

Esterilização por calor – Definições da RDC210 e os passos básicos de validação dos equipamentos.

Eng. Gerson R. Luqueta

Introdução

O principal objetivo do artigo é proporcionar aos profissionais da indústria farmacêutica (principalmente aos iniciantes) uma discussão técnica com uma releitura da resolução e as definições publicadas em livros e normas do processo de esterilização utilizando calor seco e úmido. Embora com foco aos profissionais em início de carreira, este material poderá servir também aos profissionais mais experientes, como suporte para o desenvolvimento de treinamento de equipe ou referência técnica.

Embora a transcrição de trechos de resoluções e normas não sejam, ao meu ver, um assunto muito interessante de se ver em um artigo técnico (até porque seria mais útil ler a resolução diretamente no documento fonte), faremos aqui (com a licença do caro leitor) algumas transcrições que permitam conduzir o raciocínio em torno do tema.

Na parte final do artigo desenvolveremos um exemplo de processo de validação de um sistema de esterilização por calor. Este exemplo deve ser visto como um roteiro elementar e não definitivo que tem que ser fundamentado e complementado pelas farmacopéias, normas e resoluções vigentes.

Termos em inglês serão utilizados com o objetivo de proporcionar a relação idiomática direta entre as expressões, siglas e abreviações uma vez que é usual, mesmo em empresas brasileiras, o desenvolvimento de documentos em inglês.

Esterilização por calor – definição:

A Farmacopéia Brasileira define o processo de esterilização como “Método...tem por finalidade remover ou destruir todas as formas de vida, animal ou vegetal, macroscópicas ou microscópicas, saprófitas ou não, presentes no produto considerado, sem garantir a inativação completa de toxinas ou enzimas celulares.”

De acordo com o FDA é possível utilizar-se o termo estéril para descrever a condição microbiológica quando um processo de controle microbiológico for executado por esterilização terminal dentro das Boas Práticas de Manufatura (GMP) e validado com um ou menos unidades não estéreis em um milhão (10^6).

Na literatura, Pflug, I. J. (1973) e Block, S. S. (1991) consideram que um artigo pode ser considerado estéril quando a probabilidade de sobrevivência de um microorganismo em um meio de cultura padrão (onde haviam previamente proliferado) é da ordem de 10^{-6} .

Este conceito probabilístico igual ou menor a 10^{-6} em um processo de esterilização recebe a sigla PNSU (Probability of a Non-Sterile Unit) ou, no âmbito industrial, de SAL (Sterile Assurance Level).

Despirogenização, despirogenação ou depirogenação ?

Como descrito na Farmacopéia, a esterilização não garante a inativação completa de toxinas ou enzimas celulares. Em processos de esterilização por calor seco é possível agregar o processo de eliminação da endotoxina bacteriana em etapas específicas. Este processo recebe a denominação mais comum de despirogenização.

Todavia, a discussão quanto o termo adequado é um pouco polêmica. A Farmacopéia Brasileira define o processo pelo nome de deprogenação, no mercado e em algumas publicações nacionais utiliza-se o termo desprogenização e, ainda, de acordo com alguns estudiosos de etimologia a grafia correta seria deprogenação. Neste artigo seguiremos a Farmacopéia, utilizando o termo desprogenação.

Esterilização por calor e a RDC210 de 2003

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária publicou em 04 de Agosto de 2003 sua resolução número 210 que estabeleceu os novos critérios para as Boas Práticas de Produção de Medicamentos, a chamada RDC210. Nesta resolução estão descritas as formas recomendadas para o processo de esterilização de produtos onde destacam-se as recomendações para o uso da esterilização por calor como via preferencial sempre que aplicável. O capítulo 17 das Diretrizes Complementares da Resolução estabelece, entre outros, as formas de esterilização para cada processo.

Vale ressaltar o item 17.11.1 que estabelece o seguinte: “A esterilização pode ser feita mediante a aplicação de calor seco ou úmido, agentes gasosos, por filtração esterilizante com subsequente enchimento asséptico dos recipientes finais estéreis, ou através de irradiação com radiações ionizantes. Cada método tem suas aplicações e limitações particulares. Quando for possível e praticável, a escolha do método deve ser a esterilização por calor.”

