



FILIPA RAQUEL ALMEIDA JORGE

Licenciada em Ciências da Engenharia Química e Bioquímica

IMPLEMENTAÇÃO DE MELHORIAS NAS ÁREAS DE PREPARAÇÃO DE INJETÁVEIS DE ACORDO COM O ANEXO 1 DAS BOAS PRÁTICAS DE FABRICO

MESTRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA E BIOQUÍMICA

Universidade NOVA de Lisboa

Setembro, 2023

IMPLEMENTAÇÃO DE MELHORIAS NAS ÁREAS DE PREPARAÇÃO DE INJETÁVEIS DE ACORDO COM O ANEXO 1 DAS BOAS PRÁTICAS DE FABRICO

FILIPA RAQUEL ALMEIDA JORGE

Licenciada em Ciências da Engenharia Química e Bioquímica

Orientadora: Doutora Ana Margarida Cepêda,
Garantia da Qualidade, Laboratórios Atral, S. A.

Coorientadores: Professor Doutor Mário Eusébio,
Professor Auxiliar, Universidade NOVA de Lisboa

Júri:

Presidente: Doutora Isabel Maria Rôla Coelho,
Professora Associada em Agregação, FCT-NOVA

Vogais: Doutora Ana Mafalda Pratas Quinto,
CEO, QPLab – Pharma Services

Doutora Ana Margarida Cepêda,
Garantia da Qualidade, Laboratórios Atral, S. A.

MESTRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA E BIOQUÍMICA

Universidade NOVA de Lisboa

Outubro, 2023

Implementação de melhorias nas áreas de preparação de injetáveis de acordo com o Anexo 1 das Boas Práticas de Fabrico

Copyright © Filipa Raquel Almeida Jorge, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade NOVA de Lisboa.

A Faculdade de Ciências e Tecnologia e a Universidade NOVA de Lisboa têm o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicar esta dissertação através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, e de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor.

AGRADECIMENTOS

Com a conclusão da etapa final da minha jornada académica, serve este texto para agradecer a todos os envolvidos neste percurso desafiador.

Primeiramente, quero agradecer aos Laboratórios Atral, S.A. e à FCT-UNL pela oportunidade de realização deste estágio que marca o início do meu percurso profissional.

Ao Engenheiro Ricardo Grilo, muito obrigada pela chance de participar neste projeto e pela simpatia e preocupação demonstrada.

À minha orientadora, Doutora Ana Margada Cepêda, por toda a ajuda prestada, por estar sempre disponível e pela constante boa disposição. Muito obrigada.

Ao meu coorientador, Professor Doutor Mário Eusébio, por todas as reuniões, conhecimentos e conselhos transmitidos. Muito obrigada.

A todos os colaboradores dos Laboratórios Atral que me ajudaram neste percurso. Em especial, à Doutora Helena Nunes e à Engenheira Nádia Rodrigues pela orientação, simpatia e disponibilidade. À Patrícia Simões pelas visitas guiadas a todos os setores, por todas as dúvidas e materiais emprestados e pelo permanente sorriso. Ao Doutor Nicolau Negrão e à Núria Gonçalves por me receberem nos respetivos setores e por todo o auxílio prestado para a elaboração desta dissertação. Muito obrigada a todos!

À Rita Machado, obrigada por teres adotado esta pequena introvertida completamente perdida num ambiente novo. O teu cuidado para comigo fez toda a diferença nesta jornada e não consigo agradecer-te o suficiente. Obrigada!

À Mykaella Mestre e à Margarida Cunha por não me darem dores de cabeça nos inúmeros trabalhos de grupo que fizemos juntas. Obrigada pelo companheirismo, pela amizade e pelas fotos que trocamos dos cães.

À Ana Paula Silva e ao Bruno Alves, uma bombeira, um farmacêutico e uma agora engenheira que eram só crianças a passear por Queluz. Quem diria que chegaríamos a este ponto? Obrigada por serem os pilares de todo o meu percurso.

À minha família obrigada por acreditarem sempre no meu potencial e compreenderem a minha ausência. Em especial, muito obrigada ao meu pai que está sempre disponível e me deu incontáveis boleias e à minha mãe que arranja sempre tempo para me ouvir, encorajar e acarinhar. Agradeço-vos do fundo do coração.

E à Sofia Albuquerque, a minha colega de estágio, a minha pessoa da faculdade, a minha pessoa fora dela e parte da minha família. Obrigada pela força que me das e pela alegria que transmites.

RESUMO

O fabrico de fármacos com via de administração parenteral deve seguir rigorosamente a legislação em vigor, de forma a garantir que não se introduz contaminação particular ou microbiológica diretamente no sistema do paciente, potencialmente prejudicando a sua saúde. Desta forma, com a atualização do Anexo 1 das Boas Práticas de Fabrico do Eudralex, é necessário identificar as diretrizes aplicadas ao processo de preparação de injetáveis dos Laboratórios Atral e garantir o respetivo cumprimento das mesmas.

Posto isto, elaboraram-se instruções de montagem das máquinas de enchimento asséptico, atualizaram-se instruções de limpeza e desinfeção de zonas limpas, criou-se uma instrução de limpeza para a sala de preparação de matérias-primas e desenvolveu-se um protocolo para a entrada de materiais pelas antecâmaras das áreas assépticas, a partir do qual se procedeu à validação do processo de desinfeção para a entrada de materiais pelas antecâmaras no INJ3, encontrando-se a conclusão pendente dos resultados de investigações em aberto.

Validou-se o método de estanquicidade para a verificação da integridade do sistema de fecho de frascos de injetáveis, em relação a defeitos na rolha, no vidro e no processo de capsulagem e realizou-se a qualificação de instalação e de operação de microdifusores para desinfeção aérea da Linha 1 do INJ2 e da Microbiologia. Iniciou-se a qualificação de desempenho dos equipamentos da Linha 1, tendo o 1º ciclo de desinfeção resultado em não conformidades cuja origem foi determinada através de uma árvore de análise de falhas. Os protocolos de desinfeção foram alterados para garantir a eficácia dos próximos ciclos de desinfeção. Definiu-se ainda uma estratégia de monitorização microbiológica em anaerobiose e, através da análise de resultados, decidiu-se realizar esta monitorização anualmente durante a simulação do processo asséptico.

A implementação destas diretrizes permite a melhoria contínua nos setores de preparação de injetáveis da unidade fabril, reduzindo o risco de contaminação microbiológica e reforçando a segurança e qualidade do produto.

Palavras-chave: Anexo 1 do EudraLex, Asséptico, Injetáveis, Desinfeção, Validação

ABSTRACT

The manufacture of drugs for parenteral administration must follow current legislation, in order to ensure that no particular or microbiological contamination is introduced directly into the patient's system potentially harming their health. Therefore, with the update of Annex 1 of Eudralex, it is necessary to identify the guidelines applied to the injectable preparation process at Laboratórios Atral and ensure compliance with them.

With that being said, assembly instructions for aseptic filling machines were developed, cleaning and disinfection instructions for clean areas were updated, a cleaning instruction was created for the raw materials preparation room and a protocol was developed for the entry of materials through the antechambers of the aseptic areas, from which the validation of the disinfection process for the entry of materials through the antechambers in INJ3 was initiated, with conclusion pending of the results of open investigations.

The blue dye method was validated to verify the integrity of the injection vial closure system, in relation to defects in the stopper, glass and capping process, and installation and operation qualification was carried out of microdiffusers for air disinfection of Line 1 of INJ2 and Microbiology. The performance qualification of Line 1 equipment began, with the 1st disinfection cycle resulting in non-conformities whose origin was determined through a failure analysis tree. Disinfection protocols have been changed to ensure the effectiveness of future disinfection cycles. A microbiological monitoring strategy in anaerobiosis was also defined and, through analysis of results, it was decided to carry out this monitoring annually during the simulation of the aseptic process.

The implementation of these guidelines allows for continuous improvement in the injectable preparation sectors of the manufacturing unit, reducing the risk of microbiological contamination and reinforcing product safety and quality.

Keywords: Annex 1 of EudraLex, Aseptic, Injectables, Disinfection, Validation

ÍNDICE

1. ENQUADRAMENTO E OBJETIVOS	1
1.1 Laboratórios Atral, S.A.	1
1.2 Motivação.....	2
1.3 Objetivos	3
2. ESTADO DA ARTE	5
2.1 Vias de Administração de Medicamentos	5
2.2 Boas Práticas de Fabrico na Indústria Farmacêutica	7
2.2.1 A Evolução do Anexo 1: <i>Manufacture of Sterile Medicinal Products</i>	8
2.3 Gestão de Riscos e Qualidade	13
2.3.1 Análises de Risco	14
2.4 Validação e Qualificação.....	16
2.5 Limpeza e Desinfecção	18
2.5.1 Comparação da Desinfecção Aérea com Formaldeído e Peróxido de Hidrogénio	20
2.6 Verificação da Integridade de Sistemas de Fecho.....	26
3. MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1 Análises de Risco	29
3.2 Monitorização Microbiológica	30
3.3 Qualificação de Equipamentos	32
3.4 Validação do Método de Estanquicidade (Diretriz 8.23)	35
4. IMPLEMENTAÇÃO DAS DIRETRIZES DO ANEXO 1.....	41
4.1 Diretriz 2.3: Revisão da Estratégia de Controlo de Contaminação	41
4.1.1 Resultados e Discussão	41
4.2 Diretriz 4.11: Transferência de Materiais para Áreas Assépticas	42
4.2.1 Elaboração do Procedimento de Entrada de Materiais por Desinfecção.....	43

4.2.2	Resultados e Discussão	46
4.3	Diretriz 4.36: Qualificação e Validação do Sistema de Desinfecção Aérea com Peróxido de Hidrogénio.....	51
4.3.1	Qualificação de Instalação.....	52
4.3.2	Qualificação de Operação e Análise de Criticidade	53
4.3.3	Qualificação de <i>Performance</i>	57
4.4	Diretriz 8.12: Montagem de Equipamento Estéril.....	67
4.4.1	Máquina de Enchimento Asséptico 302 PEP1	68
4.4.2	Máquina de Enchimento Asséptico MACOFAR MT9 302 PEP6.....	73
4.5	Diretriz 8.23: Integridade dos Sistemas de Fecho	78
4.5.1	Resultados e Discussão	79
4.6	Diretrizes 8.87 - 8.89: Integridade de Filtros	85
4.6.1	Resultados e Discussão	86
4.7	Diretriz 9.36 (v.): Monitorização Microbiológica em Anaerobiose	89
4.7.1	Resultados e Discussão	90
4.8	Outras Diretrizes.....	97
5.	CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO	101
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1 – Saco hermético com placas de contacto em ambiente de anaerobiose	31
Figura 3.2 – Indicador químico para a desinfeção com peróxido de hidrogénio	34
Figura 3.3 – Medidor Dräger X-am 5100.....	34
Figura 3.4 – Câmara de Vácuo e Barómetro 402PI11.....	35
Figura 3.5 – Capsulador do CQ.....	35
Figura 3.6 – Descapsulador do CQ	36
Figura 3.7 – Frascos de injetáveis não capsulados	36
Figura 3.8 – Simulação de defeitos de perfuração nas rolhas, com agulhas de 0,6 mm	37
Figura 3.9 – Simulação de defeitos no processo de capsulagem com 2 bolas de vidro à esquerda e com 1 bola de vidro à direita, antes da capsulagem	38
Figura 3.10 – Simulação de defeitos no processo de capsulagem com 2 bolas de vidro, após capsulagem	38
Figura 3.11 – Simulação de defeitos no processo de capsulagem com 1 bola de vidro, após capsulagem	38
Figura 3.12 – Simulação de defeitos no vidro dos frascos, antes da capsulagem	39
Figura 3.13 – Simulação de defeitos no vidro dos frascos, após capsulagem.....	39
Figura 4.1 – Microdifusor NOUVAIR	52
Figura 4.2 – Árvore de Análise de Falhas ao Crescimento Microbiológico	59
Figura 4.3 – Planta da área abrangida pelo microdifusor 302SH9, com a localização dos testes efetuados	60
Figura 4.4 – Planta da área abrangida pelo microdifusor 302SH10, com a localização dos testes efetuados.....	62
Figura 4.5 – Planta da área abrangida pelo microdifusor 302SH11, com a localização dos testes efetuados.....	64
Figura 4.6 – Planta da área abrangida pelo microdifusor 302SH12, com a localização dos testes efetuados.....	66
Figura 4.7 – Peças principais da máquina de enchimento asséptico 302 PEP1	69
Figura 4.8 – Disposição das principais peças do formato de transporte de frascos.....	69
Figura 4.9 – Montagem final do formato de transporte de frascos.....	70
Figura 4.10 – Encaixe dos pistões inferiores.....	70
Figura 4.11 – Detalhe de posicionamento da roda de afinação de peso	71

Figura 4.12 – Pormenor de encaixe da roda de doseamento e placa de aperto	71
Figura 4.13 – Encaixe da roda de enchimento na máquina 302 PEP1	71
Figura 4.14 – Colocação do raspador na roda pó	72
Figura 4.15 – Posicionamento final da roda pó	72
Figura 4.16 – Montagem da base do depósito de pó	73
Figura 4.17 – Aspeto final do depósito de pó	73
Figura 4.18 – Disposição das peças do formato de transporte de frascos	74
Figura 4.19 – Montagem final do formato de transporte de frascos	74
Figura 4.20 – Formato de transporte de rolhas	75
Figura 4.21 – Detalhe de montagem da roda de doseamento	75
Figura 4.22 – Constituintes da roda pó	76
Figura 4.23 – Disposição das peças na roda pó	76
Figura 4.24 – Colocação das juntas na base do depósito de pó	77
Figura 4.25 – Acondicionamento do óculo na tampa do depósito	77
Figura 4.26 – Posicionamento da peça de alimentação de pó	77
Figura 4.27 – Depósito de rolhas	78
Figura 4.28 – Sistema de Fecho de um Frasco de Injetável	79
Figura 4.29 – Resultados do teste de estanquicidade para frascos não capsulados	80
Figura 4.30 – Resultados do teste de estanquicidade para perfurações nas rolhas com diâmetro de 0,6 mm	80
Figura 4.31 – Resultados do teste de estanquicidade para defeitos de capsulagem com 2 bolas de vidro	83
Figura 4.32 – Resultados do teste de estanquicidade para defeitos de capsulagem com 2 bolas de vidro, após descapsulagem dos frascos	84
Figura 4.33 – Resultados do teste de deteção de defeitos no vidro dos frascos	84

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 2.1 – Evolução do Anexo 1	9
Tabela 2.2 – Classificação de Desinfetantes	19
Tabela 2.3 – Escala de redução logarítmica	22
Tabela 2.4 – Comparação entre o formaldeído e o peróxido de hidrogénio.....	24
Tabela 2.5 – Níveis de redução logarítmica do formaldeído e do hidrogénio.....	25
Tabela 3.1 – Simbologia de uma Árvore de Análise de Falhas.....	29
Tabela 3.2 – Escala de Severidade	30
Tabela 3.3 – Escala de Ocorrência	30
Tabela 3.4 – Escala de Detecção.....	30
Tabela 3.5 – Critérios de Aceitação Microbiológica.....	32
Tabela 3.6 – Características das agulhas	37
Tabela 4.1 – Resultados da entrada de materiais do tipo A, por desinfecção, no INJ3.....	47
Tabela 4.2 – Resultados da entrada de materiais do tipo C, por desinfecção, no INJ3.....	47
Tabela 4.3 – Resultados da entrada de materiais do tipo D, por desinfecção, no INJ3.....	48
Tabela 4.4 – Resultados da entrada de materiais do tipo E, por desinfecção, no INJ3	48
Tabela 4.5 – Resultados da entrada de materiais do tipo F, por desinfecção, no INJ3	49
Tabela 4.6 – Caudal médio da bomba peristáltica de cada equipamento	55
Tabela 4.7 – Análise da Função e Impacto de cada subcomponente do microdifusor NOUVAIR.....	56
Tabela 4.8 – Análise de Efeito da Falha de cada subcomponente do microdifusor NOUVAIR.....	57
Tabela 4.9 – Resultados do 1º ciclo de desinfecção para o microdifusor 302SH9	58
Tabela 4.10 – Resultados do 2º ciclo de desinfecção para o microdifusor 302SH9	61
Tabela 4.11 – Resultados do 1º ciclo de desinfecção para o microdifusor 302SH10	62
Tabela 4.12 – Resultados do 2º ciclo de desinfecção para o microdifusor 302SH10	63
Tabela 4.13 – Resultados do 1º ciclo de desinfecção para o microdifusor 302SH11	64
Tabela 4.14 – Resultados do 2º ciclo de desinfecção para o microdifusor 302SH11	65
Tabela 4.15 – Resultados do 1º ciclo de desinfecção para o microdifusor 302SH12	65
Tabela 4.16 – Resultados do 2º ciclo de desinfecção para o microdifusor 302SH12	66
Tabela 4.17 – Resultados do teste de estanquicidade para perfurações nas rolhas com diâmetro de 0,9 mm.....	81
Tabela 4.18 – Resultados do teste de estanquicidade para perfurações nas rolhas com diâmetro de 0,8 mm.....	81

Tabela 4.19 – Resultados do teste de estanquicidade para perfurações nas rolhas com diâmetro de 0,6 mm.....	81
Tabela 4.20 – Resultados do teste de estanquicidade para perfurações nas rolhas com diâmetro de 0,5 mm.....	81
Tabela 4.21 – Resultados do teste de estanquicidade para defeitos de capsulagem equivalentes a 2 bolas de vidro com 0,4 mm de diâmetro.....	82
Tabela 4.22 – Resultados do teste de estanquicidade para defeitos de capsulagem equivalentes a 1 bola de vidro com 0,4 mm de diâmetro.....	82
Tabela 4.23 – FMEA à perda de integridade dos filtros da linha 1 do INJ2	87
Tabela 4.24 – FMEA à perda de integridade dos filtros da linha 2 do INJ2	87
Tabela 4.25 – FMEA à perda de integridade dos filtros do INJ3.....	88
Tabela 4.26 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Ar, com placas de sedimentação, na Linha 1 do INJ2 da UP	90
Tabela 4.27 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose de Superfícies, com placas de contacto, na Linha 1 do INJ2 da UP	90
Tabela 4.28 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Fardamento, com placas de contacto, na Linha 1 do INJ2 da UP	91
Tabela 4.29 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Ar, com placas de sedimentação, na Linha 2 do INJ2 da UP	91
Tabela 4.30 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose de Superfícies, com placas de contacto, na Linha 2 do INJ2 da UP	91
Tabela 4.31 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Fardamento, com placas de contacto, na Linha 2 do INJ2 da UP	92
Tabela 4.32 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Ar, com placas de sedimentação, no INJ3 da UC	92
Tabela 4.33 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose de Superfícies, com placas de contacto, no INJ3 da UC.....	92
Tabela 4.34 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Fardamento, com placas de contacto, no INJ3 da UC.....	93
Tabela 4.35 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Ar, com placas de sedimentação, na Linha 1 do INJ2 da UP, durante o <i>Media Fill</i>	93
Tabela 4.36 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose de Superfícies, com placas de contacto, na Linha 1 do INJ2 da UP, durante o <i>Media Fill</i>	94
Tabela 4.37 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Fardamento, com placas de contacto, na Linha 1 do INJ2 da UP, durante o <i>Media Fill</i>	94

