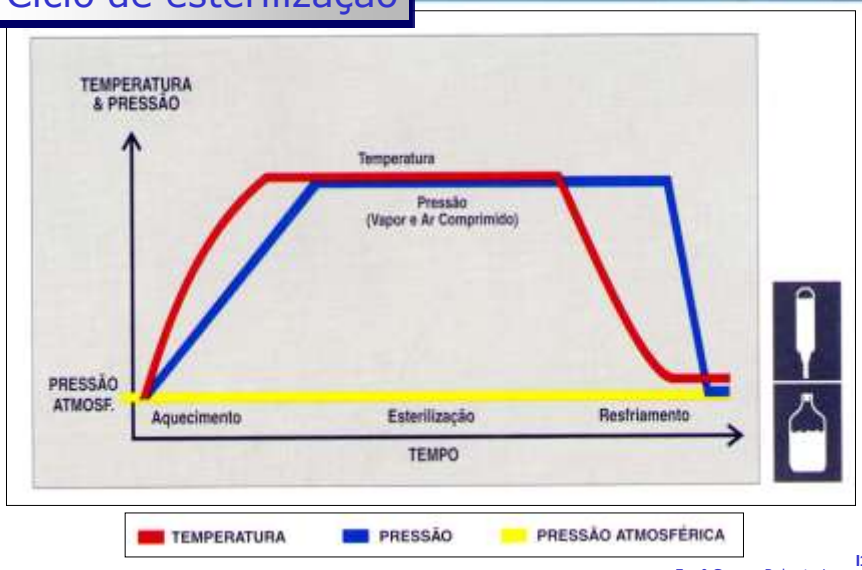
Engº Gerson Roberto Luqueta

Ciclo de esterilização



I2
Eng° Gerson Roberto Luqueta

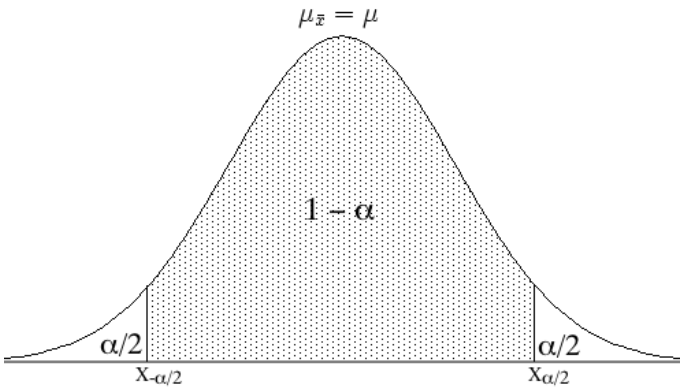
Ciclo de esterilização



I1
Eng° Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Hora do...



BAUMER

Esterilização no ambiente de biossegurança

- Preparo do material
- Carga na autoclave
- Esterilização
- Descarga e Armazenamento

BAUMER

Carga na Autoclave – tipos de portas

- Porta tipo "Aranha"
- Fechamento por presilhas
- Porta tipo guilhotina

Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Porta tipo travamento radial

- Vantagens
- Suporta grandes pressões
- Boa relação custo/benefício

- Desvantagens
- Pesada / Provoca LER
- Susceptível a falhas e fadigas
- Se quebrar, é projetada para frente

Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Porta com travas – modelo vertical

Vantagens

- Simplicidade de fabricação
- Fácil de manipular

Desvantagens

- Somente para equipamentos pequenos
- Requer atenção do usuário
- Se quebrar, é projetada para cima

Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Porta tipo guilhotina

Vantagens

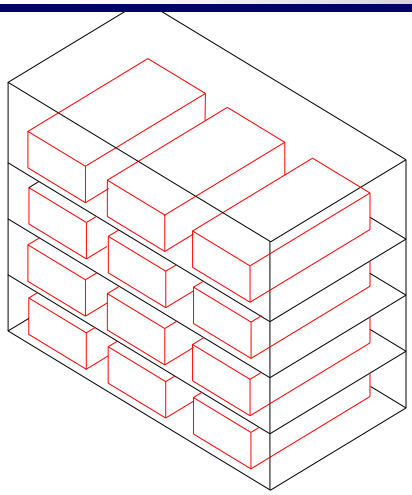
- Extremamente leves / fácil de usar
- Economiza espaço
- Menor índice de quebra / projeção