Mais adiante, na mesma resolução, vemos o seguinte: “17.17.1 Sempre que possível, os produtos devem ser esterilizados nos recipientes finais, preferencialmente por esterilização por calor úmido...”

A definição do uso do calor como agente esterilizante preferencial na RDC210 e em outras publicações está embasada nas vantagens que este processo apresenta em relação aos demais agentes esterilizantes, como por exemplo:

1. A esterilização por calor é um método seguro, uma vez que utilizada ar aquecido (no caso das estufas) ou vapor de água (no caso das autoclaves) como agente esterilizante.
2. O agente esterilizante não contamina o produto e não deixa resíduos tóxicos (quando devidamente tratado).
3. É química e biologicamente compatível com uma grande quantidade de materiais.
4. O processo de validação de sistemas térmicos é relativamente simples e amplamente difundido.

Validação do processo de esterilização por calor e a RDC:

A RDC210 preconiza no item 5 que “Os estudos de validação constituem parte essencial das BPF e devem, portanto ser conduzidos de acordo com protocolos pré-definidos. Deve ser mantido relatório escrito com o resumo dos resultados obtidos e as conclusões”. Estabelece, mais adiante, que os processos críticos devem ser validados concorrente, prospectiva e/ou retrospectivamente. Devem ser previstas revalidações periódicas ou quando houver qualquer mudança no processo/produto.

Nas diretrizes complementares, no item 18.6.6 entre outros estabelece que todo processo de esterilização deve ser validado e nos itens 17.12 e 17.13 apresenta alguns tópicos relevantes do processo de esterilização por calor e calor úmido respectivamente.

Em termos práticos, os protocolos de validação ainda são uma discussão a parte no âmbito industrial, frente aos diferentes processos e critérios estabelecidos.

De fato, convém esclarecer que a norma, recomendação ou critério a ser seguido tem muito a ver com o material a ser esterilizado, sua aplicabilidade seu impacto no produto final. Por exemplo, a esterilização de partes e peças de máquinas utilizadas em um processo produtivo pode seguir uma norma ou protocolo diferente daquele utilizado para a esterilização de um medicamento em sua embalagem final. A própria metodologia de esterilização pode divergir, sendo que no caso das peças normalmente se utiliza a esterilização por sobremorte (conhecida por Overkill) e no caso do produto final pode ser utilizado o método de sobrevivência. As principais diferenças entre os métodos são que o método de sobremorte é um processo que emprega maior energia e tem como alvo um indicador biológico altamente resistente ao agente esterilizante, o que dispensa o levantamento do “bioburden” enquanto o método de sobrevivência emprega uma quantidade menor de energia e de forma mais controlada, culminando com patamares de sub e sobre processamento geralmente bastante próximos.

Por outro lado, a vantagem do método de sobrevivência é que ele pode ser empregado na esterilização de produtos que podem ser degradados com mais facilidade pelo agente esterilizante.

No tocante aos indicadores biológicos, vale lembrar que o item 17.11.4 da RDC210 estabelece que “Os indicadores biológicos devem ser considerados apenas como um método adicional de monitoramento dos processos de esterilização. Se forem utilizados, devem ser tomadas precauções estritas para evitar a transferência de contaminação microbiana a partir dos mesmos”.

Exemplo de validação de esterilizadores por calor

Vamos agora desenvolver um exemplo básico de validação prospectiva, ou seja, aquela que define um equipamento ainda não operacionalizado.

Independente do tipo de agente esterilizante, os documentos mínimos a serem desenvolvidos no processo de validação dos equipamentos são:

1. O requerimento com as especificações de utilização ou URS (do inglês User Requirements Specifications);
2. A aprovação do projeto do equipamento ou DQ (do inglês Design Qualification);
3. O teste de aceitação no fabricante do equipamento ou FAT (Factory Acceptance Test);
4. O teste de aceitação no local de utilização ou SAT (Site Acceptance Test);
5. A qualificação de instalação ou IQ (Installation Qualification);
6. A qualificação de operação ou OQ (Operation Qualification);
7. A qualificação de desempenho ou PQ (Performance Qualification);

O requerimento do usuário (URS):

É a “certidão de nascimento” do esterilizador. Este documento evidencia todos os parâmetros e especificações que o equipamento deve cumprir para atender as necessidades de processo e promover um produto estéril.