Tabela 4.38 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Ar, com placas de sedimentação, na Linha 2 do INJ2 da UP, durante o <i>Media Fill</i>	94
Tabela 4.39 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose de Superfícies, com placas de contacto, na Linha 2 do INJ2 da UP, durante o <i>Media Fill</i>	95
Tabela 4.40 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Fardamento, com placas de contacto, na Linha 2 do INJ2 da UP, durante o <i>Media Fill</i>	95
Tabela 4.41 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Ar, com placas de sedimentação, no INJ3 da UC, durante o <i>Media Fill</i>	95
Tabela 4.42 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose de Superfícies, com placas de contacto, no INJ3 da UC, durante o <i>Media Fill</i>	96
Tabela 4.43 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Fardamento, com placas de contacto, no INJ3 da UC, durante o <i>Media Fill</i>	96

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

APA	– Área de Processamento Asséptico
CCS	– Estratégia de Controlo de Contaminação, do inglês <i>Contamination Control Strategy</i>
CQ	– Controlo de Qualidade
CP	– Controlo Positivo
Col	– Colaborador
DQ	– Qualificação de <i>Design</i> , do inglês <i>Design Qualification</i>
ECHA	– Agência Europeia de Substâncias Químicas, do inglês <i>European Chemicals Agency</i>
FLP	– Formas Líquidas e Pastosas
FMEA	– Análise de Modo e Efeito de Falha, do inglês <i>Failure Mode And Effect Analysis</i>
FSO1	– Formas Sólidas Oraís Gerais
FSO2	– Formas Sólidas Oraís Penicilínicas
FSO3	– Formas Sólidas Oraís Cefalosporínicas
FTA	– Árvore de Análise de Falhas, do inglês <i>Fault Tree Analysis</i>
GMP	– Boas Práticas de Fabrico, do inglês <i>Good Manufacturing Practices</i>
HACCP	– Análise de Perigos e Controlo de Pontos Críticos, do inglês <i>Hazards Analysis and Critical Control Points</i>
HAZOP	– Análise de Perigos Operacionais, do inglês <i>Hazards and Operability Study</i>
INJ2	– Departamento de Produção de Injetáveis Penicilínicos
INJ3	– Departamento de Produção de Injetáveis Cefalosporínicos
IB	– Indicador Biológico
IQ	– Qualificação de Instalação, do inglês <i>Installation Qualification</i>
IQu	– Indicador Químico
OQ	– Qualificação de Operação, do inglês <i>Operational Qualification</i>
PC	– Placa de Contacto
PQ	– Qualificação de <i>Performance</i> , do inglês <i>Performance Qualification</i>
QMR	– Gestão de Riscos e Qualidade, do inglês <i>Quality Risk Management</i>
RPN	– Número Prioritário de Risco, do inglês <i>Risk Priority Number</i>
UC	– Unidade de Cefalosporinas
UFC	– Unidades Formadoras de Colónias
UP	– Unidade de Penicilinas

1.

ENQUADRAMENTO E OBJETIVOS

1.1 Laboratórios Atral, S.A.

Os laboratórios Atral, S.A., originalmente uma farmácia fundada em 1947 em Alcântara, são um grupo farmacêutico dedicado à produção e desenvolvimento de medicamentos de uso humano, de uso veterinário e de suplementos alimentares, tendo sido precursores, em Portugal, na produção de antibióticos [1, 2].

Na década de 60, o Atral mudou-se para novas instalações na Vala do Carregado, integrando o grupo AtralCipan durante 5 décadas, até 2016, data em que o grupo foi desintegrado e o Atral foi adquirido pelo grupo Medifarma, líder do mercado farmacêutico peruano [3, 4]. Esta compra permitiu a ampliação da capacidade dos laboratórios, nomeadamente nas áreas das penicilinas e das cefalosporinas.

Em 2021, os laboratórios Atral entraram no mercado de dermocosméticos através da aquisição da marca portuguesa de produtos para cuidados da pele, a Barral, expandindo o portefólio do Atral e consolidando o estatuto de uma das maiores farmacêuticas do país [3, 4].

A unidade fabril dos laboratórios Atral está dividida em três edifícios de produção segregados de forma a evitar contaminação cruzada. Cada edifício tem 2 setores de produção que se encontram apresentados em seguida [5, 6, 7]:

- **Edifício 10 - Unidade Geral:**
 - FSO1: Formas Sólidas Orais Gerais – Produção de saquetas, comprimidos e cápsulas;
 - FLP: Formas Líquidas e Pastosas – Produção de cremes e pomadas (entre as quais a linha da Barral), xaropes, soluções orais, *sprays* nasais, supositórios e óvulos;
- **Edifício 25 - Unidade de Penicilinas (UP):**
 - FSO2: Formas Sólidas Orais Penicilínicas – Produção de saquetas, comprimidos, cápsulas e suspensões orais penicilínicas;
 - INJ2: Injetáveis Penicilínicos – Preparação e enchimento de pós penicilínicos para uso injetável, em duas linhas de produção distintas (Linha 1 e Linha 2);

- **Edifício 40 - Unidade de Cefalosporinas (UC):**

- FOS3: Formas Sólidas Orais Cefalosporínicas – Produção de comprimidos, cápsulas e suspensões orais cefalosporínicas;
- INJ3: Injetáveis Cefalosporínicos – Enchimento de pós cefalosporínicos para uso injetável;

Adicionalmente, no edifício 10, encontram-se os setores da garantia da qualidade, controlo de qualidade, desenvolvimento galénico e a oficina de manutenção.

Os setores com áreas assépticas da unidade fabril são os setores de preparação e enchimento de pós estéreis (INJ2 - Linha 1 e 2 e INJ3) e a microbiologia, pertencente ao controlo de qualidade.

1.2 Motivação

A preparação e enchimento de frascos de pó para soluções ou suspensões injetáveis extemporâneas, nos setores de injetáveis penicilínicos e cefalosporínicos da unidade fabril, realiza-se em zonas assépticas onde a esterilidade das matérias-primas (substância ativa e excipientes), do material de embalagem primário e da forma final do fármaco tem de ser assegurada de forma a salvaguardar a saúde dos pacientes, eliminando qualquer risco de contaminação microbiana, de partículas ou de endotoxinas/pirogênicos.

A produção de medicamentos estéreis engloba o *design* e construção de instalações adequadas, a utilização de sistemas de filtração de utilidades, o controlo microbiológico permanente do ambiente e operações, a formação e qualificação dos operadores e equipamentos envolvidos e a existência de protocolos claros e objetivos, de acordo com as Boas Práticas de Fabrico (GMP), de forma a garantir a qualidade do produto estéril e a segurança dos pacientes. Em particular, a produção de medicamentos estéreis deve cumprir o Anexo 1 das Boas Práticas de Fabrico do Eudralex, intitulado *Manufacture of Sterile Medicinal Products*, onde se encontra a legislação em vigor para esta prática.

Posto isto, em agosto de 2022, a Comissão Europeia publicou uma nova versão do Anexo 1, onde foram introduzidas e/ou atualizadas diretrizes sobre as práticas de produção de medicamentos estéreis, de acordo com os princípios de Gestão de Riscos e Qualidade (QMR), cuja aplicação tem carácter obrigatório para os produtores de medicamentos estéreis [8].

1.3 Objetivos

O objetivo desta dissertação é analisar o novo Anexo 1 das Boas Práticas de Fabrico, identificar as novas diretrizes que precisam de ser implementadas ou as diretrizes já existentes cuja aplicação deve ser revista e atualizada e garantir a aplicação prática das mesmas nas áreas assépticas de preparação de injetáveis da unidade fabril (INJ2 e INJ3) e na área asséptica do setor de microbiologia, pertencente ao controlo de qualidade, até à data-limite da implementação da legislação, 25 de agosto de 2023.

Em concreto, com esta dissertação, pretende-se:

- Avaliar a eficiência da estratégia de controlo de contaminação (diretriz 2.3);
- Validar o processo de entrada de materiais nas áreas de processamento asséptico por desinfecção (diretriz 4.11) e o método de estanquicidade para a verificação da integridade do sistema de fecho dos frascos de injetáveis (diretriz 8.19);
- Qualificar e validar os sistemas de desinfecção aérea com peróxido de hidrogénio da linha 1 do setor de injetáveis penicilínicos e da microbiologia (diretriz 4.36);
- Elaborar procedimentos de montagem de equipamento estéril (diretriz 8.12);
- Implementar um registo de monitorização de operações assépticas e pôr em prática a supervisão das mesmas (diretriz 8.19);
- Definir, com base no risco, a periodicidade da realização do teste de integridade de filtros de utilidades (diretrizes 8.87-8.89);
- Avaliar a relevância da implementação de uma estratégia de monitorização microbiológica das linhas de preparação de injetáveis em ambiente de anaerobiose (diretriz 9.36);

2.

ESTADO DA ARTE

2.1 Vias de Administração de Medicamentos

A via de administração de medicamentos traduz-se no meio utilizado para contactar o medicamento com o paciente. Em termos de classificação da rota de administração podem considerar-se 3 categorias principais (enteral, tópica e parenteral). A escolha entre estas vias de administração depende de diversos fatores como, as propriedades do fármaco, a duração do efeito desejado, a urgência da administração e o estado do paciente.

- **Administração Enteral:**

Esta via de administração envolve a absorção do medicamento no trato gastrointestinal e subdivide-se na via oral, via sublingual ou bucal e via retal. A via oral é a rota de administração mais comum e tem como vantagens a simplicidade e conveniência de administração. Para ser possível administrar medicação por esta via, é preciso garantir que não causa irritação ao trato gastrointestinal e que as mudanças de pH ao longo do mesmo não prejudicam a qualidade do comprimido/cápsula até ao local de absorção pretendido, podendo ser necessária a aplicação de um revestimento. A maioria dos medicamentos administrados oralmente são primariamente absorvidos no intestino delgado [9]. Este método de administração tem como desvantagens só ser possível quando o paciente está consciente e depender da capacidade que o paciente demonstra em engolir medicação (normalmente pessoas idosas e crianças têm dificuldades) [10].

A administração sublingual (por baixo da língua) ou bucal (entre a bochecha e a gengiva) aplica-se a drogas com baixa biodisponibilidade oral, sendo necessário serem lipofílicas, de absorção rápida (mais lenta por via bucal do que por via sublingual) e não devem deixar vestígios na boca do paciente. Aquando da administração destes medicamentos, o paciente não deve ingerir líquidos ou sólidos [9], [10]. Por último, a via retal de administração, tipicamente supositórios, é útil quando o paciente é incapaz de tomar medicação oral (pacientes inconscientes ou com vômitos) ou quando se pretende um efeito tópico local. A absorção é feita pela mucosa retal e cerca de 50% da dosagem evita o metabolismo do fígado, tendo como desvantagem ser irregular e incompleta [9, 10].

- **Administração Tópica/Transdérmica:**

A via de administração transdérmica ou tópica traduz-se na aplicação direta do fármaco na pele do paciente, possibilitando uma absorção constante e prolongada que resulta numa libertação controlada. Nesta categoria inserem-se, por exemplo, cremes, pomadas, géis, *sprays* e adesivos. Este mecanismo de administração baseia-se na penetração da droga pela epiderme (camada superficial da pele) e na permeação percutânea que envolve a difusão passiva do medicamento pelas camadas da pele. Para tal, é necessário desenhar o medicamento de forma a garantir que seja simultaneamente solúvel em água e lípidos. Se o fármaco for absorvido por recetores ou canais de iões na epiderme (permeação transepidermal) o efeito será local e se for absorvido por folículos capilares e glândulas sudoríparas (permeação transfolicular) o efeito será mais duradouro. Estes medicamentos são uma boa alternativa à via oral uma vez que são de fácil aplicação, não causam desconforto digestivo e, no caso de adesivos, podem ser removidos se for necessário interromper a administração [11, 12, 13].

- **Administração Parenteral:**

O sistema de administração de fármacos por via parenteral é efetuado por injeções que podem ser, de modo geral, subcutâneas (sob a pele), intramusculares (no músculo) ou intravenosas (na veia). Este método permite a administração direta da droga no sangue, sendo por isso, a via mais rápida e com a rota de administração mais bem definida, não havendo possibilidade de interferência do metabolismo do fígado. Ao contrário das limitações impostas por drogas administradas pelas vias supramencionadas, as injeções podem ser dadas a pacientes inconscientes, não cooperativos ou com o trato gastrointestinal facilmente irritável, sendo que, numa urgência, não é necessário o paciente estar em jejum (condição necessária em algumas das drogas administradas por via enteral). Para além disto, as injeções permitem a administração de drogas pouco compatíveis com o trato gastrointestinal, quer por existir uma absorção reduzida, quer por serem instáveis quando suscetíveis às mudanças de acidez ao longo do trato gastrointestinal, como por exemplo, a insulina [11].

Este mecanismo não deixa de ter desvantagens nomeadamente por ser uma técnica invasiva e dolorosa que apresenta mais riscos que as anteriores e pode danificar o tecido no local da injeção. Para além disso, na maioria dos casos, o paciente não pode administrar a injeção sozinho e é preciso a deslocação a um estabelecimento de saúde apropriado. Em termos monetários, o custo de medicamentos injetáveis é superior em relação aos restantes, uma vez que, por serem injetados diretamente no sistema circulatório do paciente é necessário garantir a esterilidade dos mesmos através de uma preparação e produção em condições assépticas [11].

Relativamente ao local de aplicação, as injeções intravenosas têm a vantagem de introduzir o fármaco diretamente na corrente sanguínea, sendo ideais para emergências dado a rápida ação. Este

mecanismo permite a administração de soluções hipertônicas e de fármacos que causem irritação ao trato gastrointestinal ou quando injetados via intramuscular ou subcutânea (como é o exemplo de injeções de gluconato de cálcio) e, como ultrapassa o metabolismo pré-sistêmico, a biodisponibilidade da droga é de 100% e a dose necessária é reduzida. Esta via é, no entanto, a que apresenta maior risco ao paciente, por expor os órgãos vitais a uma concentração elevada de droga que não pode ser removida em caso de contaminação microbiológica ou de partículas, que pode causar um embolismo fatal. Existe ainda a possibilidade de ocorrência de uma trombose venosa da veia que recebeu a injeção, caso se observe extravasamento da solução, ou de hemólise, se a injeção for dada demasiado rápido [11, 14].

As injeções intramusculares podem ser aplicadas em diversos músculos como os tríceps, o músculo deltoide e o músculo do glúteo máximo cuja elevada vascularidade permite uma rápida absorção da droga pretendida e o número reduzido de nervos sensoriais previne o desconforto. Ao contrário das injeções intravenosas, as intramusculares podem ser administradas em forma de suspensão o que possibilita uma libertação constante e prolongada por precipitação do fármaco. A necessidade de injeção no músculo impossibilita que a mesma seja realizada pelo paciente, sendo necessário o auxílio de um profissional adequado. Adicionalmente, o local de injeção pode ficar inchado e existe a possibilidade de danificação dos nervos. Esta via é comumente utilizada para administrar testosterona, antieméticos e antibióticos [11].

A aplicação mais segura de injeções é através da via subcutânea que pode ser administrada pelo próprio paciente e permite um efeito prolongado, através do uso de suspensões. A velocidade de absorção do fármaco é inferior às outras rotas de injeção e não é possível a administração de fármacos irritantes [11]. Embora menos comuns, as injeções parenterais podem ainda ser aplicadas no espaço subaracnóideo ou no espaço peritoneal [11].

2.2 Boas Práticas de Fabrico na Indústria Farmacêutica

As Boas Práticas de Fabrico para a produção de medicamentos de uso humano e veterinário constam no volume 4 do EudraLex publicado pela Comissão Europeia [15] e consistem num sistema de regras que garantem que medicamentos são desenvolvidos, produzidos e distribuídos de forma segura, pura e eficaz, através de uma abordagem de qualidade à produção de forma a minimizar ou eliminar potenciais riscos de contaminação. Algumas das GMPs aplicadas à indústria farmacêutica são [15, 16]:

- Revisão frequente dos processos em vigor de forma a garantir que a eficácia no cumprimento da função seja comprovada e os riscos associados aos processos analisados e minimizados;

- Os resultados da monitorização do processo e produto devem ser considerados durante a libertação do lote, sendo que qualquer desvio deve ser analisado de forma a prevenir uma ocorrência futura;
- Após a implementação de qualquer mudança, deve ser efetuada uma avaliação para garantir que a qualidade do produto não foi prejudicada;
- Os equipamentos, sistemas, processos e respetivos controlos devem ser qualificados e validados;
- A venda e/ou distribuição de medicamentos só é permitida após uma pessoa qualificada certificar que o lote foi produzido e controlado de acordo com os requisitos impostos pela legislação existente;
- Execução de auditorias externas e internas que analisem a efetividade do sistema de qualidade implementado;
- Exame de qualquer queixa relativa ao produto com a apuração das possíveis causas do defeito e implementação de medidas corretivas.

2.2.1 A Evolução do Anexo 1: *Manufacture of Sterile Medicinal Products*

O Anexo 1 das Boas Práticas de Fabrico para produtos de uso médico e veterinário é dedicado à produção de produtos medicinais estéreis, tendo sido publicado originalmente em setembro de 2003 e revisto em 2007. Com a constante evolução tecnológica e de modo a combater ambiguidades previamente descritas, este documento sofreu uma extensa revisão em 2022, contendo atualmente um conjunto de diretrizes aplicáveis não só à produção de medicamentos estéreis como também à produção de outras formas farmacêuticas onde o controlo e redução de contaminação microbiológica é desejável [8, 17].

De forma a compreender a importância das medidas implementadas nesta dissertação e as principais diferenças entre as mesmas nas 3 versões publicadas do Anexo 1 apresenta-se na Tabela 2.1 uma comparação entre a legislação existente em cada uma das versões deste anexo.

Denote-se que existem diversos temas abordados no Anexo 1 que sofreram alterações e que não fazem parte do âmbito desta dissertação não estando, por isso, presentes nesta comparação como é o caso de produtos esterilizados terminalmente e esterilização por radiação ou com óxido de etileno.