Desvantagem

- É o modelo mais caro
- Requer mais manutenção (lubrificação)

BAUMER

Carga na autoclave



Engº Gerson Roberto Luqueta

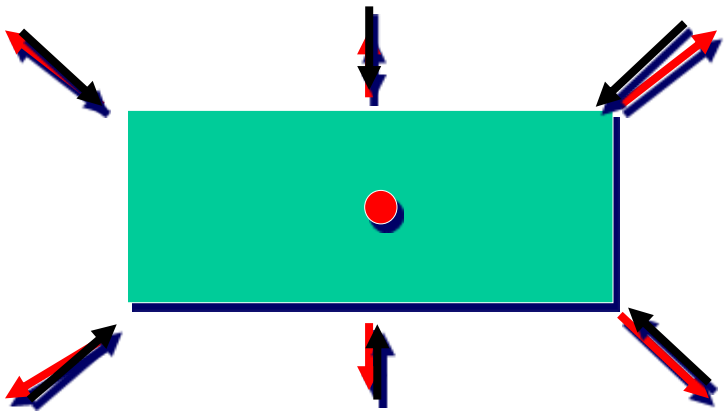
BAUMER

Embalagem do material

Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

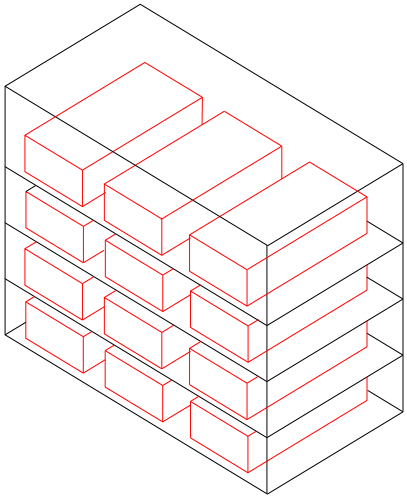
Carga na autoclave



Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Carga na autoclave



Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Carga na autoclave

BAUMER

Instalação da autoclave

Deve ser dimensionada para demanda adequada

Prever Alvenaria / Barreira

Instalação hidráulica

Instalação pneumática

Instalação elétrica / Aterramento

Tratamento de água / vapor

Contenção

BAUMER

Barreiras Primárias

Barreiras Secundárias

Fonte: FUNASA, Segurança em laboratórios biomédicos e de microbiologia. 2001

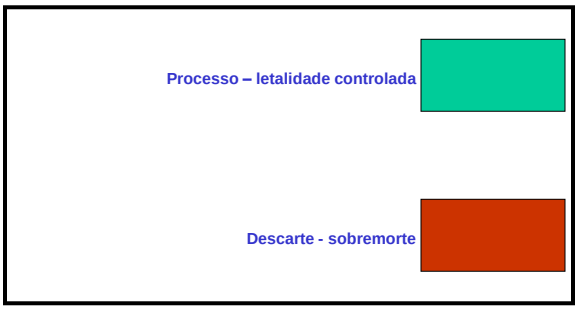
Fotos: http://biosafety-level.wikispaces.com/N%C3%A3vel+de+biossegurana%C3%A7a+4