Cada instituição trata sua URS de uma maneira particular. Alguns preferem um documento sucinto, evidenciando apenas os papéis que o equipamento deve cumprir sem entrar em detalhes construtivos (ficando estes delegados a um outro documento, geralmente ligados à aprovação de projeto) e outros já preferem desenvolver um

documento que contenha o maior número de dados possíveis a serem verificados na fase de FAT e SAT. A análise de risco também pode estar contemplada neste documento, ou como seria mais recomendável, estabelecida em um documento separado.

A URS tem também como objetivo nortear o desenvolvimento do escopo de fornecimento e permitir ao comprador a comparação adequada de diferentes ofertas de fornecimento.

A minha sugestão a aqueles que estão elaborando pela primeira vez uma URS é que procurem, no instante inicial, tentar contemplar o maior número de dados possíveis e depois, em uma análise mais crítica, reduzir o documento aos dados de desempenho esperado, operação, características técnicas a nível de construção geral, instalação básica e normas pertinentes, deixando dados técnicos a nível de especificidade para a fase seguinte, ou seja, para a fase de aprovação do projeto.

Um fator muito importante é que o desenvolvimento do processo de validação envolva todas as áreas da empresa, formando-se uma equipe multidisciplinar que conduzirá o processo. Esta questão do envolvimento de todos os setores está colocada na RDC210: “19.3.5 Os processos de validação requerem a colaboração mútua de todos os setores envolvidos tais como: desenvolvimento, produção, engenharia, manutenção, garantia da qualidade e controle de qualidade”.

A qualificação do projeto (DQ):

A qualificação do projeto deve levar em consideração o detalhamento do equipamento de esterilização, mostrando detalhes do projeto, da construção, da forma de ação do agente esterilizante, os fluxos operacionais, os sistemas de controle, sistemas de segurança, materiais utilizados e todas as respostas à análise de risco. Nesta fase, uma equipe multidisciplinar deve tratar junto ao fornecedor dos dados para a documentação e aprovação do equipamento antes da fase de construção.

A elaboração do FAT e do SAT:

Esta é a atividade formal de confrontação entre os dados aprovados na qualificação do projeto e parte dos dados elaborados na URS.

Quando o equipamento for dotado de sistema eletrônico digital com software embutido, pode-se utilizar esta fase para uma verificação mais detalhada do processo de validação do programa, executando-se todos os desafios de verificação de entradas e saída digitais (I/O) e medição dos sinais analógicos.

Caso ocorram não conformidades no FAT, o equipamento só poderá ser liberado depois da apresentação do plano e evidências de correção.

A qualificação da instalação (IQ):

A qualificação da instalação deve evidenciar que todos os suprimentos estão em conformidade com as premissas necessárias para o bom funcionamento do esterilizador. Esta é uma fase muito importante do processo de validação (não que as outras não sejam), porque no caso dos esterilizadores a calor o agente esterilizante é um dos suprimentos a ser validado.

Na RDC210 existem algumas referências específicas quanto ao agente esterilizante. No caso de esterilização pro calor úmido, por exemplo, no item 17.13.3 a RDC coloca que “deve ser assegurado que o vapor utilizado na esterilização seja de qualidade adequada ao processo e que não contenha aditivos em quantidades que possam causar contaminação do produto ou do equipamento”. Neste caso, o suprimento

de água para geração de vapor deve estar em conformidade com o produto a ser esterilizado e devidamente qualificado.

Outros suprimentos que devem ser verificados, dependendo do tipo de equipamento, são água para sistema de vácuo ou refrigeração, ar de circulação, instalação física na barreira, ar comprimido, energia elétrica, aterramento elétrico, etc.

Todos os parâmetros a serem verificados devem estar dentro de uma faixa de aceitação prevista pelos documentos anteriores e devem ser verificados por instrumentos calibrados dentro da certificação da RBC (Rede Brasileira de Calibração).