Tabela 2.1 – Evolução do Anexo 1 (Parte 1/4)

Versão original (2003) [18]	Versão de 2007 [19]	Versão atual (2022) [8]
Diretriz não abordada nesta versão.	Diretriz não abordada nesta versão.	2.3: Deve ser implementada, na unidade fabril, uma estratégia de controlo de contaminação (CCS) que defina todos os pontos de controlo críticos e avalie a eficiência dos controlos existentes, bem como inclua as medidas de monitorização empregues para gerir os riscos existentes. A CCS deve ser revista ativamente e, quando adequado, atualizada. A eficiência da CCS deve ser verificada periodicamente.
53: Componentes, equipamentos, recipientes e qualquer outro artigo necessário na zona limpa onde existe processamento asséptico deve ser esterilizado e transferido por esterilizadores de dupla extremidade selados na parede ou por um procedimento que alcance o mesmo objetivo de não introduzir contaminação.	81: Componentes, equipamentos, recipientes e qualquer outro artigo necessário na zona limpa onde existe processamento asséptico deve ser esterilizado e transferido por esterilizadores de dupla extremidade selados na parede ou por um procedimento que alcance o mesmo objetivo de não introduzir contaminação.	4.11: <u>A transferência de materiais, equipamentos e componentes para áreas de classe A ou B deve ser um processo unidirecional.</u> Quando possível, os materiais devem ser esterilizados e transferidos para estas áreas através de esterilizadores de dupla extremidade. <u>Quando a esterilização não é possível,</u> deve ser adotado um procedimento com o mesmo objetivo de não introduzir contaminação. <u>Este procedimento deve ser validado e implementado.</u> <u>A saída de materiais de zonas de classe A ou B deve ser um processo unidirecional. Quando não é possível, deve existir um controlo que assegure um desfaseamento temporal entre a entrada e saída de materiais.</u>

Tabela 2.1 – Evolução do Anexo 1 (Parte 2/4)

Versão original (2003) [18]	Versão de 2007 [19]	Versão atual (2022) [8]
Os locais de amostragem para a qualificação de zonas limpas não são abordados.	4: A qualificação de zonas limpas deve seguir a regulação em ISO 14644 Parte 1. 5: (...) A metodologia para a qualificação descrita em ISO 14644 Parte 1, define o número mínimo de locais de amostragem.	4.28: Para a qualificação de zonas limpas, o número mínimo de locais de amostragem e respectivo posicionamento deve seguir a regulação descrita em ISO 14644 Parte 1. <u>Para áreas de processamento asséptico e respetivo background (áreas de classe A e B, respetivamente) devem ser considerados e utilizados pontos de amostragem adicionais em todas as zonas críticas de processamento. Estas zonas devem ser determinadas por análises de risco documentadas.</u>
37: A higienização de áreas limpas é particularmente importante. A limpeza destas áreas deve seguir um programa escrito. Quando são usados desinfetantes, deve ser empregue mais de que um tipo. Deve ser realizada monitorização frequente para detetar o desenvolvimento de estripes resistentes.	62: A higienização de áreas limpas é particularmente importante. A limpeza destas áreas deve seguir um programa escrito. Quando são usados desinfetantes, deve ser empregue mais de que um tipo. Deve ser realizada monitorização frequente para detetar o desenvolvimento de estripes resistentes.	4.33: A desinfecção de salas limpas é particularmente importante. <u>A limpeza e desinfecção destas salas deve seguir um programa escrito. Para a desinfecção ser eficaz, deve ser realizada uma limpeza prévia. Os programas de limpeza devem remover resíduos de desinfetante. Deve ser utilizado mais de um tipo de desinfetantes diferentes, com modo de ação diferentes, para garantir que o uso combinado é eficaz contra bactérias e fungos. A desinfecção deve incluir, periodicamente, o uso de um agente esporicida. Deve ser realizada monitorização frequente para avaliar a efetividade do programa de desinfecção e as alterações da flora microbiana.</u>

Tabela 2.1 – Evolução do Anexo 1 (Parte 3/4)

Versão original (2003) [18]	Versão de 2007 [19]	Versão atual (2022) [8]
39: A fumigação de áreas limpas pode ser útil para reduzir contaminação microbiológica em locais inacessíveis.	63: A fumigação de áreas limpas pode ser útil para reduzir contaminação microbiológica em locais inacessíveis.	4.36: Quando as áreas limpas e superfícies associadas são fumigadas ou desinfetadas por vapor, <u>a efetividade do agente de fumigação e do sistema de dispersão deve ser compreendida e validada.</u>
Diretriz não abordada nesta versão.	Diretriz não abordada nesta versão.	8.12: O desembulhar, a montagem e a preparação de equipamento, componentes e materiais auxiliares estéreis, com contacto direto ou indireto com o produto, devem ser tratados como uma operação asséptica e realizados em classe A com <i>background</i> de classe B. A montagem da linha de enchimento do produto estéril deve ser tratada como um processo asséptico e realizada em classe A com <i>background</i> de classe B.
Diretriz não abordada nesta versão.	Diretriz não abordada nesta versão.	8.23: Quando o produto não é fechado por fusão, devem ser retiradas amostras do produto e a sua integridade deve ser verificada através de métodos validados.
Diretriz não abordada nesta versão.	Diretriz não abordada nesta versão.	8.19: Operações assépticas (incluindo simulações do processo asséptico) devem ser observadas regularmente por pessoas com conhecimento em processamento asséptico de forma a se verificar se as operações assépticas estão a ser executadas corretamente, incluindo o comportamento asséptico de operadores e práticas inapropriadas, se detetadas, devem ser abordadas.

Tabela 2.1 – Evolução do Anexo 1 (Parte 4/4)

Versão original (2003) [18]	Versão de 2007 [19]	Versão atual (2022) [8]
85: A integridade de filtros estéreis deve ser verificada antes de uso e confirmada após uso, através de métodos apropriados como o teste do ponto de bolha. A integridade de filtros de ar e gás críticos deve ser confirmada após uso. A integridade de outros filtros deve ser confirmada em intervalos apropriados.	113: A integridade de filtros estéreis deve ser verificada antes de uso e confirmada após uso, através de métodos apropriados como o teste do ponto de bolha. A integridade de filtros de ar e gás críticos deve ser confirmada após uso. A integridade de outros filtros deve ser confirmada em intervalos apropriados.	8.87: Filtros estéreis utilizados para esterilizar um produto devem ser sujeitos a um teste de integridade não destrutivo, antes e após uso. O teste de integridade deve estar validado. 8.88: A integridade de filtros críticos (diretamente relacionados com a esterilidade do produto) deve ser verificada após uso. 8.89: A integridade de filtros não críticos deve ser verificada e registada em intervalos apropriados. <u>A máxima duração de uso deve ser especificada e monitorizada, com base no risco.</u>
4: Os limites de ação de contaminação microbológica para classe A de amostragens com amostrador de ar, placas de sedimentação e placas de contacto em superfícies e nas luvas do operador são de, em média, <1 UFC.	19: Os limites de ação de contaminação microbológica para classe A de amostragens com amostrador de ar, placas de sedimentação e placas de contacto em superfícies e nas luvas do operador são de, em média, <1 UFC.	9.30: Os limites de ação de contaminação microbológica para classe A de amostragens com amostrador de ar, placas de sedimentação e placas de contacto em superfícies e nas luvas do <u>operador são de 0 UFC. *</u>
Diretriz não abordada nesta versão.	Diretriz não abordada nesta versão.	9.36 (v): O plano de simulação asséptica deve incluir a necessidade de substituição de qualquer gás inerte usado na rotina de operação asséptica normal por ar, excetuando quando se pretende realizar uma simulação anaeróbica. Nestes casos, deve ser considerado incluir ocasionalmente uma simulação anaeróbia como parte da validação da simulação do processo asséptico.

*Denote-se que a implementação desta diretriz foi direta e imediata, sendo todos os resultados de monitorização microbiológica abordados nesta dissertação avaliados de acordo com este critério.

Como se pode observar na Tabela 2.1 a nova versão do Anexo 1 aborda problemáticas que previamente não eram analisadas e cuja implementação é imprescindível para a redução do risco de contaminação e para a segurança e qualidade do produto, como por exemplo, a classificação da montagem de equipamento estéril e da linha de enchimento como um procedimento asséptico (diretriz 8.12). Para além das diretrizes novas, a atualização de diretrizes existentes combate ambiguidades e exprime de forma clara e objetiva os deveres dos produtores de medicamentos estéreis, como é o caso da atualização da diretriz 81 da versão de 2007 para a diretriz 4.11 do novo anexo 1, onde a entrada de materiais para zonas limpas pode ser por esterilização ou por outro procedimento, passando a ser obrigatório que seja por esterilização, sempre que possível, para zonas de classe A ou B. Quando não é possível, o procedimento alternativo adotado deve ser validado.

Posto isto, destaca-se a importância que a nova versão do Anexo 1 dá à aplicação dos princípios de Gestão de Riscos e Qualidade (QRM), descritos em detalhe na diretriz ICH Q9, no processo, equipamentos e procedimentos, à validação de procedimentos e sistemas adotados para a redução de contaminação microbiológica e para a verificação de integridade do produto e de equipamentos e para a imposição da implementação de uma Estratégia de Controlo de Contaminação em toda a instalação com o objetivo de definir todos os pontos críticos do processo e avaliar a efetividade das medidas de controlo e monitorização empregadas para mitigar os riscos e garantir a qualidade e segurança do produto [8].

2.3 Gestão de Riscos e Qualidade

Na indústria farmacêutica, a gestão de riscos e qualidade é um processo contínuo de minimização de riscos, definidos como a combinação entre a probabilidade e efeito de um dano, ao longo do ciclo de vida do produto de forma a salvaguardar a qualidade, segurança e confiabilidade do mesmo [20]. Para alcançar uma gestão de riscos efetiva é necessário ter uma perspetiva global do produto e respetivo processo de fabrico, pensar preventivamente nas incertezas e possibilidades de falha, ter uma comunicação aberta com os operadores envolvidos no processo e cujo conhecimento é essencial e monitorizar continuamente o processo e os potenciais perigos [21]. Assim, a gestão de riscos e qualidade é um processo sistemático de avaliação, controlo, comunicação e revisão de riscos a que um medicamento é sujeito, a gestão de riscos tem por base 5 etapas essenciais descritas em seguida [20, 22, 23].

○ Identificação de Riscos:

Recolha de informação através do conhecimento do processo, registos de incidentes, conversas com os operadores, entre outros, para a identificação dos riscos (legais, ambientais, de segurança, entre outros);

- **Análise de Risco:**

Compreensão dos riscos identificados, como por exemplo, determinação das causas, do impacto, da probabilidade e/ou da severidade.

- **Avaliação dos Riscos:**

Comparação e classificação dos riscos identificados de acordo com a sua prioridade e escolha da resposta mais adequada entre aceitação ou mitigação (prevenção, controlo ou transferência). A aceitação de um risco é a decisão de considerar que o risco está a um nível baixo aceitável e que não é viável implementar medidas de mitigação. O controlo do risco pode traduzir-se em alterações no processo ou sistema que eliminem ou reduzam o risco, a implementação de programas de manutenção, monitorização e formação que diminuam a probabilidade de ocorrência do risco ou a elaboração de planos de contingência para decrescer a severidade do risco. A transferência do risco envolve a introdução de uma entidade exterior ao processo que se encarregue do risco, como por exemplo, uma seguradora. A prevenção do risco é a escolha de alterar o processo de forma a não realizar a atividade que conduz ao risco, através de caminhos alternativos que levem ao mesmo resultado.

- **Monitorização e Revisão dos Riscos:**

Após implementada a resposta, deve ser efetuada a monitorização do processo/sistema que permita a deteção de qualquer alteração ou reincidência de riscos.

Em suma, a gestão de riscos e qualidade auxilia a tomada de decisões, aumentando o nível de segurança que a empresa deposita no processo de fabrico de um medicamento e assegurando que as medidas implementadas são adequadas para responder aos potenciais riscos existentes.

2.3.1 Análises de Risco

Através de uma abordagem qualitativa ou quantitativa, uma análise de risco identifica, quando possível, fatores como a severidade do risco, as possíveis causas e as medidas de controlo existentes, que podem permitir determinar a probabilidade e a detetabilidade do risco [22, 23]. Existem várias ferramentas de análise de risco que se resumem em seguida:

- **Análise de Modo e Efeito de Falha (FMEA):**

Este método avalia os potenciais efeitos de falha de um equipamento/sistema e as respetivas consequências, permitindo tomar medidas de prevenção e minimizar o risco. Para tal, utiliza-se uma abordagem proativa de *bottom-up*, ou seja, inicia-se ao nível dos componentes e examina-se o impacto da falha de cada um no processo geral [20, 23, 24].

A FMEA aplica três fatores de risco: ocorrência (O), severidade (S) e detecção (D). A ocorrência traduz-se na frequência dos riscos, a severidade é o nível de gravidade que o risco impõe ao sistema e a detecção baseia-se nos meios existentes para prever a ocorrência dos riscos. Estes fatores permitem o cálculo o *Risk Priority Number* (RPN) de cada falha encontrada (Equação 2.1), possibilitando o estabelecimento de uma escala de prioridade de minimização dos riscos que facilita a tomada de decisões. Em suma, quanto maior for o RPN de uma falha, maior o impacto no processo e maior a necessidade de minimização do risco [24, 25].

$$RPN = Severidade (S) \times Ocorrência (O) \times Detecção (D) \quad (\text{Equação 2.1})$$

Como todos os métodos, a análise de modo e efeito de falha não deixa de ter as suas desvantagens, nomeadamente, diferentes combinações dos fatores S,O e D podem resultar em valores de RPN idênticos e colocar as respetivas falhas ao mesmo nível de importância, no entanto, tal pode não corresponder à realidade porque o grau de importância destes fatores podem variar. Adicionalmente, existem fatores como erros acidentais e incertezas processuais que não são contabilizados nesta análise [25, 26].

- **Árvore de Análise de Falhas (FTA):**

A árvore de análise de falhas é uma ferramenta sistemática que parte de um evento principal (falha num processo ou sistema) e utiliza lógica dedutiva para determinar os possíveis eventos de falha, individuais ou combinados, com o intuito de alcançar a raiz do problema, sendo por isto uma análise *top to bottom*, ao contrário da FMEA. É adequada para a investigação de desvios ou falhas de um processo/sistema e queixas na qualidade do produto, não sendo normalmente utilizada de forma preventiva, e requerendo conhecimento profundo do processo/sistema [20, 23, 24].

O resultado de uma FTA é uma representação visual dos modos de falha de um sistema que pode ser puramente qualitativa ou quantitativa. Numa análise qualitativa, os possíveis eventos de falha são investigados e excluídos até se apurar os eventos falha que poderão ter acontecido de facto. Numa FTA quantitativa são determinadas as probabilidades de ocorrência de cada evento de falha e em consequente a frequência da ocorrência do evento principal. Em ambos os casos, o objetivo da análise é apurar as falhas que conduziram ao evento principal indesejado e implementar medidas para minimizar as mesmas [26] .

- **Hazards Analysis and Critical Control Points (HACCP):**

A metodologia desta análise de risco tem como objetivo prevenir riscos conhecidos e reduzir os riscos cuja ocorrência em pontos específicos do processo de produção é dada como praticamente certa, através de uma abordagem sistemática, proativa e preventiva [21, 23].

A implementação desta ferramenta começa pela condução de uma análise onde se identificam medidas preventivas para cada etapa do processo, determinando-se os pontos de controlo críticos e se estabelecem limites críticos. Com isto, define-se um sistema de monitorização dos pontos de controlo críticos do processo e a respetiva ação corretiva quando a monitorização indica uma não conformidade, ou seja, quando os limites críticos são ultrapassados o que implica que os pontos de controlo crítico estão fora de controlo. Por fim, estabelece-se um sistema de verificação do funcionamento do sistema HACCP, mantendo-se um registo de todos os pontos de controlo críticos que são monitorizados e das ações corretivas adotadas para corrigir potenciais problemas [21, 23].

O uso desta ferramenta é adequado para identificar e controlar riscos físicos, químicos e biológicos em processos bem caracterizados, quando a equipa responsável pela análise possui conhecimentos profundos do mesmo e é ideal para complementar a validação de processos. Por exigir a implementação de controlos em diversos locais do processo e uma equipa de pessoal qualificado, esta ferramenta de análise de risco pode ser dispendiosa [21, 27].

- ***Hazards and Operability Study (HAZOP):***

Uma análise HAZOP é definida em *Dunjó. et all* como uma aplicação de uma examinação formal, sistemática e crítica a um processo e às respetivas intenções de engenharia de uma nova ou existente unidade fabril de forma a avaliar o potencial do mau funcionamento de peças individuais de equipamento e os consequentes efeitos na unidade fabril [28].

Para tal, os diagramas de fluxo de processo (PFD) e de tubulação e instrumentação (P&ID) são analisados ao pormenor por uma equipa de operadores qualificados. Ao selecionar um equipamento, como por exemplo um tanque de armazenamento de uma matéria-prima, estuda-se a consequência de desvios simples como ‘mais e menos’ em diversos parâmetros de operação como temperatura, pressão e fluxo e o respetivo impacto na segurança da unidade fabril, no ambiente circundante e na segurança dos trabalhadores [28, 29]. A elaboração da HAZOP inclui ainda a verificação dos controlos implementados para monitorizar/prevenir os desvios e conduz à recomendação de procedimentos e sistemas que permitam evitar ou minimizar os efeitos dos mesmos [28, 29].

2.4 Validação e Qualificação

A validação de um processo, na indústria farmacêutica, é o estabelecimento de provas documentais, de acordo com o Anexo 15 das Boas Práticas de Fabrico do EudraLex [30], de que o processo é eficaz na produção de um medicamento dentro das especificações pré-estabelecidas e com a qualidade pretendida. A validação de um processo inclui a validação dos métodos analíticos utilizados durante o mesmo, bem como a qualificação dos equipamentos envolvidos e a validação dos procedimentos de limpeza

implementados nas salas e equipamentos necessários à produção. Assim, a validação do processo, fornece um nível elevado de segurança no mesmo, em relação à capacidade de execução da tarefa pretendida.

- **Validação de Métodos Analíticos:**

Antes de implementar um método analítico, é necessário comprovar que este cumpre com os requisitos legais e de qualidade existentes, garantindo que o seu uso é adequado para a avaliação da qualidade e segurança do produto final. Por norma, a validação de um método analítico tem de assegurar a sua sensibilidade, especificidade, exatidão, precisão e reprodutibilidade. Adicionalmente, um procedimento analítico deve ser alvo de validação sempre que as condições em que o método foi validado forem alteradas ou quando o método em si sofrer alterações [27, 30, 31].

- **Validação de Limpeza:**

Após utilização para produção de medicamentos, os equipamentos devem ser limpos adequadamente de forma a garantir que não existe contaminação microbiológica e resíduos do medicamento fabricado antes da próxima utilização. O procedimento de limpeza é essencial para assegurar a pureza e qualidade do produto e segurança do recetor final. Posto isto, a validação de limpeza consiste na avaliação da eficácia do método de limpeza adotado, relativamente à remoção de resíduos de produto, excipientes e agentes de limpeza e à eliminação de contaminação microbiológica [30, 31].

- **Qualificação de Equipamentos:**

A validação de equipamentos ou sistemas é denominada de qualificação e tem como objetivo garantir que o equipamento está apto a ser instalado e utilizado, de acordo com as especificações exigidas e com os resultados esperados [30, 31, 32].

A primeira etapa da qualificação de um equipamento ou sistema é a qualificação de design (DQ), onde se deve garantir que o equipamento cumpre as Boas Práticas de Fabrico e os requisitos impostos pelo utilizador.

Em seguida, efetua-se a qualificação de instalação (IQ) que consiste na verificação de que o fornecedor cumpriu os requisitos exigidos pelo utilizador, como por exemplo, no que diz respeito a materiais de construção e utilidades.

Na qualificação de operação (OQ) confirma-se que o equipamento tem a capacidade de realizar as operações especificadas em condições normais e extremas de trabalho e planeiam-se os procedimentos de limpeza, utilização e manutenção preventiva.