Autoclaves em laboratórios NB-2

BAUMER

Equipamento para processo

Equipamento para descarte

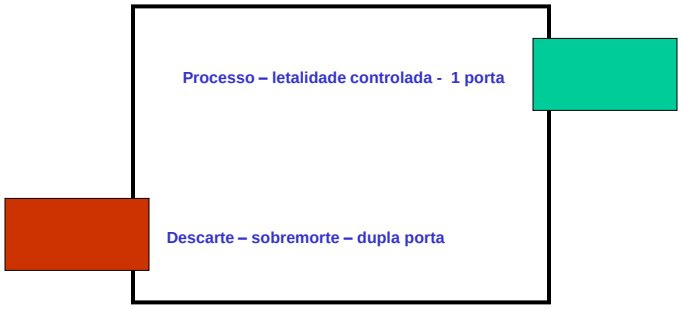


Autoclaves em laboratórios NB-3

BAUMER

Equipamento para processo

Equipamento para descarte em barreira

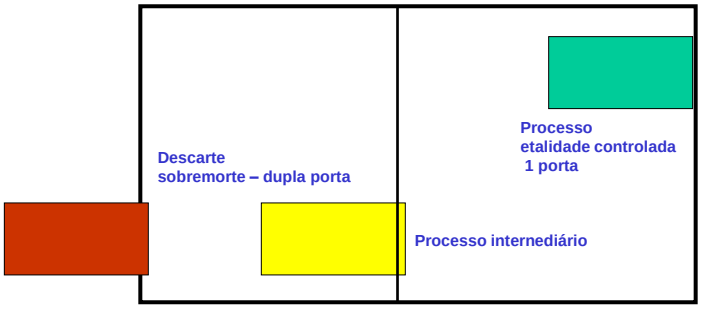


Engº Gerson Roberto Luqueta

Autoclaves em laboratórios NB-4

BAUMER

Uso de Equipamento intermediário



Engº Gerson Roberto Luqueta

Contenção – O conceito de Bioselo

BAUMER

Barreira mecânica

Combina construção do equipamento e área

Pode ser simples ou dupla

Existem modelos que combinam várias tecnologias

Testes de contenção devem ser realizados anualmente

Engº Gerson Roberto Luqueta

Água para esterilização

BAUMER

Água conforme a NBR-ISO 11.816:2003

Contaminante	Valor limite	Contaminante	Valor limite
Sedimentos	≤ 15 mg/l	Cloro	≤ 3 mg/l
Silício	≤ 2 mg/l	Fosfatos	≤ 0.5 mg/l
Ferro	≤ 0,2 mg/l	Condutividade	≤ 50 µs/cm
Cadimio	≤ 0.005 mg/l	pH	6,5 a 8,0
"Lead"	≤ 0.05 mg/l	Aparência	Limpida
Metais Pesados	≤ 0.1 mg/l	Dureza	≤ 0.1 mmol/l

Engº Gerson Roberto Luqueta

Geração de vapor

BAUMER

GERADOR DE VAPOR PURO

GERADOR DE VAPOR LIMPO

Engº Gerson Roberto Luqueta

Instalações hidráulicas - Dreno

BAUMER

Devem ser direcionados para tratamento

Ter sistemas de prevenção de refluxo

Tipicamente queimados em caldeiras

Engº Gerson Roberto Luqueta

Fornecimento de energia

BAUMER

- Fornecimento de energia estável
- Aterramento adequado
- Conformidade NBR-ISO11.816 e NBR5410
- NB-4 - equipamento deve ser ligado a gerador
- NB-4 – dutos de energia selados