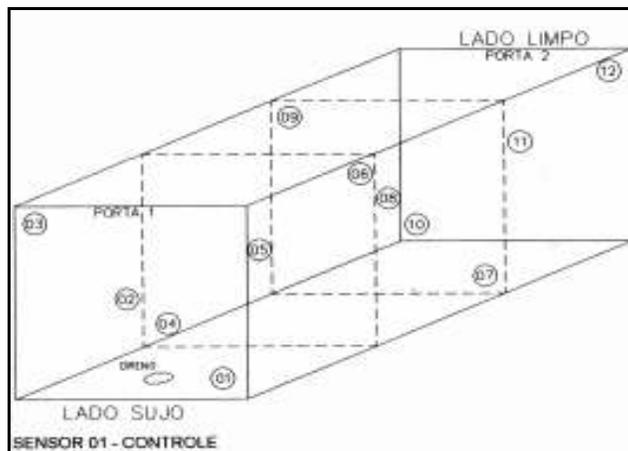
A qualificação de operação (OQ):

Esta é uma fase bastante ampla e deve ser muito bem explorada para a correta obtenção do sucesso do processo por esterilização por calor. A qualificação de operação pode, inclusive, ser dividida em atividades menores tais como: Verificação dos parâmetros de funcionamento, distribuição de calor a vazio e com carga, estudo da letalidade de processo (com a verificação dos controles físicos e microbiológicos), treinamento de pessoal e protocolo de liberação de uso.

A fase de verificação de funcionamento pode incluir a verificação da instrumentação com a confrontação dos certificados de calibração, testes de hermeticidade e Bowie & Dick (para esterilizadores a vapor de vácuo pulsante), integridade do filtro esterilizante (para esterilizadores de calor seco) e desafios de operação a vazio e com carga (para verificação dos parâmetros de tempo de aquecimento e resfriamento).

O estudo de distribuição de calor a vazio tem por finalidade verificar a homogeneidade do agente esterilizante dentro do equipamento. Os critérios de aceitação devem ser estabelecidos em função do perfil de processo ou de uma norma específica. Quando a fonte de referência for uma NBR, eu recomendo a NBR-ISO11.134 para esterilizadores a vapor e a NBR8165 para estufas de circulação forçada de ar. Se os critérios de norma e de processo forem divergentes, deve-se adotar o mais desafiador ao processo (que geralmente é aquele onde as variações permitidas são menores).

Vale ressaltar que o estudo de distribuição térmica em vazio deve ser feito por instrumentos adequadamente calibrados e rastreados pela RBC. Outro ponto importante (e muitas vezes esquecido pelas empresas prestadoras de serviço) é que os dados coletados pelos instrumentos devem ter seus desvios eliminados (com a conseqüente correção dos dados) antes da elaboração dos relatórios de distribuição.



Uma vez aprovado no teste de distribuição térmica, deve-se iniciar o estudo de letalidade de processo. Este estudo consiste basicamente no levantamento do desafio microbiológico, na definição da letalidade de processo esperada (F_0 para esterilizadores a vapor e F_h para estufas de circulação forçada) e do estudo de penetrabilidade de carga para todos os diferentes ciclos a serem realizados.



Caso o processo de esterilização seja pelo método de sobremorte (Overkill) o desafio microbiológico fica restrito ao uso de indicadores biológicos comerciais, que são os mais resistentes para cada processo. Na esterilização por vapor, o indicador biológico utilizado é o *Bacillus stearothermophilus* ATCC7953 enquanto que na esterilização por calor seco é o *Bacillus atrophaeus* ATCC9372. Caso a estufa também seja utilizada para despirogenação, o teste de presença de endotoxina bacteriana (ou teste de pirogênio como também é conhecido) também deve ser executado. Geralmente, no âmbito industrial utiliza-se o teste *in vitro* ou teste LAL (*Limulus Amebocyte Lisate*).

O estudo da letalidade de processo deve considerar os fatores relativos à resistência do indicador biológico, como valor D, valor Z, população inicial e final. Este estudo é basicamente estatístico (vide artigo *Esterilização por calor e a cinética de morte microbiana* – Revista Controle de Contaminação número 77, ano 7) e servirá de base para determinar o valor de letalidade a ser esperado durante o estudo de penetrabilidade de carga.

A verificação da letalidade na carga a ser processada pode combinar a integração da energia térmica entregue ao produto monitorado por sensores, o uso de indicadores biológicos e de monitores químicos.

O resultado final deve demonstrar claramente a correspondência entre os valores esperados no estudo de letalidade e os parâmetros preconizados no requerimento do usuário.

A qualificação de operação deve evidenciar também que todos os profissionais envolvidos no processo de esterilização foram devidamente treinados e que todos os Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) foram desenvolvidos e disponibilizados para a equipe.