Por último, é necessário garantir que o propósito do equipamento é cumprido. Para tal, o equipamento é testado em condições reais de operação ou simulações aprovadas e a sua eficácia e reprodutibilidade são comprovados. Esta etapa denomina-se qualificação de *performance* ou de desempenho (PQ) e após a sua conclusão o equipamento encontra-se qualificado e pode ser implementado no processo a que se destina.

Posto isto, a validação de um processo e de todos os equipamentos e procedimentos aplicados durante o mesmo, fornece um elevado grau de confiança ao fabricante da capacidade de produção consistente do medicamento pretendido dentro dos limites especificados [30, 31].

2.5 Limpeza e Desinfecção

A prática de limpeza e desinfecção regular das zonas limpas, equipamentos e materiais é imprescindível para reduzir contaminação existente e prevenir contaminação cruzada. Posto isto, o Anexo 1 contém diversas diretrizes que estes processos devem cumprir para assegurar a qualidade do produto.

A limpeza consiste na remoção de sujidade e resíduos de superfícies até estarem visualmente limpas, através da ação de detergentes que penetram nos resíduos, reduzindo a tensão superficial e permitindo a remoção dos mesmos. A eliminação dos resíduos (como por exemplo, de produto) possibilita a exposição dos microrganismos aos agentes de desinfecção, cuja função é reduzir o número de microrganismos existentes através da destruição ou inativação dos mesmos. Assim, para alcançar um processo de desinfecção eficaz é necessária uma limpeza prévia [33, 34].

Para definir o processo de limpeza mais adequado para cada superfície devem ser considerados fatores como o material de construção, o grau de utilização da superfície e o risco de contaminação que apresenta. Adicionalmente, os procedimentos de limpeza de equipamentos devem ser validados [33].

A desinfecção é realizada em ciclos, com validade definida, e cada ciclo deve incluir a utilização de, pelo menos, 2 agentes desinfetantes com modos de ação diferentes de forma a garantir que o uso combinado seja eficaz contra uma variedade de microrganismos (bactérias e fungos) e ainda vírus [8]. É de notar que a maioria dos desinfetantes só elimina microrganismos em forma vegetativa, não sendo eficazes contra esporos. Para eliminar completamente microrganismos em forma vegetativa e esporos, o processo adequado denomina-se esterilização [35].

As propriedades ideais de um desinfetante incluem uma gama de atividades abrangente, um tempo de ação curto, um custo reduzido, compatibilidade com diversos materiais, facilidade de uso, segurança para os operadores e equipamentos, estabilidade, possibilidade de diluição e adequabilidade para as temperaturas de operação pretendidas [36]. Não existindo um desinfetante ideal, a escolha dos

desinfetantes a aplicar em cada processo depende da flora microbiana presente e deve ter em consideração os parâmetros supramencionados [34]. Os desinfetantes agrupam-se por classe química de acordo com a Tabela 2.2 [36].

Tabela 2.2 – Classificação de Desinfetantes

Categoria	Mecanismo de Ação e Gama de Atividade	Características	Exemplos
Álcoois	Precipitação de proteínas e desnaturação de lípidos. Elevada atividade antibacteriana e antifúngica.	Ação e evaporação rápida. Não deixam resíduos. Podem causar o endurecimento de borrachas.	Álcool etílico e álcool isopropílico
Aldeídos	Desnaturação de proteínas e alquilação dos ácidos nucleicos. Gama de atividade abrangente.	Ação lenta. Não corrosivos para metais, borracha e plástico. Elevado nível de toxicidade para humanos.	Formaldeído e glutaraldeído
Halogéneos de cloro	Desnaturação de proteínas. Gama de atividade abrangente.	Ação rápida. Corrosivos para metais, borracha e tecidos. Irritação da membrana mucosa.	Hipoclorito de sódio (lixívia) e dióxido de cloro
Halogéneos de iodo	Desnaturação de proteínas. Atividade esporicida variável.	Armazenamento estável. Corrosivos. Requerem aplicação frequente.	Iodopovidona
Compostos de peróxido	Desnaturação de proteínas e de lípidos. Gama de atividade que inclui bactérias, vírus e esporos.	Ação rápida. Baixa toxicidade. Não prejudicam o ambiente. Danificam alguns metais (ex. cobre e chumbo).	Peróxido de hidrogénio e ácido peracético
Compostos fenólicos	Desnaturação de proteínas e ruptura de parede celular. Atividade esporicida muito lenta.	Adequados para a desinfeção de superfícies e material orgânico.	Clorocresol
Compostos quaternários	Desnaturação de proteínas e ligação aos fosfolípidos da parede celular. Gama de atividade abrangente.	Armazenamento estável. Eficazes a temperaturas altas. Corrosivos para metais. Inativação por matéria Orgânica e água.	Cloreto de Benzalcónio (Amónio)

2.5.1 Comparação da Desinfecção Aérea com Formaldeído e Peróxido de Hidrogénio

O formaldeído (CH_2O) é tipicamente armazenado e utilizado em solução aquosa, com 34-38% de formaldeído em peso e entre 6-13% de metanol que atua como estabilizador. Esta solução, denominada de formol, atua como desinfetante ou agente de esterilização no estado líquido ou em combinação com vapor a baixa temperatura [37].

Dada a elevada reatividade, o modo de ação do formaldeído engloba a desativação de proteínas por ligação a grupos amina e a alquilação de grupos carboxilo, sulfidrilo ou hidroxilo de ácidos nucleicos tendo-se ainda demonstrado eficaz na eliminação de esporos bacterianos através da penetração do seu interior, mediante as condições adequadas de temperatura (iguais ou superiores a 40°C). Assim, o uso do formaldeído pode ser vantajoso para a eliminação simultânea de bactérias, vírus e esporos [37, 38].

Apesar das características supramencionadas que tornam o uso de formaldeído como desinfetante/esterilizante atrativo, a Agência Europeia das Substâncias Químicas (ECHA) atualizou, em 2016, a classificação do formaldeído para 1B de substâncias cancerígenas, categoria onde se encontram todos os químicos presumivelmente causadores de cancro, indicando ainda que o formaldeído deve ser tratado como mutagénico para humanos (categoria 2 de mutagénicos) e que existe um perigo elevado de corrosão da pele e tecido ocular para o ser humano em contacto com este composto. Adicionalmente, o formaldeído é tóxico se inalado ou ingerido, podendo ser chegar a ser fatal [39, 40].

A colocação do formaldeído na categoria de substâncias potencialmente cancerígenas é apoiada por diversos estudos que corroboram o perigo desta substância. O primeiro estudo sobre este tema foi efetuado em 1978 pelo Chemical Industry Institute of Toxicology [41]. Neste, foram expostos a 0, 2, 5,6 e 14,3 ppm de formaldeído ratos F344 e B6C3F, tendo-se observado, ao fim de 12 meses, que 2 ratos no grupo de exposição a 14,3 ppm apresentavam tumores de pele malignos nos canais nasais de passagem. Denota-se que a ocorrência deste tipo de tumores é rara em ratos. Ao fim de 18 meses de estudo, o número de ratos com este tipo de tumores passou de 2 para 36 e, na data de conclusão da experiência (1980), todos os 105 ratos expostos a 14,3 ppm de formaldeído e 2 dos ratos expostos a 5,6 ppm possuíam carcinoma em células nasais. Adicionalmente, observou-se o desenvolvimento de rinite e displasia epitelial em todos os ratos dos dois grupos com exposição mais elevada a este composto (5,6 e 14,3 ppm) [41].

Um estudo dinamarquês conduzido em 839 pacientes diagnosticados com tumores malignos nas cavidades nasais ou nos seios paranasais ou na nasofaringe e em 2465 pacientes com outros tipos de cancro, demonstrou, através da estimativa da exposição a formaldeído de cada paciente, que existe um aumento significativo do risco de aparecimento de cancro nas cavidades nasais ou seios paranasais nos

pacientes com histórico de exposição ao formaldeído (risco relativo de 1,6 num intervalo de confiança de 95%) [42]. Estudos semelhantes elaborados nos Estados Unidos da América e nas Filipinas conduziram à mesma conclusão, de aumento do risco de aparecimento de cancro nos canais de passagem nasais, com riscos relativos de 2,3 e 2,9, respetivamente, num intervalo de confiança de 95% [42].

Em 2009, um estudo realizado pelo Instituto Nacional de Cancro dos Estados Unidos da América a trabalhadores de casas funerárias que usam formaldeído como químico embalsamante, revelou uma relação entre o surgimento e mortalidade de leucemia mieloide aguda e a prática de embalsamento, com um risco mais elevado para pessoas que praticam esta técnica de embalsamento durante um período superior a 20 anos, tendo-se estimado uma exposição a concentrações entre 3,7 e 12,3 ppm de formaldeído [43].

Em relação à compatibilidade com materiais, o formaldeído puro não é corrosivo para metais ou plásticos. Já as soluções de formol, com concentração de formaldeído a rondar os 37%, não são corrosivas para plásticos como PVCs, polipropileno e ABS, mas são corrosivas para metais como aço inoxidável (304 e 316), alumínio e cobre e aço de carbono a temperaturas superiores a 120 °C pela possibilidade de formação de ácido fórmico [44].

O peróxido de hidrogénio (H_2O_2) é um biocida amplamente utilizado como agente desinfetante, esterilizante e antisséptico em concentrações que variam entre os 3 e 90%. O armazenamento de concentrações puras deste composto é seguro, acrescentando-se estabilizadores para prevenir decomposição. A degradação do peróxido de hidrogénio resulta em produtos inócuos (água e oxigénio), pelo que, é considerado uma substância amiga do ambiente [37].

O modo de ação do peróxido de hidrogénio é a oxidação e formação de radicais hidroxilo livres ($\bullet OH$), que por serem altamente reativos, atacam componentes essenciais às células dos microrganismos, como lípidos, proteínas e ácidos nucleicos. Em particular, estes radicais formam ligações com os grupos sulfidrilos expostos e quebram ligações duplas. Com isto, torna-se possível eliminar ou desativar bactérias, vírus e esporos, apesar dos últimos só serem eliminados na presença de concentrações mais elevadas de peróxido de hidrogénio (10-30%) e com tempos de contacto elevados. O peróxido de hidrogénio pode ser usado como desinfetante em fase líquida, a concentrações elevadas e em combinação com calor, ou em estado vaporizado que permite a redução de concentração de H_2O_2 e da temperatura necessárias [37, 45].

Em contraste com o formaldeído, a Agência Europeia das Substâncias Químicas não classifica o peróxido de hidrogénio como possível causador de cancro ou agente mutagénico, podendo provocar queimaduras na pele ou tecido ocular e irritação respiratória [46].

No que toca a corrosão de materiais, concentrações de H_2O_2 inferiores a 8% são consideradas seguras, sendo H_2O_2 com concentrações entre 8% e 28% classificado como oxidante de classe 1, até 52% oxidante de classe 2 e corrosivo, entre 52,1% e 91% oxidante de classe 3 e corrosivo e concentrações superiores a 91% inserem-se na categoria 4 de oxidantes. Com isto, o peróxido de hidrogénio é compatível com materiais como aço inoxidável (304 e 316), plástico ABS, policarbonato, silicone, cerâmicas, polipropileno, PVC, PVDF, entre outros [47].

Adicionalmente, existem diversos estudos que determinam a capacidade de redução logarítmica destes compostos. Este parâmetro traduz-se na eficácia que o agente de desinfecção demonstra na redução de microrganismos e apresenta uma escala de 0 log a 6 log. O significado desta escala encontra-se explicado na Tabela 2.3, em seguida [48].

Tabela 2.3 – Escala de redução logarítmica

Redução Logarítmica	Porcentagem de Redução de Microrganismos
0 log	0%
1 log	90%
2 log	99%
3 log	99,9%
4 log	99,99%
5 log	99,999%
6 log	99,9999%

Em 2020, um estudo por *Stuart J. et al*, comparou a eficácia da fumigação aérea com formaldeído e da desinfecção aérea com peróxido de hidrogénio na eliminação do vírus da bronquite infecciosa aviária (IBV). Para tal, foram colocados discos com IBV em várias locais de uma cabine de biossegurança que foi submetida ao processo de fumigação por uma solução de formol com 39% em peso de formaldeído com um tempo de permanência de 18 horas. Já para determinar a eficácia da fumigação com peróxido de hidrogénio, utilizou-se uma solução com 35% de H_2O_2 em peso durante 30 minutos. Ambas as fumigações exigiram 1 hora de ventilação após conclusão. A redução logarítmica de microrganismos na área de trabalho e em localizações interiores da cabine foi de 6 log para ambos os desinfetantes, demonstrando que são ambos eficazes e destacando a vantagem no uso de peróxido de hidrogénio cujo ciclo de desinfecção é significativamente mais curto, potencializando o uso do espaço [49].

Em estudos de inativação microbiológica em ovos de galinha para incubação, observou-se que uma solução aquosa de 5% de peróxido de hidrogénio em volume reduziu, até nível indetetável, as

populações de *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* e espécies de bactérias *Proteus* presentes na casca dos ovos com um tempo de contacto de 30 segundos, apresentando assim uma redução de 6 log. Em 5 minutos de desinfecção, o H_2O_2 apresentou uma redução de 6 log para *Salmonella typhimurium* e *Escherichia coli* e de 2 log para *Aspergillus niger* (um fungo) em 35 minutos de tempo de exposição [50].

Na Tabela 2.4 ([37, 38, 40, 44–47, 51]) é possível observar uma comparação resumo entre as características do formaldeído do peróxido de hidrogénio e apresenta-se, na Tabela 2.5 os resultados de diversos estudos de eficácia na redução logarítmica de microrganismos destes desinfetantes.

Tabela 2.4 – Comparação entre o formaldeído e o peróxido de hidrogénio

Parâmetro	Formaldeído	Peróxido de Hidrogénio
Modo de Ação	Desnaturação de proteínas; Alquilação de ácidos nucleicos; Penetração no interior de vírus	Agente oxidante
Gama de Atividade	Bactérias, vírus e esporos	Bactérias, vírus e esporos
Segurança de Pessoas	Potencial causador de cancro; Agente mutagénico; Corrosão de pele e tecido ocular; Tóxico e potencialmente fatal se inalado ou ingerido	Corrosão da pele e tecido ocular; Irritação respiratória
Segurança Ambiental	Degradação em metanol e ácido fórmico; Tóxico para vida marinha	Degradação em substâncias inócuas; Tóxico para vida marinha
Segurança dos Materiais	Em estado puro: não é corrosivo; Em soluções de formol: é corrosivo para metais a altas temperaturas	Concentrações < 28%: não é corrosivo; Concentrações > 28%: corrosivo para metais;

Tabela 2.5 – Níveis de redução logarítmica do formaldeído e do hidrogénio

Microrganismo(s) em Estudo	Formaldeído	Peróxido de Hidrogénio	
Vírus da bronquite infecciosa aviária [49]	Concentração: 39% em peso Tempo de exposição: 18 horas Redução logarítmica: 6 log	Concentração: 35% em peso Tempo de exposição: 30 min Redução logarítmica: 6 log	
Espécies de <i>Salmonella</i> [50, 52, 53]	Redução logarítmica: ~ 3 log	Concentração: 5% em volume Tempo de exposição: 5 min Redução logarítmica: 6 log	Concentração: 400 ppm Redução logarítmica: 2,71 log
<i>E. coli</i> [50]	-	Concentração: 5% em volume Tempo de exposição: 5 minutos Redução logarítmica: 6 log	
<i>Pseudomonas fluorescens</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> [50]	-	Concentração: 5% em volume Tempo de exposição: 30 segundos Redução logarítmica: 6 log	
<i>Aspergillus niger</i> [50]	-	Concentração: 5% em volume Tempo de exposição: 35 minutos Redução logarítmica: 2 log	
Vírus da febre suína africana [48]	Concentração: 0,4% em volume Tempo de exposição: 30 minutos Redução logarítmica: 2,83 log	-	
SARS-CoV-2 [54]	-	Concentração: 6% em massa Tempo de exposição: 30 s Redução logarítmica: 1 log	Concentração: 3% em massa Tempo de exposição: 30 s Redução logarítmica: 1,8 log

2.6 Verificação da Integridade de Sistemas de Fecho

O material de acondicionamento primário de fármacos com via de administração parenteral é, na maioria dos casos, um frasco de vidro, uma rolha de plástico e uma cápsula de alumínio. Por serem produtos estéreis, os materiais de acondicionamento primário desempenham um papel essencial na proteção da qualidade e estabilidade do produto, sendo por isso, obrigatório a verificação da integridade do sistema de fecho (definido como a soma dos componentes de acondicionamento primário e secundário que contêm e protegem o produto) [55].

Até à década de 1990, as entidades reguladoras de saúde consideravam testes de esterilidade ao produto como suficientes para a verificação de integridade de sistemas de fecho. No entanto, o *design* do teste, a natureza destrutiva e o número de amostras necessárias, provaram ser fatores que tornam este teste inadequado para garantir a integridade dos sistemas de fecho. Desde então foram publicados vários documentos onde se salienta a importância da realização de testes de integridade ao material de acondicionamento primário e se destaca a importância da verificação da integridade do sistema final de fecho, não existindo, atualmente, legislação que defina o teste mais adequado para o efeito. Sendo, porém, consensual na legislação imposta pelo Anexo 1 das Boas Práticas de Fabrico e no USP 1207 que a inspeção visual por si só não é considerada um teste de integridade aceitável [8, 55, 56].

Os testes existentes para avaliação da integridade de sistemas de fecho agrupam-se em duas categorias: testes probabilísticos ou determinísticos. Por um lado, os testes probabilísticos dependem de uma série de simulações de eventos que possuem incertezas associadas e cujo resultado é aleatório, mas descrito por probabilidades. Por outro, nos testes determinísticos, o fenómeno em estudo segue uma cadeia de eventos previsíveis e a fuga é medida através de tecnologia físico-química que possibilita a quantificação dos resultados [56].

- **Líquido Rastreador (*Tracer Liquid ou Dye Ingress Test*):**

Este método probabilístico consiste na imersão dos frascos de produto devidamente fechados numa solução de líquido corante, durante um período predefinido, enquanto se aplica pressão ou vácuo de forma a favorecer a passagem do líquido por qualquer tipo de falha no sistema de fecho. Após a imersão, a penetração do líquido nas amostras é verificada visualmente ou por um método analítico adequado. Os parâmetros mais relevantes são o tempo de imersão, as condições de pressão, o volume de produto nos frascos e a tensão superficial dos líquidos, sendo que, devem ser utilizados corantes que não desvanecem rapidamente e que não sejam absorvidos no material de acondicionamento do produto, um dos líquidos mais usados para este procedimento é o azul de metileno. Este método é relativamente barato, fácil de realizar, não requer muito tempo e para além de avaliar a integridade do sistema de fecho de

injetáveis, pode ser utilizado para avaliar a integridade de blisters, no entanto, é destrutivo, não pode ser aplicado a fármacos de coloração escura ou com frascos de vidro opaco e depende da detecção visual dos operadores que devem ser qualificados para o efeito, sendo necessário realizar-se em condições de luz adequadas [56, 57].