Engº Gerson Roberto Luqueta

Falhas nas instalações

BAUMER

Roberto Luqueta

Esterilização por calor seco

BAUMER

Utilização de estufas específicas

Circulação forçada com pressão positiva

Requer temperatura e tempo bem maiores que vapor

Esterilização e/ou despirogenação

Esterilização por calor seco

BAUMER

Esterilização – Fh com temperatura ref. 170ºC e Z=20ºC

Despirogenização – Fh com temperatura ref. 250ºC e Z=46,6ºC

Controle de esterilização – Bacillus Atrophaeus

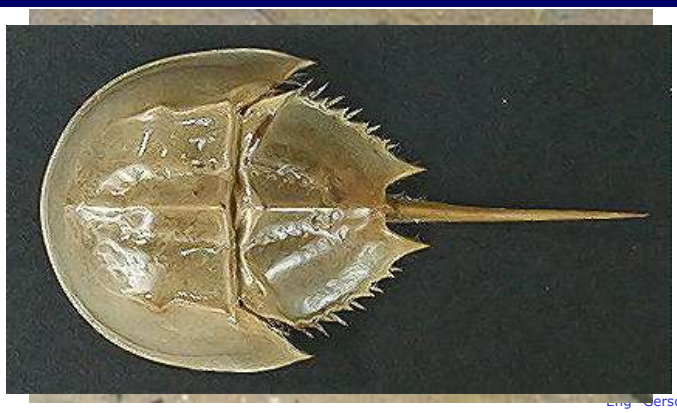
Controle da endotoxina bacteriana – testes "in vivo" e testes "in vitro"

BAUMER

Controle da endotoxina bacteriana

Teste "in vitro" – uso do Limulus Amebocyte Lysate

Procedimentos e metodologia - FDA –Technical Guide 40/1985



Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Esterilização por calor seco - requisitos

Circulação forçada – Alto índice de troca

Fluxo turbulento – troca térmica com variação de ± 5ºC

Ar de circulação na mesma classificação do envase

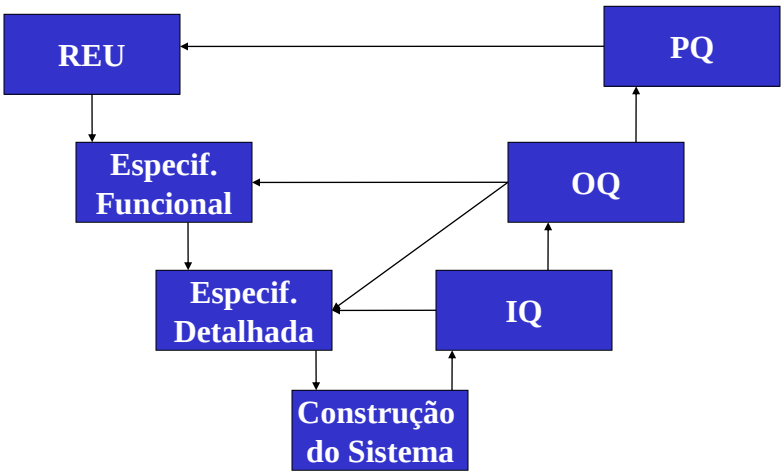
Uso de filtro de retenção microbiológica é mandatório

Engº Gerson Roberto Luqueta

Para descontrair...

Metodologia GMP

BAUMER



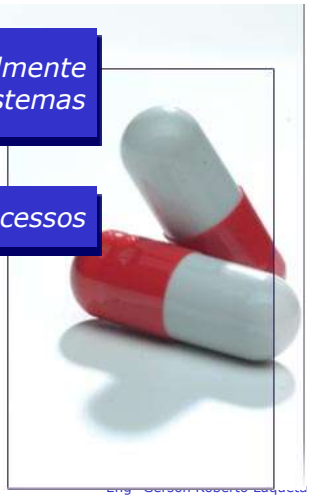
Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Distinção entre validação e qualificação

Pela RDC-17 o termo Qualificação é normalmente utilizado para equipamentos, utilidades e sistemas

O termo validação é aplicado a processos



BAUMER

Passos principais da validação - Esterilização

Deve consistir dos seguintes pontos básicos:

Qualificação do projeto - DQ

Aceitação em fábrica - FAT

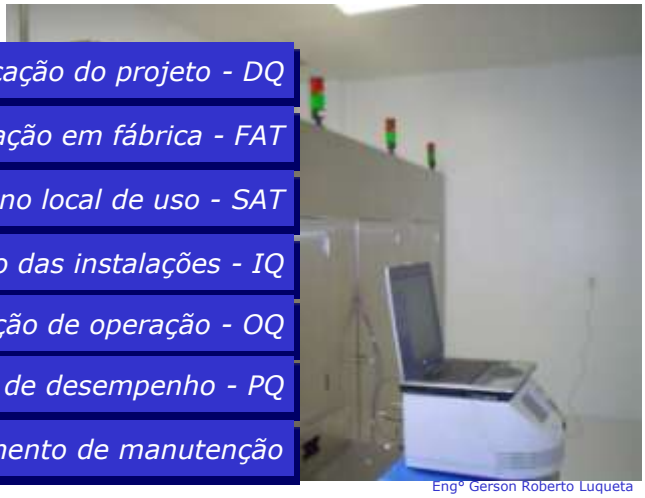
Aceitação no local de uso - SAT

Qualificação das instalações - IQ

Qualificação de operação - OQ

Qualificação de desempenho - PQ

Controle de procedimento de manutenção



Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Validação de processo - Esterilização

QUALIFICAÇÃO DE OPERAÇÃO

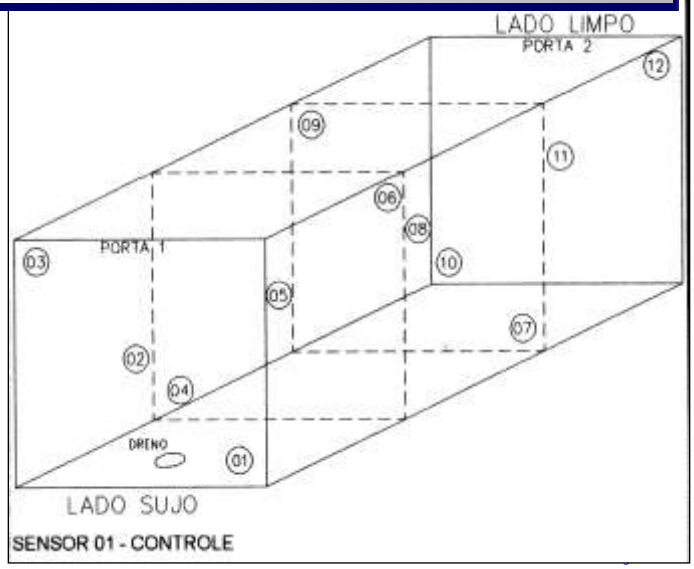
Qualificação térmica (a vazio)

Estudo de penetração de carga (letalidade)

100

BAUMER

Qualificação de operação - Esterilização



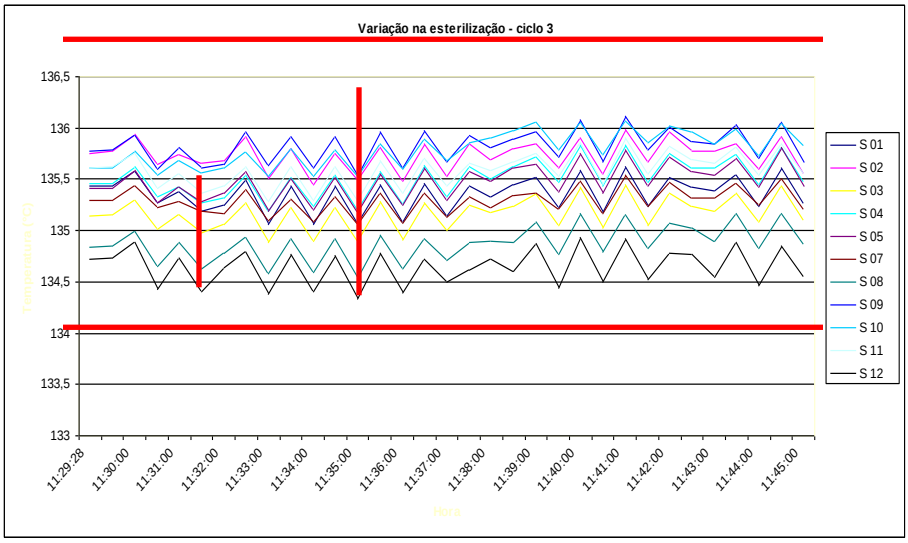
SENSOR 01 - CONTROLE

Roberto Luqueta

Qualificação de operação

USO DO VALIDADOR

Qualificação de operação



BAUMER

Qualificação de operação

BAUMER

Validação de sistemas computadorizados

Como definir o que é sistema computadorizado?