Finalmente, com todos os parâmetros funcionais qualificados e os colaboradores treinados pode-se passar para a fase final da qualificação de operação que é a etapa de geração da documentação de liberação, onde podem ser produzidos lotes pilotos do material a ser processado e verificação da esterilidade. Toda a documentação gerada tem que ser devidamente conferida e assinada pelos responsáveis.

Qualificação de desempenho (PQ):

Esta qualificação deve ocorrer ao longo da operação do equipamento de esterilização e tem como um dos principais objetivos comprovar que o processo, da forma com que foi concebido e tem sido realizado, atende todas as exigências descritas no requerimento de usuário (URS).

Manutenção:

Complementam os protocolos de desempenho os planos de manutenção preventiva e os registros de manutenção corretiva. Também fazem parte dos registros de treinamento de novos colaboradores.

Quanto ao plano de manutenção, inclusive, este é colocado na RDC210 como uma exigência das Boas Práticas como segue: “17.8.11 Todos os equipamentos, incluindo os esterilizadores, os sistemas de filtração de ar e os sistemas de produção de água, devem ser submetidos a um plano de manutenções periódicas, validação e monitoramento. A aprovação do uso dos equipamentos deve ser documentada, após o serviço de manutenção”.

Revalidação:

O plano e o processo de revalidação também são exigidos na RDC210, e sua prática está preconizada no item 19.4.4 da mesma.

O principal objetivo da revalidação dos equipamentos de esterilização por calor é garantir que desvios intencionais ou não do processo, instrumentos, suprimentos, etc., não tenham afetado o resultado da esterilização.

A revalidação dos esterilizadores deve ocorrer periodicamente baseado nos dados históricos de desvios de processo. Na prática a revalidação dos equipamentos geralmente ocorre com periodicidade anual e são verificados a instrumentação (com a recalibração por instrumentos rastreados pela RBC), a distribuição térmica, o estudo de penetrabilidade de carga, a revisão dos POPs e dos planos de manutenção, quem são os pontos críticos do processo.

Conclusão:

O processo de esterilização é um dos fatores importantes a serem controlados para o sucesso das Boas Práticas de Produção de Medicamentos e a resolução que trata do assunto busca cobrir parte dos requisitos essenciais de uso e validação do mesmo. Todavia, os conceitos básicos de validação podem ser aplicados em outros setores, como laboratórios de microbiologia (atendendo as Boas Práticas de Laboratório), hospitais e diferentes segmentos industriais que utilizam equipamentos de esterilização por calor, como química fina, alimentícia, cosmética, etc., adaptando-se os protocolos às necessidades operacionais.

Além da RDC210 (amplamente explorada no nosso artigo), da Farmacopéia Brasileira e das normas da ABNT, existem inúmeras fontes de consulta para todos os setores onde podem ser explorados os temas de esterilização e validação. Na internet existem algumas fontes bastante interessantes, como por exemplo o Food and Drug Association (www.fda.gov), o Parental Drug Association (www.pda.org) que tem excelentes materiais (como o Technical Monograph no. 1 sobre validação de autoclaves e o Technical Report no. 3 sobre validação de esterilizadores de calor seco), o FPA para a área de esterilização de alimentos e afins (www.fpa-food.org), o IFTPS

(www.iftps.org) onde eu recomendo a verificação do protocolos de processos térmicos disponíveis para download gratuito, o site da ANVISA (www.anvisa.gov.br), do ISPE (www.ispe.org.br) e de outras inúmeras associações.

Referências:

- Pflug, I. J. Microbiology and Engineering of Sterilization Processes, 10th Edition – 1999.
- Block, S. S. Disinfection, Sterilization and Preservation, 10th Edition – 1991.
- PDA – Technical Monograph No.1 – Validation of Steam Sterilization Cycles.
- PDA – Technical Report No.3 – Validation of Dry Heat Processes used for sterilization and Depyrogenation.
- ABNT – NBR ISO11134:2001
- ABNT – NBR8166:1995
- Resolução RDC no. 210 de 04 de agosto de 2003 – ANVISA.
- Institute of Thermal Processes Specialists – Protocols (via internet).

Eng^o. Gerson Roberto Luqueta

- Engenheiro eletricitista, é especialista em termobacteriologia, professor de Mecatrônica e membro do conselho editorial da Revista Controle de Contaminação.