- **Método do Desafio Microbiológico (*Microbial Challenge Method*):**

Outro método probabilístico para a avaliação da integridade de sistemas de fecho baseia-se no enchimento dos frascos com meio nutritivo ou com produto propenso ao crescimento microbiológico, seguido pelo processo normal de fecho dos mesmos e pela posterior imersão num recipiente fechado que contém uma suspensão de bactérias, esta etapa pode ter o auxílio de vácuo para promover o deslocamento da suspensão. O recipiente que contém as amostras é incubado em condições que promovem o crescimento das estripes bacterianas presentes na suspensão e, no final do período de incubação determinado, avalia-se a presença ou ausência de crescimento microbiológico no interior dos frascos amostrados por inspeção visual [56, 57].

Este método apresenta vários desafios, nomeadamente, o tamanho, a mobilidade e a viabilidade dos microrganismos, bem como, a imprevisibilidade da sua deslocação para o interior dos frascos, que se traduz num número elevado de amostras e de controlos positivos necessários para a comprovação da integridade do sistema de fecho. Para além disto, o enchimento dos frascos com meio nutritivo pode causar constrangimento nas operações de produção e as condições de enchimento e acondicionamento podem não corresponder às condições reais do produto. Dada a necessidade de incubação, este método é demorado (semanas) e requer mais equipamento. Para além disso, é um método muito propenso a erros e a complexidade de materiais e colaboradores necessários torna-o dispendioso [56, 57].

- **Método de Emissão de Bolhas (*Bubble Emission Method*):**

O teste de emissão de bolhas possui uma abordagem qualitativa à detecção de fugas em frascos com espaço livre para gás. Existem duas formas de realizar o mesmo. A primeira metodologia consiste na inserção de uma fonte de ar de pressão positiva na amostra e na imersão da mesma em água. Em seguida, aplica-se pressão de ar até um nível predefinido, durante um período especificado. A abordagem alternativa deste teste é a imersão da amostra intacta em água numa câmara de vácuo, onde se define um nível de vácuo durante o período estabelecido. Em ambos os casos, os resultados baseiam-se na observação de bolhas ao longo do tempo de teste que se traduzem numa perda de integridade do sistema de fecho. O tamanho e a duração da emissão das bolhas podem indicar o tamanho relativo da fuga [56].

De forma semelhante aos testes probabilísticos já mencionados, este método depende da inspeção visual final do operador e existe a possibilidade de falsos negativos porque o gás que escapa dos frascos

pode ficar preso nas camadas do material de acondicionamento ou as bolhas podem dissolver-se na água antes do operador conseguir observar o fenómeno [56, 57].

○ **Teste de Decaimento de Vácuo (*Vacuum Decay Leak Test Method*):**

Para efetuar este teste determinístico é colocada uma amostra do produto final (já com o sistema de fecho) numa câmara cujo tamanho se assemelha ao da amostra. Em seguida, a pressão da câmara é reduzida a um nível de vácuo predeterminado. Ao atingir este patamar de vácuo, um sensor mede o nível do vácuo durante um período estipulado, normalmente 30 segundos, e avaliam-se os resultados. O sistema de integridade de fecho do produto considera-se comprometido se [56, 57]:

- O valor inicial predeterminado de vácuo não for atingido, indicativo de uma fuga de nível alto;
- O nível de vácuo diminuir, ou seja, a pressão aumentar durante o tempo de medição, indicativo de uma fuga intermédia;
- Se o vácuo exceder o limite de decaimento durante o período de teste, indicativo de uma fuga.

Este teste também é relativamente fácil e rápido de efetuar, possibilita a deteção de fugas muito pequenas (alguns testes detetam com sucesso fugas até 1 μm), não é destrutivo, não depende de uma análise visual das amostras, pode ser aplicado a qualquer tipo de fármaco e fornece dados precisos. As vantagens enumeradas estão associadas a um custo elevado [56, 57].

○ **Teste de Deteção de Fugas por Alta Voltagem (*High Voltage Leak Detection*):**

Em casos de produto com propriedades condutoras e com o material de acondicionamento primário mais comum (frasco de vidro e rolha de borracha, que são materiais não condutores) é possível aplicar-se o método de deteção de fugas por alta voltagem que consiste na passagem de uma sonda de alta frequência e tensão ao longo do exterior do material de acondicionamento primário. Se existir uma fuga, os eletrões vão deslocar-se para o interior do frasco, conduzindo a um aumento do nível de condutividade elétrica medido e registado pelo equipamento. Este método é determinístico, não destrutivo, muito sensível e preciso. No entanto, só se aplica em produto líquido não combustível com alta condutividade [56].

3.

MATERIAIS E MÉTODOS

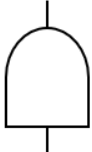
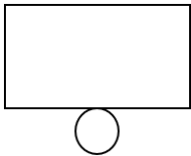
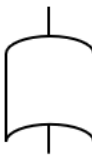
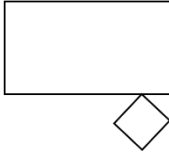
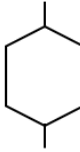
Nesta dissertação foram implementadas diversas diretrizes do Anexo 1 das Boas Práticas de Fabrico, existindo metodologia comum e específica a cada uma. Este capítulo descreve os métodos gerais aplicados a mais do que uma diretriz e, quando necessário, o método individual adotado.

3.1 Análises de Risco

○ Árvore de Análise de Falhas (FTA):

Para elaboração de uma FTA é necessário compreender a simbologia associada à mesma, representada na Tabela 3.1 [58].

Tabela 3.1 – Simbologia de uma Árvore de Análise de Falhas

Evento	Símbolo	Portão	Símbolo
Evento Principal		Portão 'E'	
Evento Básico		Portão 'Ou'	
Evento Não Desenvolvido		Portão de Inibição	
Evento Condicional		-	-
Transferência		-	-

○ **Análise de Modo e Efeito de Falha (FMEA):**

Para o cálculo do RPN (vide secção 2.3.1) a escala numérica utilizada para os parâmetros de severidade, ocorrência e detecção encontra-se apresentadas nas Tabela 3.2, Tabela 3.3 e Tabela 3.4, respetivamente.

Tabela 3.2 – Escala de Severidade

Severidade	Valor
Muito Baixa (Sem impacto na qualidade do produto)	1
Baixa (Impacto mínimo na qualidade do produto)	2
Moderada (Compromete a qualidade do produto e pode prejudicar a saúde do paciente)	3
Elevada (Compromete a qualidade do produto e prejudica a saúde do paciente)	4
Muito Elevada (Compromete a qualidade do produto e prejudica gravemente a saúde do paciente)	5

Tabela 3.3 – Escala de Ocorrência

Ocorrência	Valor
Rara	1
Pouco Frequente	2
Frequente	3
Muito Frequente	4
Extremamente Frequente	5

Tabela 3.4 – Escala de Detecção

Detecção	Valor
Nenhuma	5
Baixa	4
Moderada	3
Elevada	2
Muito Elevada	1

3.2 Monitorização Microbiológica

A monitorização microbiológica passiva do ar é efetuada através de placas de sedimentação colocadas em zonas críticas do processo durante montagem, operação e intervenções e cuja exposição ao ar

num determinado período (não superior a 4h) possibilita a recolha de partículas viáveis transportadas pelo ar através da sedimentação das mesmas [59]. Para monitorizar superfícies e o fardamento dos operadores utilizam-se placas de contacto em zonas pré-determinadas através de análises de risco. Este método de amostragem consiste na aplicação de uma pressão moderada na placa de contacto contra a superfície a ser amostrada por um período de, aproximadamente, 10 segundos.

Ambas as placas de sedimentação e de contacto contêm um meio de cultura composto por peptonas de caseína e de soja, piruvato de sódio e extrato de levedura que fornecem os nutrientes necessários para promover o crescimento de microrganismos e neutralizantes (histidina, tiosulfato de sódio pentahidratado, lecitina e polissorbato 80) que anulam o efeito de desinfetantes de diversas classes. O meio utilizado é compatível com incubação em aerobiose e anaerobiose.

A incubação em aerobiose das placas consiste na colocação das mesmas numa estufa a uma temperatura entre 20-25°C durante 7 dias, ao fim dos quais são transferidas para outra estufa a uma temperatura superior (30-35°C) onde permanecem mais 7 dias.

Para a incubação em anaerobiose, é necessário colocar as placas dentro dum saco hermético que contém um gerador de atmosfera de anaerobiose e um indicador químico que confirma as condições de anaerobiose através da mudança de cor (de azul para branco), vide Figura 3.1. O gerador de atmosfera de anaerobiose usado é o GENbag CO₂, da Biomérieux, constituído por carvão ativado, ascorbato de sódio e outros componentes orgânicos e inorgânicos que absorvem o oxigénio existente no interior do saco hermético e produzem dióxido de carbono, possibilitando uma incubação em anaerobiose. O indicador químico de anaerobiose, da Biomérieux, consiste numa tira de plástico com uma zona reacional na extremidade que contém azul de metileno na forma oxidada. Na ausência de oxigénio, a forma oxidada do azul de metileno é transformada numa leucobase reduzida, passando assim de azul para branco.



Figura 3.1 – Saco hermético com placas de contacto em ambiente de anaerobiose

Com a confirmação visual das condições de anaerobiose, procede-se à incubação do saco hermético que contém as placas numa estufa durante 5-7 dias a uma temperatura entre 30-35°C. Após a incubação apropriada, as placas são analisadas e regista-se o número de unidades formadoras de colónias (UFC) por placa, de acordo com a grelha existente nas mesmas. Os critérios de aceitação dependem do meio de amostragem e da classificação do local amostrado e encontram-se na Tabela 3.5 [8].

Tabela 3.5 – Critérios de Aceitação Microbiológica

Tipo de Amostragem	Limite de Classe A	Limite de Ação de Classe B(A)*	Limite de Ação de Classe B
Placas de Contacto	Sem crescimento	3	5
Placas de Sedimentação	Sem crescimento	3	5

*Locais de classe B com ar de qualidade A

3.3 Qualificação de Equipamentos

Para iniciar a qualificação de um equipamento é necessário recolher informação sobre o seu funcionamento, através de manuais de utilizador e de especificações técnicas, conhecer o processo para qual o equipamento será empregue e avaliar o impacto que o equipamento terá na qualidade do produto final, de forma a executar testes de qualificação adequados.

- **Qualificação de Instalação**

O processo de qualificação divide-se em 3 etapas, sendo a primeira, a qualificação de instalação (IQ) que engloba a verificação da existência de todos os manuais, materiais e componentes associados ao equipamento, bem como a comprovação da dimensão do equipamento, de acordo com desenhos ou fichas técnicas, e a respetiva adequabilidade de instalação na área desejada e a compatibilidade do equipamento com as utilidades da unidade fabril (neste caso, tensão e frequência da instalação elétrica) [30].

- **Qualificação de Operação**

Após elaboração e aprovação da IQ, pode realizar-se a qualificação de operação (OQ) que deve incluir a confirmação da existência de procedimentos de limpeza, manutenção preventiva e utilização do equipamento e onde deve ser testado o funcionamento correto do equipamento nos limites de operação e/ou de pior caso, as funções de segurança e os parâmetros mais relevantes à função do mesmo. Todos os aparelhos utilizados nesta etapa devem possuir certificados de calibração válidos e deve anexar-se uma cópia ao relatório da qualificação. A qualificação operacional pode ser realizada em simultâneo com a qualificação de instalação, caso seja possível e apropriado [30].

- **Qualificação de *Performance* (ou de Desempenho)**

Por último, procede-se à qualificação de desempenho que deve ser executada nas condições normais de operação ou em simulações aprovadas. Os testes realizados devem garantir a eficácia do equipamento na função a que lhe foi atribuída dentro do processo. Neste caso, a qualificação dos sistemas de desinfeção aérea com peróxido de hidrogénio, consistiu na realização dos seguintes testes:

- **Verificação da eficácia da desinfeção com indicadores biológicos:**

Consistem em discos transportadores de aço inoxidável 304 inoculados com tiras de esporos de *Geobacillus stearothermophilus* dentro de envelopes protetores que são permeáveis ao peróxido de hidrogénio. Para realização do teste, os envelopes são colocados em placas de Petri esterilizadas e expostos ao processo de desinfeção.

Após a exposição ao agente desinfetante, as caixas de Petri são fechadas e transportadas para o setor da microbiologia onde os envelopes são abertos assepticamente e os esporos transferidos assepticamente para um meio de cultura denominado de caldo tríptico de soja, rico em nutrientes que promovem o crescimento de diversos microrganismos, incluindo do *Geobacillus stearothermophilus*.

Os indicadores biológicos devem ser inoculados durante um período máximo de 7 dias a uma temperatura de $56 \pm 2^\circ\text{C}$ e os resultados podem ser consultados após 48 h. O crescimento microbiológico é detetado pela aparência de turbidez no meio de cultura.

Para o processo de desinfeção ser considerado eficaz, todos os indicadores biológicos devem apresentar um resultado negativo, ou seja, não se deve detetar crescimento microbiológico. De forma a garantir que os resultados são fidedignos deve ser incubado um indicador de controlo positivo (CP), que não foi sujeito ao processo de desinfeção, e cujo resultado tem de ser obrigatoriamente positivo, ou seja, deve ser detetado crescimento microbiológico. A ausência de crescimento microbiológico nestes indicadores traduz-se numa redução logarítmica de 4 log.

- **Verificação da eficácia da desinfeção com placas de contacto:**

O funcionamento das placas de contacto encontra-se descrito na secção 3.2, sendo que permitem avaliar a eficácia da desinfeção através da comparação dos resultados, para a mesma superfície, antes e depois do processo de desinfeção aérea com peróxido de hidrogénio. O critério de aceitação para este teste é a diminuição do número de unidades formadoras de colónias, quando existentes, após a exposição das placas ao processo de desinfeção com peróxido de hidrogénio.

- **Verificação da dispersão de peróxido de hidrogénio com indicadores químicos:**

Indicadores qualitativos que mudam de cor na presença de peróxido de hidrogénio (de roxo-escuro para verde, como indicado na Figura 3.2). A sua colocação em diversas superfícies, inclusive em paredes e no teto, permite a avaliação do alcance do peróxido de hidrogénio na totalidade do espaço, não servindo para apurar a eficácia do processo de desinfecção.



Figura 3.2 – Indicador químico para a desinfecção com peróxido de hidrogénio

- **Medição do peróxido de hidrogénio residual:**

Após o processo de desinfecção, a circulação de ar das áreas alvo da desinfecção deve ser ligada e os operadores devem aguardar 1 hora e 30 minutos antes de entrar nas respetivas zonas. Este tempo de segurança permite a extração do peróxido de hidrogénio e impede que os colaboradores sejam expostos a quantidades acima do limite diário de exposição do mesmo (1 ppm [60]).

A qualificação e validação do sistema de desinfecção, inclui a medição da quantidade de peróxido de hidrogénio existente em cada área, após a conclusão do período de segurança, para salvaguardar a saúde dos operadores. Para isto, utilizou-se o medidor Dräger X-am 5100 (Figura 3.3) que, após ativação, mede o nível de peróxido de hidrogénio no ambiente e emite um alarme sonoro e visual se a concentração de H_2O_2 exceder o limite diário de exposição.



Figura 3.3 – Medidor Dräger X-am 5100

O critério de aceitação deste teste corresponde à medição de quantidades de peróxido de hidrogénio inferiores a 1 ppm.

3.4 Validação do Método de Estanquicidade (Diretriz 8.23)

Os ensaios para validação do teste de estanquicidade de frascos de injetáveis realizaram-se na câmara de vácuo do controlo de qualidade que está equipada com um barómetro calibrado e contém, no seu interior, solução de azul de metileno a 0,1%, que atua como líquido rastreador (vide Figura 3.4).



Figura 3.4 – Câmara de Vácuo e Barómetro 402PI11

Para iniciar o teste, colocam-se os frascos na câmara de vácuo, abre-se a válvula de vácuo e aguarda-se que atinja os 0,5 bar, indicados no barómetro. Após a estabilização à pressão pretendida (0,5 bar), os frascos devem permanecer 1 minuto na câmara de vácuo para favorecer a entrada de líquido, no caso de perda de integridade. Em seguida, a pressão atmosférica é retomada lentamente e os frascos são retirados e lavados para ser possível verificar visualmente a presença ou ausência de coloração azul no seu interior. Se a coloração não for aparente, o frasco deve ser descapsulado e alvo de uma análise mais rigorosa antes de ser considerado conforme ou não conforme. A capsulagem e descapsulagem dos frascos foi realizada com o auxílio de um capsulador (Figura 3.5) e um descapsulador (Figura 3.6), respetivamente.



Figura 3.5 – Capsulador do CQ



Figura 3.6 – Descapsulador do CQ

A validação do teste de estanquicidade iniciou-se com a realização de um ensaio com frascos de injetáveis não capsulados (apenas com a rolha, vide Figura 3.7) para indagar sobre a importância da cápsula na integridade do sistema de fecho.



Figura 3.7 – Frascos de injetáveis não capsulados

Os ensaios para validação do método consistiram na simulação de defeitos na rolha dos frascos, no processo de capsulagem e no vidro dos frascos. De seguida, a execução do teste de estanquicidade nestas amostras, de acordo com o protocolo definido e com posterior verificação da capacidade de deteção do teste para o respetivo defeito.

- Simulação de defeitos de perfuração na rolha dos frascos:

Este teste consistiu na perfuração da rolha dos frascos com agulhas de diâmetros progressivamente menores (0,9 mm; 0,8 mm; 0,6 mm e 0,5 mm) para apurar o limite de deteção para perfurações na rolha do teste de estanquicidade. As características das agulhas utilizadas encontram-se na Tabela 3.6.

Tabela 3.6 – Características das agulhas

Marca	Lote	Validade	Diâmetro	Tamanho Gauge
B. BRAUN	22F02G8821	01/06/2027	0,9 mm	20 G
LUER - LOCK	14 - 15452	09/12/2026	0,8 mm	21 G
NIPRO	HN 2325 ET	31/03/2026	0,6 mm	23 G
NIPRO	HN 2516 ET	30/06/2025	0,5 mm	25 G

Como as propriedades da rolha de borracha permitem que o material recupere após perfuração, optou-se por deixar a agulha no interior de frascos para impedir o fecho da rolha (vide Figura 3.8). Todos os ensaios foram executados com 4 frascos com o defeito selecionado e 1 sem defeito.



Figura 3.8 – Simulação de defeitos de perfuração nas rolhas, com agulhas de 0,6 mm

○ Simulação de defeitos no processo de capsulagem:

Para replicar um defeito no processo de capsulagem dos frascos de injetáveis, colocaram-se bolas de vidro com 0,4 mm de diâmetro entre o gargalo dos frascos e a rolha (vide Figura 3.9) e procedeu-se à capsulagem dos mesmos (vide Figura 3.10 e Figura 3.11). Efetuaram-se 3 ensaios com frascos capsulados com 2 bolas de vidro no seu interior e, posteriormente, 3 ensaios com frascos que continham apenas uma bola.