Consiste (mas não se limita) a equipamentos de fabricação automatizados, equipamentos de laboratório automatizados, controle de processo, processo analítico, execução de fabricação, gerenciamento de informação, planejamento de fabricação, gerenciamento de documentos e monitoramento.

Os sistemas podem classificados como ser novos ou legados

BAUMER

Guia de validação de sist. computadorizados

Série de perguntas para avaliar a necessidade de validação

O sistema armazena dados que impliquem na rastreabilidade de produtos?

O sistema gerencia a operação automatizada de equipamentos produtivos críticos ou de laboratórios individualmente?

Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Reação ao software não validado?

Luqueta

BAUMER

Conceito de Manutenção

São todas as ações necessárias para manter um equipamento ou sistema em operação ou para restituí-lo ao funcionamento. Manutenção inclui conservação, reparo, modificação , modernização, revisão, inspeção e determinação de eficiência de trabalho

BAUMER

Manutenção

Programa fornecido pelo Fabricante

Com registros formais dos procedimentos

Executado com profissionais qualificados

Engº Gerson Roberto Luqueta

Manutenção mal sucedida ?

BAUMER

Normas, portarias e resoluções

Nacionais:

NBR-ISO 17.665-1:2010

NBR-ISO 11.816:2003

RDC 17 de 16 de Abril de 2010 - ANVISA

NR-13 – Caldeiras a vapor – Disposições gerais

BAUMER

erto Luqueta

Divisão Industrial

- Autoclaves Laboratoriais
- Autoclaves para Produção
- Termodesinfectoras
- Câmaras de passagem
- Incubadoras para produção
- Geradores de vapor puro
- Estufas de eliminação de pirogênio
- Secadores de granulado

tks
Engº Gerson Roberto Luqueta

BAUMER

Obrigado

Eng. Gerson Roberto Luqueta
gerson@baumer.com.br
www.baumer.com.br

Downloads:
www.gerson.orgfree.com
(link saúde)

BAUMER

Lei dos gases ideais

$$P\overset{cte}{V} = \overset{cte}{n}RT$$

$$P \sim T$$

Lei dos gases ideais

BAUMER

Relaciona o tipo de Gás , Pressão e Temperatura

Temperatura (°C)	Pressão absoluta (kgf/cm^2)
95	0,86
100	1,03
105	1,23
120	2,02
135	3,19
150	4,85

VOLTAR

Título de vapor

BAUMER

$$Titulo_Vapor = \frac{Massa_gasosa}{Massa_gasosa + Massa_liquida}$$

Exemplo: Vapor com 100g de gás e 5g de líquido
100/105 = 0,952

VOLTAR

BAUMER

GAMP 4 METODOLOGY

Good Automation Manufacturing Practice

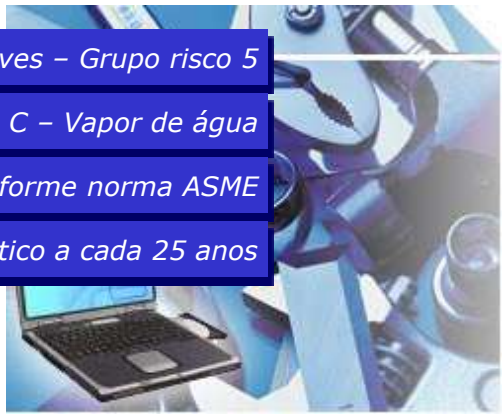
- Metodologia relacionada às boas práticas de fabricação para sistemas de automação.
- Representa um conjunto de ações para validação de processos automatizados.

BAUMER

NR 13 – Caldeiras a vapor

Autoclaves – Grupo risco 5

Classe C – Vapor de água

Cosntruídos conforme norma ASME

Requer teste hidrostático a cada 25 anos