Figura 3.9 – Simulação de defeitos no processo de capsulagem com 2 bolas de vidro à esquerda e com 1 bola de vidro à direita, antes da capsulagem



Figura 3.10 – Simulação de defeitos no processo de capsulagem com 2 bolas de vidro, após capsulagem



Figura 3.11 – Simulação de defeitos no processo de capsulagem com 1 bola de vidro, após capsulagem

- Simulação de defeitos no vidro do frasco:

A reprodução de defeitos no vidro dos frascos de injetáveis exigiu a quebra intencional do vidro na zona do gargalo por ser a área mais frágil e menos visível na inspeção visual, após capsulagem. Como o vidro não é temperado, a aleatoriedade da quebra não permite que os defeitos sejam semelhantes entre si. Por questões de segurança, utilizaram-se frascos vazios. Na Figura 3.12 apresentam-se os frascos não capsulados com defeitos no vidro e na Figura 3.13 encontram-se os frascos com defeito no vidro após respectiva capsulagem.



Figura 3.12 – Simulação de defeitos no vidro dos frascos, antes da capsulagem



Figura 3.13 – Simulação de defeitos no vidro dos frascos, após capsulagem

4.

IMPLEMENTAÇÃO DAS DIRETRIZES DO ANEXO 1

4.1 Diretriz 2.3: Revisão da Estratégia de Controle de Contaminação

A estratégia de controle de contaminação (CCS), implementada na unidade fabril para os setores de produção de injetáveis, descreve todas as medidas existentes nos laboratórios Atral para controlar e prevenir contaminação microbiológica, de partículas e endotoxinas/pirogênios de forma a salvaguardar a qualidade do produto e segurança dos colaboradores da fábrica e recetores dos fármacos.

A importância da CCS implica uma revisão frequente, onde deve ser efetuada uma análise de efetividade ao controlo existente que conduza à implementação ou atualização das medidas existentes para uma melhoria contínua do sistema de controlo utilizado.

Posto isto, realizou-se uma revisão de qualidade ao sistema de controlo de contaminação implementado no INJ3, no ano de 2022, para avaliar a eficiência da CCS neste setor e atualizar a mesma.

4.1.1 Resultados e Discussão

A qualidade da preparação de frascos de injetáveis começa pela garantia de que as instalações e equipamentos estão de acordo com os critérios exigidos e a operar em conformidade. Para inferir sobre a conformidade do espaço e equipamentos realizaram-se as requalificações periódicas das instalações, dos fluxos de ar laminar, do túnel de esterilização, da autoclave e das utilidades (ar comprimido e azoto), encontrando-se de acordo com os critérios estabelecidos para a operação.

Adicionalmente, a sala de enchimento asséptico e o interior da máquina de enchimento asséptico precisam de cumprir os limites de temperatura máxima de 25 °C e humidade relativa máxima de 45% aquando da utilização. Para isto, estão instalados sensores de temperatura e humidade que registam as condições reais de operação e permitem a verificação constante de anomalias. Através desta tecnologia, confirmou-se que, para os dias de operação, as condições ambientais são cumpridas, não comprometendo a qualidade do produto.

São também analisados todos os desvios ao procedimento normal de operação, como a falha de um equipamento ou o corte de energia. A averiguação detalhada da causa e consequências de cada desvio permite a tomada de decisão em relação à comercialização do produto.

A qualificação do processo de fabrico de produto estéril é também testada pela realização de simulações do processo asséptico (*Media Fill*), onde o produto é substituído por um pó inerte e meio nutritivo que favorece o crescimento de microrganismos. Em 2022, no setor do INJ3, foram efetuadas duas simulações para as duas capacidades de frascos produzidas nesta linha (9 e 15 mL) ao longo de 2 dias de produção e 1 semana (tempo máximo de operação). Os resultados cumpriram os critérios de aceitação.

A monitorização microbiológica do setor é efetuada em superfícies e fardamento com placas de contacto e no ar por placas de sedimentação e amostrador de ar, tendo possibilitado a deteção de 2 resultados fora de tendência, ou seja, acima do limite de alerta e 9 resultados fora de especificação, ou seja, acima do limite de ação. As 9 investigações conduzidas para a avaliação dos resultados fora de especificação culminaram na rejeição de 1 lote. Assim, o balanço geral de 2022 para o setor de produção de injetáveis cefalosporínicos foi de 28 lotes produzidos e 1 rejeitado.

Para além disto, os colaboradores do INJ3, bem como os operadores da manutenção e da limpeza que exercem funções no setor recebem formação contínua em comportamento asséptico e minimização de riscos de contaminação.

Este relatório permitiu inferir sobre o sistema de controlo efetuado no INJ3 da UC, tendo-se verificado que as medidas existentes permitem a deteção de anomalias e a avaliação do impacto das mesmas na qualidade e segurança do produto. Considerou-se a estratégia de contaminação e controlo da área adequada para a sua função e definiu-se a implementação da realização, a partir do ano de 2023, de um relatório de revisão de qualidade semelhante para cada setor de preparação de injetáveis que facilite a revisão e atualização da estratégia de controlo implementada.

4.2 Diretriz 4.11: Transferência de Materiais para Áreas Assépticas

O transporte de materiais, equipamentos e componentes para zonas limpas de classe A ou B deve ser efetuado através de um processo unidirecional que envolva a esterilização do material. Nos Laboratórios Atral, para entrar nas áreas de produção de injetáveis, os materiais são esterilizados por calor seco (túnel de esterilização) ou por calor húmido (autoclave). Existem, porém, materiais cujas dimensões ou características não permitem a adoção de um processo de esterilização e cuja entrada nas áreas de processamento asséptico (APAs) é imprescindível.

O processo alternativo para a entrada destes materiais nas APAs da UP e UC, adotado pelos Laboratórios Atral, é a entrada pelas antecâmaras de materiais por desinfecção com álcool isopropílico estéril a 70% ao longo das mesmas e com desinfecção posterior das APAs com peróxido de hidrogénio ou formaldeído. Para cumprir a diretriz 4.11 do Anexo 1 das Boas Práticas de Fabrico este processo deve

estar bem caracterizado e deve ser validado de forma a provar que a entrada destes materiais não compromete os níveis de esterilidade existentes nas APAs [8].

4.2.1 Elaboração do Procedimento de Entrada de Materiais por Desinfecção

Para elaborar um procedimento de entrada em cada setor de produção de injetáveis começou-se por identificar e agrupar os materiais que não podem ser esterilizados em categorias, identificado os setores onde são necessários:

- Carga A: Barricas de matérias-primas (INJ2 e INJ3);
- Carga B: Sacos de matérias-primas (INJ2);
- Carga C: Sacos de placas de monitorização (INJ2 e INJ3);
- Carga D: Sacos de rolhas e/ou cápsulas (INJ2 e INJ3);
- Carga E: Material não autoclavável envolvido em invólucros (INJ2 e INJ3);
- Carga F: Material não autoclavável sem invólucro (INJ2 e INJ3);
- Carga G: Material excecional (INJ2 e INJ3);

Em seguida, com a colaboração dos responsáveis por cada setor, definiu-se o procedimento para cada tipo de carga, de forma a garantir que a contaminação microbiológica é minimizada e as GMPs são cumpridas. A versão resumida dos protocolos estabelecidos e que vão ser alvo de validação apresenta-se abaixo.

Após receção dos materiais no corredor que precede as antecâmaras de entrada de materiais, o operador da zona intermédia deve colocar luvas e desinfetar as mesmas com álcool isopropílico estéril a 70% antes de começar qualquer um dos procedimentos.

No INJ2 (Linha 1 ou Linha 2), independentemente do tipo de carga, o colaborador da zona intermédia deve iniciar a operação pela desinfecção de um carro de transporte de materiais com álcool isopropílico estéril a 70% e toalhetes estéreis.

No INJ3, o operador da zona intermédia deve desinfetar o número necessário de caixas transportadoras de materiais com álcool isopropílico estéril a 70% e toalhetes estéreis e transportá-las para a 1ª antecâmara de entrada de materiais.

O resto do procedimento é comum a todos os setores e varia consoante a categoria onde o material está inserido.

- Entrada de Carga A: Barricas de matérias-primas (INJ2 e INJ3):

O colaborador deve desinfetar com álcool isopropílico estéril a 70% e toalhetes estéreis cada barrica, garantindo que toda a sua superfície é desinfetada, incluindo o fundo. Após desinfecção deve colocar a barrica no carro transportador de materiais e deslocar o carro para a 1ª antecâmara de materiais (INJ2) ou nas caixas transportadoras, já posicionadas na 1ª antecâmara (INJ3).

Em seguida, repete-se a desinfecção das barricas com álcool isopropílico estéril a 70% e transporta-se cada uma, individualmente, para o carro transportador de materiais que se encontra na 2ª antecâmara de materiais e foi preparado pelos colaboradores da APA.

Após a carga completa para a 2ª antecâmara das barricas, um colaborador da zona asséptica deve entrar na mesma, desinfetar novamente as barricas com álcool isopropílico estéril a 70% e toalhetes estéreis e transportá-las para o interior da APA (zona de classe B).

- Entrada de Carga B: Sacos de matérias-primas (INJ2):

As matérias-primas transportadas em sacos são colocadas dentro de um saco exterior que o operador da zona intermédia deve desinfetar, com álcool isopropílico estéril a 70% e toalhetes estéreis, e transportar na 1ª antecâmara de materiais. Aqui, repete-se o processo de desinfecção, retira-se o saco exterior e desinfetam-se os sacos de matérias-primas, que devem ser colocados, posteriormente, na 2ª antecâmara. O operador da APA deve entrar nesta antecâmara e desinfetar novamente os sacos antes de proceder ao transporte para a área de processamento asséptico.

- Entrada de Carga C: Sacos de placas de monitorização (INJ2 e INJ3):

As placas de monitorização possuem 3 invólucros e é responsabilidade do fornecedor a esterilização prévia das mesmas.

Os sacos com placas de monitorização devem ser desinfetados com álcool isopropílico estéril a 70% e toalhetes estéreis e transportadas para a 1ª antecâmara de materiais (com o carro no INJ2 ou para as caixas do INJ3).

Na 1ª antecâmara, o colaborador deve repetir o processo de desinfecção e remover o invólucro exterior das embalagens de placas, desinfetando em seguida o 2º invólucro e transferindo as embalagens (agora com 2 invólucros) para o carro transportador da 2ª antecâmara de materiais.

Ao receber os materiais na 2ª antecâmara, o colaborador da APA deve desinfetar as embalagens, retirar o 2º invólucro e desinfetar o último invólucro antes de transportar as placas para a APA.

Imediatamente antes da utilização das placas, o último invólucro deve ser desinfetado e removido.

- Carga D: Sacos de rolhas e/ou cápsulas estéreis (INJ2 e INJ3):

As rolhas ou cápsulas são transportadas num saco de plástico que possui no interior 2 sacos de tamanho inferior que contêm as rolhas ou cápsulas. O operador deve desinfetar o saco exterior com álcool isopropílico estéril a 70% e toalhetes estéreis e transportá-lo para a 1ª antecâmara de materiais. Em seguida, remove-se o saco exterior e desinfetam-se os sacos interiores que são, posteriormente, transferidos para a 2ª antecâmara de materiais.

Na 2ª antecâmara, o operador da APA, deve repetir o procedimento de desinfeção dos sacos e transferi-los para a APA.

- Carga E: Material não autoclavável envolvido em invólucros (INJ2 e INJ3):

Este material pode estar envolvido em 1 ou 2 invólucros. O operador da zona intermédia deve desinfetar, com álcool isopropílico estéril a 70% e toalhetes estéreis, o invólucro exterior e transportar o material para a 1ª antecâmara. Em seguida, se o material possuir 2 invólucros, remove-se o exterior e desinfeta-se o invólucro interior. Se o material possuir apenas 1 invólucro, repete-se a desinfeção do mesmo. Procede-se à transferência do material para a 2ª antecâmara de materiais onde, o colaborador da APA, deve repetir o processo de desinfeção antes do transporte para a APA.

- Carga F: Material não autoclavável sem invólucro (INJ2 e INJ3):

A exposição do material ao ambiente torna-o propenso à contaminação microbiológica, pelo que, o operador da zona intermédia deve desinfetar toda a superfície do mesmo, com álcool isopropílico estéril a 70% e toalhetes estéreis, transferi-lo para a 1ª antecâmara, repetir o processo de desinfeção e colocá-lo no carro transportador da 2ª antecâmara, onde o colaborador da APA deve desinfetar novamente o mesmo antes da entrada na APA.

- Carga G: Material excecional (INJ2 e INJ3):

Nesta categoria inserem-se materiais cuja entrada na APA ocorre para qualificações, calibrações e manutenções, normalmente, esta entrada realiza-se quando o bloco é aberto para limpezas, desinfeções ou na paragem anual.

Se o material precisar de entrar, com urgência, na APA, durante um dia de operação, deve ser desinfetado com álcool isopropílico estéril a 70% e toalhetes estéreis antes de ser transferido para a 1ª antecâmara. Em seguida, deve repetir-se a desinfeção e o material deve ser transportado para a 2ª

antecâmara, onde o operador da APA realizará a fumigação com uma pistola de peróxido de hidrogénio antes da entrada na APA.

Com exceção do material excecional, todos os outros materiais, são desinfetados com peróxido de hidrogénio ou formaldeído, aquando da desinfecção aérea da APA e os últimos invólucros dos materiais só são retirados imediatamente antes da sua utilização.

Com os procedimentos definidos, a etapa seguinte é a validação dos mesmos. Esta validação tem como objetivo demonstrar que o processo de entrada de materiais por desinfecção é eficaz na redução da carga microbiana dos materiais, não comprometendo os níveis de esterilidade da área de processamento asséptico.

Dado as diferenças de operação entre o INJ2 e o INJ3, cada setor deve ter o respetivo processo validado individualmente, tendo-se abordado, nesta dissertação, a validação do processo de entrada de materiais por desinfecção nas antecâmaras do INJ3. Para isto, realizaram-se 3 ensaios, para cada tipo de carga cuja entrada por desinfecção é necessária no INJ3 (excetuando a carga do tipo G), de amostragens com placas de contacto antes do início do processo de desinfecção, na zona intermédia, e depois do processo de desinfecção, no interior da APA (classe B).

4.2.2 Resultados e Discussão

Apresentam-se, nas tabelas em seguida (Tabela 4.1, Tabela 4.2, Tabela 4.3, Tabela 4.4 e Tabela 4.5), os resultados da validação da entrada de materiais por desinfecção na área de processamento asséptico do INJ3 para cada tipo de carga necessária ao setor.

Para a desinfecção ser eficaz deve observar-se uma redução do número de UFC entre as amostragens realizadas antes e depois do processo de desinfecção e, como a entrada de materiais é efetuada para uma zona de classe B, as amostragens após desinfecção devem cumprir as especificações de classe B, ou seja, o número de UFC deve ser igual ou inferior a 5. Salienta-se ainda que após a entrada pelas antecâmaras por desinfecção, a área de processamento asséptico e todos os materiais e máquinas que nela se encontram são sujeitos a um ciclo de desinfecção aérea com peróxido de hidrogénio, eliminando os microrganismos que ainda existam nos materiais após a desinfecção nas antecâmaras.

Tabela 4.1 – Resultados da entrada de materiais do tipo A, por desinfecção, no INJ3

Tipo de Carga	Ensaio nº	Zona	Resultado Antes da Desinfecção (UFC)	Resultado Após a Desinfecção (UFC)	Data da Amostragem
A: Barricas de matéria-prima	1	Tampa	54 (40 fungos)	2	31/08/2023
		Superfície Lateral	45 (37 fungos)	<1	
		Fundo	6 (2 fungos)	2	
	2	Tampa	1	1	06/09/2023
		Superfície Lateral	1	<1	
		Fundo	5	<1	
	3	Tampa	3	6	
		Superfície Lateral	3	2	
		Fundo	<1	<1	

Observações: A ausência de unidades formadoras de colónias numa placa de contacto traduz-se num resultado <1, equivalente ao limite de deteção deste método.

Tabela 4.2 – Resultados da entrada de materiais do tipo C, por desinfecção, no INJ3

Tipo de Carga	Ensaio nº	Zona	Resultado Antes da Desinfecção (UFC)	Resultado Após a Desinfecção (UFC)	Data da Amostragem
C: Sacos com placas de monitorização	1	Topo	<1	<1	06/09/2023
		Superfície Lateral	<1	<1	
		Fundo	<1	<1	
	2	Topo	<1	<1	
		Superfície Lateral	<1	<1	
		Fundo	<1	<1	
	3	Topo	<1	<1	
		Superfície Lateral	<1	<1	
		Fundo	1	<1	

Observações: Os sacos com placas de monitorização são constituídos por 2 invólucros. A amostragem antes do processo de desinfecção é realizada no invólucro exterior e a amostragem após o processo de desinfecção é efetuada, na APA, no invólucro interior.

Tabela 4.3 – Resultados da entrada de materiais do tipo D, por desinfecção, no INJ3

Tipo de Carga	Ensaio nº	Zona	Resultado Antes da Desinfecção (UFC)	Resultado Após a Desinfecção (UFC)		Data da Amostragem
			Saco Exterior	Saco 1	Saco 2	
D: Sacos com cápsulas	1	Topo	5 (3 fungos)	<1	1	31/08/2023
		Superfície Lateral	1	2	<1	
		Fundo	12	<1	<1	
	2	Topo	1	<1	<1	06/09/2023
		Superfície Lateral	<1	1 fungo*	<1	
		Fundo	1 fungo*	1 fungo*	1 fungo*	
	3	Topo	1 fungo*	N/A**	N/A**	
		Superfície Lateral	<1	N/A**	N/A**	
		Fundo	<1	N/A**	N/A**	

Observações: *1 fungo que ocupa a totalidade da placa de contacto. **Sacos não amostrados.

Os sacos com cápsulas são constituídos por 1 saco exterior, amostrado antes do processo de desinfecção, que contém 2 sacos interiores com as cápsulas, amostrados após desinfecção.

Tabela 4.4 – Resultados da entrada de materiais do tipo E, por desinfecção, no INJ3

Tipo de Carga	Ensaio nº	Zona	Resultado Antes da Desinfecção (UFC)	Resultado Após a Desinfecção (UFC)	Data da Amostragem
E: Material não autoclavável envolvido em invólucros	1	Topo	1 fungo*	<1	06/09/2023
		Superfície Lateral	1 fungo*	<1	
		Fundo	<1	<1	
	2	Topo	<1	<1	
		Superfície Lateral	1	<1	
		Fundo	2 (1 fungo*)	<1	
	3	Topo	1 fungo*	<1	
		Superfície Lateral	1 fungo*	<1	
		Fundo	1 fungo*	<1	

Observações: *1 fungo que ocupa a totalidade da placa de contacto.

Os ensaios nº1 e nº2 correspondem a luvas de tamanho 7,5 e o ensaio nº3 a luvas de tamanho 8,5. Neste caso, as embalagens de luvas encontram-se envolvidas num invólucro, sendo a amostragem antes do processo de desinfecção realizada no invólucro exterior e a amostragem após o processo de desinfecção efetuada na embalagem das luvas em si.

Tabela 4.5 – Resultados da entrada de materiais do tipo F, por desinfecção, no INJ3

Tipo de Carga	Ensaio nº	Zona	Resultado Antes da Desinfecção (UFC)	Resultado Após a Desinfecção (UFC)
F: Material não autoclavável sem invólucros	1	Tampa	<1	<1
		Superfície Lateral	<1	1 fungo
		Fundo	<1	<1
	2	Tampa	<1	1 fungo
		Superfície Lateral	1	<1
		Fundo	1	<1
	3	Tampa	2 (1 fungo)	1 fungo
		Superfície Lateral	10 (8 fungos)	<1
		Fundo	7 (5 fungos)	<1

Observações: Em todos os ensaios foram amostrados recipientes com desinfetante F66 – SR para desinfecção aérea.

Como se pode observar na Tabela 4.1 as bilhas de matéria-prima encontram-se bastante contaminadas, especialmente com fungos, ao serem rececionadas na zona intermédia e o processo de desinfecção ao longo das antecâmaras demonstrou reduzir significativamente a quantidade de microrganismos existentes nas bilhas nº1 e nº2, para quantidades que se encontram dentro do limite de aceitação para zonas de classe B (5 UFC). Na bilha nº3 observou-se um aumento de 3 para 6 UFC na tampa da bilha. Este resultado indica que, ao longo do processo de desinfecção, introduziu-se contaminação neste local, tendo-se aberto uma investigação para averiguação do sucedido. Apesar da investigação não estar concluída à data de conclusão desta dissertação, deduz-se que a contaminação tenha sido pontual, uma vez que, o resto das amostragens da bilha nº3 apresentaram resultados conformes e a bilha nº2, amostrada no mesmo período, também está conforme. Dito isto, o processo de entrada de cargas do tipo A pelas antecâmaras por desinfecção só será validado mediante o resultado da investigação aberta.

As placas de monitorização (carga C, Tabela 4.2) e o material não autoclavável envolvido em invólucros (carga E, Tabela 4.4), nesta validação representado por luvas de diferentes tamanhos, não apresentaram qualquer microrganismo nas amostragens efetuadas no interior da APA, após o processo de desinfecção, tendo-se demonstrado que o processo de desinfecção é eficaz na redução da carga microbiana existente nos materiais inseridos nestas categorias, não introduzindo contaminação.

Em relação aos sacos de cápsulas (carga D, Tabela 4.3), observa-se que todos os sacos interiores amostrados apresentam contaminação microbiana em, pelo menos, um local de amostragem. Atendendo ao procedimento de entrada destes materiais, apenas o saco exterior está exposto a possível

contaminação microbiológica na zona intermédia, sendo desinfetado e removido na 1ª antecâmara. Assim, os sacos interiores são expostos ao ambiente apenas na 1ª antecâmara, sendo imediatamente desinfetados e transportados para a 2ª antecâmara, onde são desinfetados novamente. Este procedimento é em todo semelhante ao aplicado às cargas de categoria C e E, pelo que, seria expectável obter resultados idênticos aos destas cargas (0 UFC) nos sacos de cápsulas interiores. Como os sacos de cápsulas foram amostrados em dias diferentes, a possibilidade de ter ocorrido uma contaminação pontual nos 4 sacos é reduzida. Para além disto, se a operadora fosse a fonte de contaminação, era provável que o material que entrou depois dos sacos de cápsulas (luvas, desinfetantes e bilhas) fosse também contaminado e tal não se observou.

Posto isto, decidiu-se abrir uma investigação à esterilidade dos sacos interiores, que deve ser assegurada pelo fornecedor/fabricante dos mesmos, de forma a apurar se a contaminação existente nos sacos se deve ao processo de transporte e desinfeção adotado ou se os critérios de esterilidade dos sacos não estão a ser cumpridos. Para tal, planeia-se abrir um saco exterior de cápsulas, num ambiente controlado, ou seja, numa câmara de fluxo laminar, e amostrar de imediato os 2 sacos interiores em diversos locais, de forma a verificar a esterilidade dos mesmos. A conclusão da validação do processo de entrada de materiais pelas antecâmaras por desinfeção fica pendente dos resultados desta investigação.

Por fim, para material autoclavável sem invólucro (Tabela 4.5), foram amostrados 3 recipientes de desinfetante F-66 SR, tendo-se observado que, antes da desinfeção, o desinfetante nº3 em particular estava bastante contaminado com microrganismos, em especial fungos. Tendo sido sujeitos ao mesmo processo de desinfeção, comprovou-se uma redução significativa no número de unidades formadoras de colónias nos recipientes nº2 e nº3, prevalecendo 1 fungo na tampa de cada um destes materiais. No frasco de desinfetante nº1 não foram detetados microrganismos antes do processo de desinfeção, tendo-se obtido 1 fungo na superfície lateral do mesmo, após desinfeção. Dado o tamanho da placa de contacto, é provável que a amostragem antes e depois do processo de desinfeção não tenha sido no mesmo sítio da superfície lateral do desinfetante e que o fungo detetado seja oriundo do exterior e não da APA. Apesar disto, os resultados obtidos para estes materiais encontram-se dentro dos critérios de aceitação de classe B (≤ 5 UFC).

Em suma, demonstrou-se que o processo de entrada de materiais pelas antecâmaras do INJ3 por desinfeção é eficaz na redução da contaminação microbiológica existente, não sendo fonte de introdução de contaminação nas áreas de processamento asséptico, para placas de monitorização (carga C), material não autoclavável envolvido em invólucros (carga E) e material não autoclavável sem invólucros (carga F). A validação deste processo está pendente dos resultados das investigações a decorrer para o apuramento da fonte de contaminação de uma das bilhas de matérias-primas e para a averiguação da esterilidade dos sacos interiores de cápsulas.

Adicionalmente, a diretriz 4.11 diz ainda que a saída de materiais de zonas de classe A ou B deve ser unidirecional. Quando não é possível, deve existir um controlo que garanta um desfasamento entre a entrada e saída de materiais.

No caso do setor INJ3, a entrada e saída de materiais é realizada nas mesmas antecâmaras, não sendo possível dividir estes processos. Assim, alterou-se o registo de entrada de materiais pelas antecâmaras das APAs, tornando obrigatório registar as horas de início e fim deste processo e definiu-se que deve existir um desfasamento temporal de, pelo menos, 30 minutos entre a entrada e saída de materiais, elaborando-se também um registo de saída de materiais, com preenchimento obrigatório das horas de início e fim do processo para garantir o cumprimento da diretriz.

4.3 Diretriz 4.36: Qualificação e Validação do Sistema de Desinfecção Aérea com Peróxido de Hidrogénio

Inicialmente, nos Laboratórios Atral, era utilizada uma solução desinfetante de formaldeído (37%) e metanol (10%) para a desinfecção aérea das zonas limpas. Atualmente, o uso de formaldeído como desinfetante é pouco recomendado dado ser um composto potencialmente cancerígeno, com elevado nível de toxicidade (vide Tabela 2.2). Assim, efetuou-se a mudança para o desinfetante F66-SR, constituído por 8% de peróxido de hidrogénio, que apresenta um risco reduzido à saúde humana e cuja gama de ação engloba bactérias, vírus e esporos (vide Tabela 2.2).

O sistema de desinfecção aérea é constituído pelo desinfetante F66-SR e o equipamento microdifusor NOUVAIR (vide Figura 4.1). O microdifusor permite a criação de um aerossol de desinfetante através da junção do mesmo (transportado em estado líquido por uma bomba peristáltica) com ar comprimido, gerado por um compressor intrínseco ao equipamento, e posterior dispersão das partículas formadas pela área pretendida.

Os alvos da qualificação e validação são os microdifusores com código interno 302SH9, 302SH10, 302SH11 e 302SH12 a instalar na linha 1 do INJ2 da UP e 302SH13 para o setor de microbiologia do controlo de qualidade. Os equipamentos apresentam o mesmo modelo (*standard*) e versão (1.0), pelo que, o processo de qualificação foi semelhante para todos.



Figura 4.1 – Microdifusor NOUVAIR

4.3.1 Qualificação de Instalação

A qualificação de instalação garante a presença de todos os componentes necessários ao funcionamento do equipamento, através da confirmação por manuais e especificações técnicos, e assegura as condições que as condições apropriadas de instalação do equipamento são cumpridas.

- **Documentação:**

A conformidade de um equipamento implica a existência de documentos que refiram a sua identificação, as suas instruções de utilização e especificações técnicas. Para isto, verificou-se que cada microdifusor possuía o respetivo manual de utilizador e a ficha de especificações técnicas. Relativamente ao desinfetante F-66 SR confirmou-se a presença da ficha de dados de segurança.

- **Identificação:**

O equipamento deve estar identificado adequadamente com toda a informação que possa ser relevante ao utilizador (número de série, modelo, versão, informação sobre o fabricante, entre outros) e deve possuir a marcação de conformidade europeia que garante que o fabricante cumpriu os requisitos estabelecidos pela União Europeia.

Verificou-se, para cada microdifusor, a presença da placa de identificação do fabricante e a informação contida na mesma: número de série, modelo, versão, ano de construção, nome do fabricante, potência, intensidade, alimentação e proteções elétricas. Confirmou-se a presença da marcação de

conformidade europeia (localizada na placa de identificação do fabricante) e a existência do certificado de conformidade e garantia de cada equipamento.

- **Verificação de Componentes:**

Para o bom funcionamento do aparelho, é essencial a presença de todos os componentes, acessórios e peças que constam nas especificações técnicas do mesmo. Neste caso, aferiu-se sobre a existência dos principais comandos do painel de controlo do equipamento (comando de *start/stop*, comando de seleção de modo, comando de *reset* e comandos de programação), do cabo de ligação à corrente elétrica e da tubagem que conecta o equipamento ao desinfetante.

- **Verificação Dimensional:**

O local de instalação do equipamento deve ser tal que permita o acesso fácil e seguro ao mesmo, sem interferir com o fluxo normal dos trabalhadores a realizar as operações de rotina da área.

Assim, as dimensões reais do equipamento não devem variar mais de 5% em relação às indicadas pelo fabricante e a sala deve ter espaço suficiente para a instalação. Mediu-se cada aparelho e verificou-se a conformidade dimensional, pelo que, a instalação é possível.

- **Verificação da Parte Elétrica:**

É necessário garantir que a rede elétrica da sala onde cada equipamento é instalado tem as características adequadas para o funcionamento do mesmo. A rede elétrica da unidade fabril possui uma tensão de 230 V (monofásico) e frequência de 60 Hz. Estes valores permitem a ligação apropriada dos equipamentos.

4.3.2 Qualificação de Operação e Análise de Criticidade

A qualificação de operação permite avaliar a conformidade do aparelho nas condições operatórias normais e/ou de pior caso. Para a realização desta etapa, recorreu-se à utilização de um cronómetro calibrado, cujo número de série e registo de calibração foram anexados aos relatórios de qualificação.

- **Procedimentos:**

A instalação de um equipamento implica a existência de procedimentos adequados de limpeza, utilização e manutenção preventiva. A presença destes documentos foi verificada.

- **Funções de Segurança:**

O comportamento do equipamento em caso de corte da corrente elétrica foi averiguado, tendo-se apurado que o mesmo se desliga automaticamente aquando do corte do fornecimento, não introduzindo perigo ao ambiente envolvente e aos operadores.

- **Comandos do Painel de Controlo e Subcomponentes do Equipamento:**

O microdifusor NOUVAIR pode operar em 3 modos diferentes (manual, automático e retardado), sendo necessário confirmar o correto funcionamento do aparelho e subcomponentes (compressor, dispersor e ventilador) em todos, bem como, garantir que todos os comandos de programação efetuam a tarefa programada. Para tal, efetuaram-se 3 ensaios de operação em cada modo e confirmou-se o correto funcionamento dos microdifusores.

- **Caudal da Bomba Peristáltica:**

A determinação do tempo de operação do microdifusor depende do caudal da bomba peristáltica e do volume da zona limpa onde vai ser instalado. Para garantir a desinfeção correta, o débito da bomba peristáltica não deve apresentar uma variação superior a 10% ao esperado (1 L/h). Posto isto, efetuaram-se 3 testes de 15 minutos para averiguação do caudal da bomba peristáltica e um teste adicional para o tempo máximo de operação de cada equipamento. O cálculo para o caudal da bomba é dado por:

$$Caudal \left(\frac{L}{h} \right) = \frac{Volume_{inicial} (L) - Volume_{final} (L)}{Tempo_{teste} (min)} \times \frac{60 min}{1 h} \quad (\text{Equação 4.1})$$

Como se pode observar na Tabela 4.6 onde se apresentam os caudais médios determinados para cada equipamento de desinfeção aérea, os caudais das bombas peristálticas de cada microdifusor estão dentro dos critérios de aceitação (0,9 a 1,1 L/h).

Tabela 4.6 – Caudal médio da bomba peristáltica de cada equipamento

Equipamento	Volume Inicial (L)	Volume Final (L)	Tempo (min)	Caudal (L/h)	Caudal Médio (L/h)
302SH9	1	0,74	15	1,04	1,04
	1	0,74	15	1,04	
	1	0,74	15	1,04	
	1	0,52	28	1,03	
302SH10	1	0,75	15	1,00	1,01
	1	0,75	15	1,00	
	1	0,75	15	1,00	
	1	0,54	27	1,02	
302SH11*	1	0,73	15	1,08	1,08
	1	0,73	15	1,08	
	1	0,73	15	1,08	
302SH12	1	0,74	15	1,04	1,03
	1	0,74	15	1,04	
	1	0,75	15	1,00	
	1	0,50	29	1,03	
302SH13	1	0,75	15	1,00	1,08
	1	0,74	15	1,04	
	1	0,74	15	1,04	
	1	0,47	30	1,06	

*Só foram efetuados 3 testes para a determinação do caudal da bomba peristáltica do equipamento 302SH11 porque o tempo máximo de operação pretendido (14 minutos) é inferior ao tempo de teste (15 minutos).

○ **Comprovação da Integridade da Tubagem:**

A circulação do desinfetante do recipiente de armazenamento até ao interior da máquina é realizado por um tubo cuja integridade tem de ser verificada através da comprovação de ausência de desinfetante na área de transporte. Observou-se, aquando da realização do teste já mencionado, que a tubagem dos microdifusores encontra-se em boas condições.

○ **Análise de Criticidade:**

Adicionalmente, efetuou-se uma análise de criticidade aos equipamentos para ser definida uma estratégia de manutenção e calibração. Como os equipamentos são iguais, esta análise é única e aplica-se a todos os microdifusores.

Primeiramente, desconstruiu-se o equipamento em todos os subcomponentes que o constituem e identificou-se a função de cada um e o respetivo impacto no processo de desinfecção (direto, indireto ou sem impacto), vide Tabela 4.7.

Tabela 4.7 – Análise da Função e Impacto de cada subcomponente do microdifusor NOUVAIR

Identificação dos Subcomponentes	Função dos Subcomponentes	Impacto no Processo
Bomba peristáltica	Encaminhar o desinfetante líquido para o dispersor a um caudal fixo de 1 L/h.	Direto
Dispersor	Local onde se forma o aerossol (com a junção do líquido desinfetante e do ar comprimido) e é encaminhado e distribuído pela zona desejada.	Sem impacto
Ventilador	Criar uma zona ascendente que permite a dispersão das partículas.	Direto
Compressor	Gerar ar comprimido que será encaminhado para o dispersor.	Direto
Temporizador	Temporizador do processo de pulverização do desinfetante conforme definido. Permitir programar atrasos nas operações.	Indireto
Bateria	Utilizar o equipamento sem ligação à corrente.	Indireto

Em seguida, determinou-se a criticidade de cada subcomponente cujo impacto no processo se considerou significativo (direto ou indireto), através de uma análise ao e impacto da falha do subcomponente na qualidade do produto e no processo (Tabela 4.8).

Tabela 4.8 – Análise de Efeito da Falha de cada subcomponente do microdifusor NOUVAIR

Subcomponente do Equipamento	Efeito da Falha (Produto)	Efeito da Falha (Processo)	Criticidade
Bomba peristáltica	Não cria o aerossol por falta do líquido desinfetante.	O caudal não é o pretendido.	Crítico
Ventilador	Produto não alcança a totalidade da área pretendida.	N/A	Não crítico*
Compressor	Não cria o aerossol por falta de ar comprimido.	N/A	Não crítico*
Temporizador	Produto não pulverizado na altura pretendida.	Em caso de se pretender operar com atraso, o produto pode ser pulverizado na altura errada.	Crítico
Bateria	N/A	Necessidade de ligação por fios.	Não crítico

*Não é crítico porque o operador pode detetar visualmente a falha no início do processo de desinfecção.

Da análise de criticidade, conclui-se que os subcomponentes críticos do equipamento são a bomba peristáltica e o temporizador, pelo que, elaborou-se um protocolo para a verificação periódica dos equipamentos que inclui o teste de determinação do caudal da bomba peristáltica e um teste para verificação do funcionamento do temporizador. Dada a futura instalação dos equipamentos em áreas assépticas, a verificação terá periodicidade anual, aquando da paragem da unidade fabril e do encerramento das áreas para limpeza e manutenção.

Posto isto, os microdifusores 302SH9, 302SH10, 302SH11, 302SH12 e 302SH13 apresentaram resultados dentro dos critérios de aceitação para cada teste, pelo que, considerou-se que estavam corretamente instalados e a operar devidamente e concluiu-se a qualificação simultânea de instalação e operação, tendo-se prosseguido para a qualificação de *performance*.

4.3.3 Qualificação de *Performance*

Nesta etapa da qualificação, o sistema de desinfecção é testado nas condições normais de trabalho, de forma a avaliar a capacidade de cumprir a tarefa desejada e a reprodutibilidade do sistema. Neste caso, avaliou-se a dispersão de H₂O₂ através de indicadores químicos, verificou-se a eficácia do sistema de desinfecção com a utilização de indicadores biológicos e placas de contacto e garantiu-se a segurança dos operadores através da medição da quantidade residual de peróxido de hidrogénio. Os critérios de aceitação dos testes encontram-se apresentados na metodologia desta etapa (secção 3.3).

A qualificação de *performance* dos equipamentos 302SH9, 302SH10, 302SH11 e 302SH12 efetuou-se em simultâneo nos respetivos locais de instalação da Linha 1 do INJ2, não tendo sido possível realizar

todos os ensaios necessários à qualificação destes equipamentos, encontram-se apresentados em seguida os resultados obtidos para o primeiro e segundo ciclo de desinfecção aérea.

À data de conclusão desta dissertação, a qualificação de *performance* do equipamento 302SH13, a instalar na microbiologia, não foi iniciada.

4.3.3.1 Resultados e Discussão

○ Microdifusor 302SH9:

No primeiro ciclo de desinfecção do microdifusor 302SH9 obtiveram-se os resultados apresentados na Tabela 4.9. Denote-se que à data da realização do 1º ciclo de desinfecção dos microdifusores da Linha 1 do INJ2 o aparelho de medição do nível de peróxido de hidrogénio ainda não estava na posse dos Laboratórios Atral, pelo que, o teste não foi efetuado.

Tabela 4.9 – Resultados do 1º ciclo de desinfecção para o microdifusor 302SH9

Equipamento	Nº IQu	Resultados	Nº PC	Resultados (UFC)	
				Antes	Depois
302SH9	1.1.1	✓			
	1.1.2	✓	1.1.1	2	<1
	1.1.3	✓	1.1.2	<1	<1
	1.1.4	✓	1.1.3	1	<1
	1.1.5	✓	1.1.4	3	2 (1 fungo)
	1.1.6	✓	1.1.5	<1	<1
	1.1.7	✓	1.1.6	<1	<1
	1.1.8	✓	Nº IB	Resultados	
	1.1.9	✓	1.1.1	+	
	1.1.10	✓	1.1.2	-	
	1.1.11	✓	1.1.3	-	
	1.1.12	✓	1.1.4	-	
	1.1.13	✓	CP	+	
	1.1.14	✓			

Legenda: “✓” – Detecção de H₂O₂; “✗” – Não se detetou H₂O₂;

“+” – Crescimento Microbiológico; “-” – Ausência de Crescimento Microbiológico.

Observa-se que o peróxido de hidrogénio alcançou todas as localizações em que se colocaram indicadores químicos e que existiu uma redução do número de unidades formadoras de colónias detetadas pelas placas de contacto. No entanto, o indicador biológico 1.1.1 apresentou crescimento microbiológico, conduzindo à não conformidade do teste e à invalidação da eficácia do processo de desinfecção.

Assim, efetuou-se uma árvore de análise de falhas ao crescimento microbiológico no teste com indicadores biológicos para apurar as potenciais causas para o insucesso do processo de desinfecção (Figura 4.2).

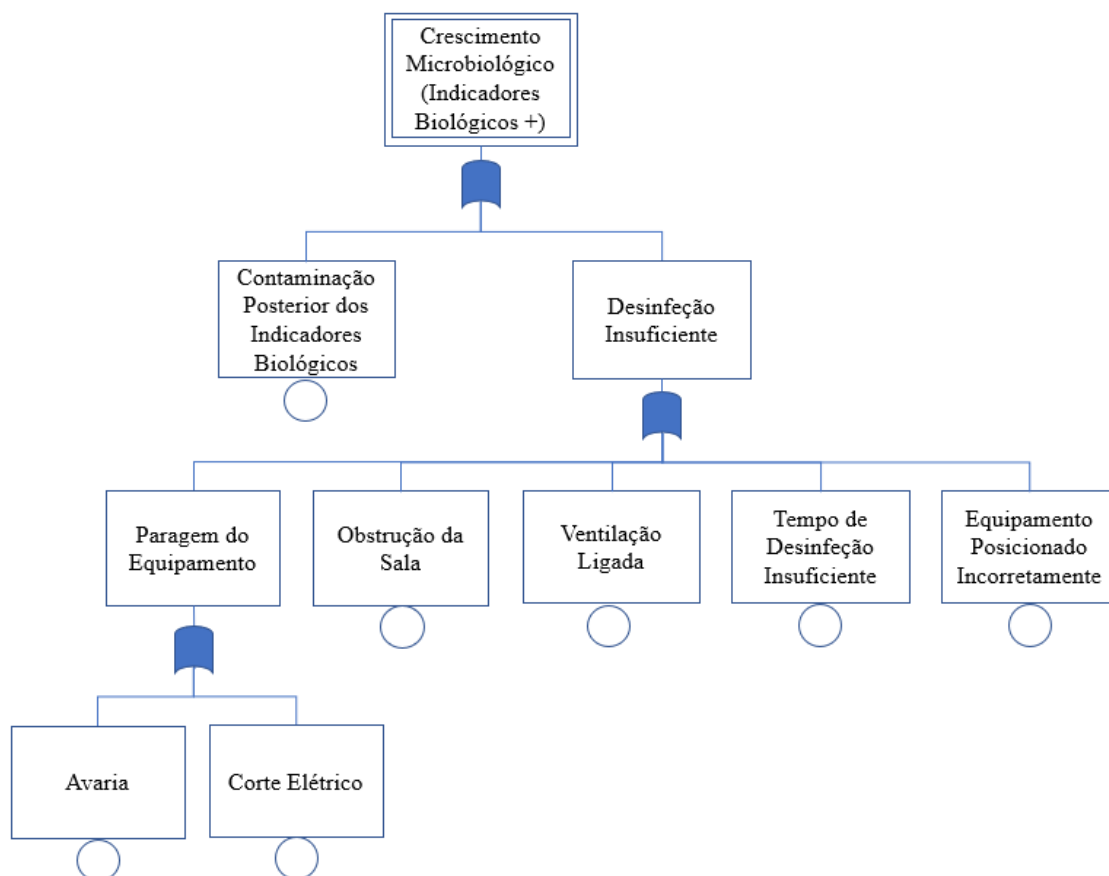
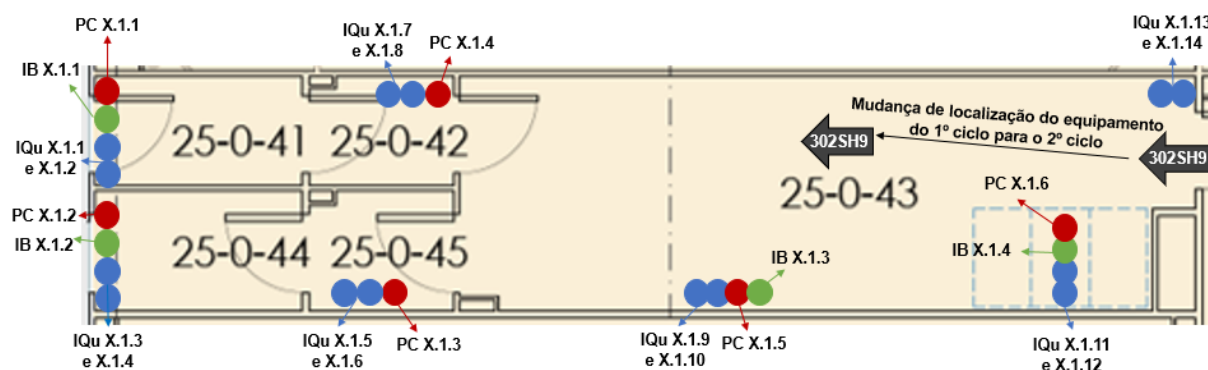


Figura 4.2 – Árvore de Análise de Falhas ao Crescimento Microbiológico

Esta análise de risco permite excluir, desde já, algumas das possíveis causas de falha, nomeadamente, a contaminação posterior dos indicadores microbiológicos, uma vez que, os indicadores biológicos foram transportados para o setor da microbiologia, onde são incubados, no interior de uma caixa de Petri esterilizada que também foi exposta ao processo desinfecção e vários dos indicadores apresentaram a ausência de crescimento microbiológico. Adicionalmente, o processo de desinfecção foi monitorizado por uma equipa qualificada e não se observou qualquer paragem dos equipamentos, quer por avaria, quer por corte elétrico.

Posto isto, analisou-se detalhadamente a distribuição e resultados dos indicadores químicos e biológicos colocados na zona abrangida pelo microdifusor 302SH9 que está posicionado na sala de preparação de matérias-primas (vide Figura 4.3).



Nota: O número do ciclo de desinfecção é representado, na figura, pela letra X.

Figura 4.3 – Planta da área abrangida pelo microdifusor 302SH9, com a localização dos testes efetuados

Os indicadores biológicos localizados na mesma sala (25-0-43) que o microdifusor 302SH9 (BI 1.1.3 e 1.1.4) apresentaram um resultado negativo, ou seja, confirmou-se a eficácia da desinfecção nesta sala. Pretende-se também que a desinfecção abranja as salas de entrada e saída de materiais (com duas antecâmaras cada), pelo que, as portas desta zona foram deixadas abertas e colocaram-se os indicadores biológicos 1.1.1 e 1.1.2 nas primeiras antecâmaras de entrada e saída, respetivamente.

Sabe-se, pelos resultados dos indicadores químicos 1.1.1 – 1.1.4, que o peróxido de hidrogénio alcançou estas divisões e observou-se uma redução do número de microrganismos existentes nas placas de contacto 1.1.1-1.1.4. No entanto, a desinfecção da antecâmara de entrada (sala 25-0-41) não foi suficiente porque o indicador biológico 1.1.1 apresentou um resultado positivo para o crescimento microbológico, indicando que o tempo de contacto não foi suficiente para uma desinfecção eficaz. A ausência de crescimento no indicador biológico 1.1.2 indica, porém, que o peróxido de hidrogénio alcançou a antecâmara de saída (sala 25-0-44) com tempo de contacto suficiente.

Dadas as antecâmaras serem semelhantes e equidistantes da localização do microdifusor, infere-se que a distribuição do desinfetante não foi uniforme, pelo que, optou-se pela alteração do local de instalação do equipamento, para o centro da sala de preparação (posição mais central do espaço a desinfetar, vide Figura 4.3) no 2º ciclo de desinfecção e aumentou-se o tempo de desinfecção em 5 minutos. Com estas alterações obtiveram-se os resultados apresentados na Tabela 4.10 para o 2º ciclo de desinfecção do microdifusor 302SH9.

Tabela 4.10 – Resultados do 2º ciclo de desinfecção para o microdifusor 302SH9

Equipamento	Nº IQu	Resultados	Nº PC	Resultados (UFC)	
				Antes	Depois
302SH9	2.1.1	✓			
	2.1.2	✓	2.1.1	<1	<1
	2.1.3	✓	2.1.2	10 (1 fungo)	<1
	2.1.4	✓	2.1.3	1	<1
	2.1.5	✓	2.1.4	1	<1
	2.1.6	✓	2.1.5	<1	<1
	2.1.7	✓	2.1.6	<1	<1
	2.1.8	✓	Nº IB	Resultados	Concentração de H ₂ O ₂ (ppm)
	2.1.9	✓	2.1.1	-	
	2.1.10	✓	2.1.2	-	
	2.1.11	✓	2.1.3	-	
	2.1.12	✓	2.1.4	-	
	2.1.13	✓	CP	+	0,8
	2.1.14	✓			

Legenda: “✓” – Detecção de H₂O₂; “✗” – Não se detetou H₂O₂;

“+” – Crescimento Microbiológico; “-” – Ausência de Crescimento Microbiológico.

O 2º ciclo de desinfecção do microdifusor 302SH9 apresentou conformidade em todos os testes (indicadores biológicos negativos, indicadores químicos positivos, redução do número de microrganismos nas superfícies amostradas com placas de contacto e quantidade residual de peróxido de hidrogénio inferior a 1 ppm). Assim, as alterações efetuadas mostraram-se adequadas e o 3º e 4º ciclo serão realizados, futuramente, nas novas condições.

○ **Microdifusor 302SH10:**

O microdifusor 302SH10 tem como objetivo a desinfecção da sala de enchimento asséptico, a zona mais crítica do processo, onde o produto é exposto ao ambiente dentro da máquina de enchimento que se encontra debaixo de fluxo laminar que mantêm o seu interior com ar de classe A. Os resultados obtidos para o 1º ciclo de desinfecção deste equipamento encontram-se na Tabela 4.11.

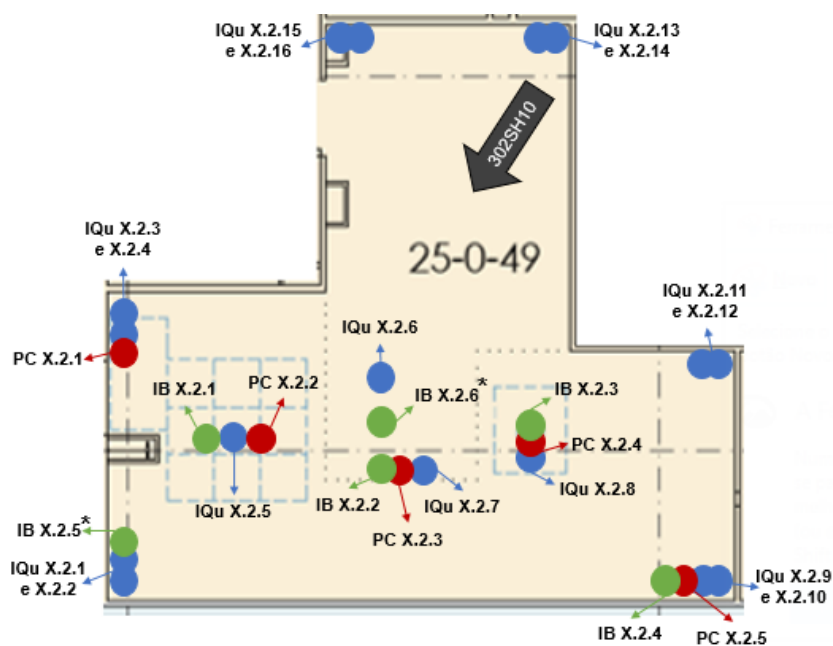
O indicador biológico 1.2.2, onde foi detetado crescimento microbiológico, encontra-se precisamente no interior da máquina de enchimento (vide Figura 4.4), na zona onde há exposição do produto, sendo essencial que a desinfecção com peróxido de hidrogénio seja eficaz neste local. Os resultados dos restantes indicadores biológicos indicam que a desinfecção da sala foi bem-sucedida, inclusive em locais mais afastados do microdifusor, como o indicador biológico 1.2.4 (vide Figura 4.4).

Tabela 4.11 – Resultados do 1º ciclo de desinfecção para o microdifusor 302SH10

Equipamento	Nº IQu	Resultados	Nº PC	Resultados (UFC)	
				Antes	Depois
302SH10	1.2.1	✓	1.2.1	<1	<1
	1.2.2	✓		<1	<1
	1.2.3	✓		<1	<1
	1.2.4	✓		<1	<1
	1.2.5	✓		<1	<1
	1.2.6	✓		<1	<1
	1.2.7	✓	Nº IB	Resultados	
	1.2.8	✓	1.2.1	-	
	1.2.9	✓	1.2.2	+	
	1.2.10	✓	1.2.3	-	
	1.2.11	✓	1.2.4	-	
	1.2.12	✓	CP	+	
	1.2.13	✓			
	1.2.14	✓			
	1.2.15	✓			
	1.2.16	✓			

Legenda: “✓” – Detecção de H₂O₂; “✗” – Não se detetou H₂O₂;

“+” – Crescimento Microbiológico; “-” – Ausência de Crescimento Microbiológico.



Notas: O número do ciclo de desinfecção é representado, na figura, pela letra X;

Os indicadores assinalados com ‘*’ foram colocados após o 1º ciclo de desinfecção.

Figura 4.4 – Planta da área abrangida pelo microdifusor 302SH10, com a localização dos testes efetuados

Posto isto, as possíveis falhas que conduziram ao resultado positivo do IB 1.2.2 foram a ventilação do interior da máquina estar ligada, o que se traduz na extração prematura do peróxido de hidrogénio que alcançou o local, ou, o fecho inesperado das portas interiores ou exteriores da máquina aquando do processo de desinfeção, impedindo a passagem do desinfetante.

Não tendo sido possível apurar a causa concreta, optou-se, para a execução dos próximos ciclos, por colocar indicadores biológicos adicionais X.2.5 e X.2.6, no canto oposto ao microdifusor e entre as portas exteriores e interiores da máquina de enchimento, respetivamente, aumentou-se o tempo de desinfeção em 5 minutos e garantiu-se que todas as ventilações da área se encontravam desativadas. Posto isto, apresenta-se, na Tabela 4.12, os resultados para o 2º ciclo de desinfeção do microdifusor 302SH10:

Tabela 4.12 – Resultados do 2º ciclo de desinfeção para o microdifusor 302SH10

Equipamento	Nº IQu	Resultados	Nº PC	Resultados (UFC)	
				Antes	Depois
302SH10	2.2.1	✓			
	2.2.2	✓	2.2.1	<1	<1
	2.2.3	✓	2.2.2	<1	<1
	2.2.4	✓	2.2.3	<1	<1
	2.2.5	✓	2.2.4	<1	<1
	2.2.6	✓	2.2.5	<1	<1
	2.2.7	✓	Nº IB	Resultados	Concentração de H ₂ O ₂ (ppm)
	2.2.8	✓	2.2.1	-	
	2.2.9	✓	2.2.2	-	0,8
	2.2.10	✓	2.2.3	-	
	2.2.11	✓	2.2.4	-	
	2.2.12	✓	2.2.5	-	
	2.2.13	✓	2.2.6	-	
	2.2.14	✓	CP	+	
	2.2.15	✓			
	2.2.16	✓			

Legenda: “✓” – Detecção de H₂O₂; “✗” – Não se detetou H₂O₂;

“+” – Crescimento Microbiológico; “-” – Ausência de Crescimento Microbiológico.

Da Tabela 4.12 infere-se que as modificações efetuadas foram adequadas e o 2º ciclo de desinfeção do microdifusor 302SH10 está de acordo com os critérios de aceitação, mantendo-se a metodologia implementada para a realização dos futuros ciclos de desinfeção.

○ **Microdifusor 302SH11:**

O primeiro ciclo de desinfeção aérea do microdifusor 302SH11 conduziu aos resultados apresentados na Tabela 4.13.

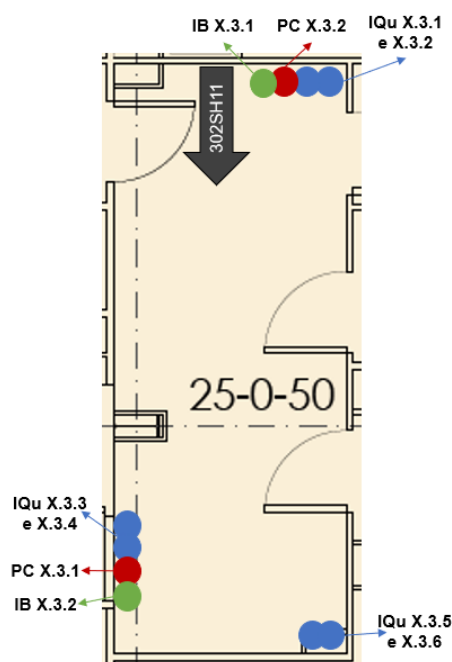
Tabela 4.13 – Resultados do 1º ciclo de desinfecção para o microdifusor 302SH11

Equipamento	Nº IQu	Resultados	Nº PC	Resultados (UFC)	
				Antes	Depois
302SH11	1.3.1	✓			
	1.3.2	✓	1.3.1	<1	<1
	1.3.3	✓	1.3.2	<1	<1
	1.3.4	✓	Nº IB	Resultados	
	1.3.5	✓	1.3.1	+	
	1.3.6	✓	1.3.2	-	
			CP	+	

Legenda: “✓” – Detecção de H₂O₂; “✗” – Não se detetou H₂O₂;

“+” – Crescimento Microbiológico; “-” – Ausência de Crescimento Microbiológico.

No 1º ciclo de desinfecção do microdifusor 302SH11 obteve-se crescimento microbiológico no IB 1.3.2 que está localizado no fundo do corredor onde o equipamento está posicionado (vide Figura 4.5). Tendo os indicadores químicos 1.3.3 e 1.3.4 demonstrado que o peróxido de hidrogénio alcançou este local e não existindo ventilação ou obstruções, infere-se que o tempo de contacto não foi o suficiente para a desinfecção apropriada, tendo-se adicionado 5 minutos ao tempo de desinfecção planeado.



Notas: O número do ciclo de desinfecção é representado, na figura, pela letra X.

Figura 4.5 – Planta da área abrangida pelo microdifusor 302SH11, com a localização dos testes efetuados

O acréscimo do tempo de desinfecção culminou nos resultados da Tabela 4.14.

Tabela 4.14 – Resultados do 2º ciclo de desinfecção para o microdifusor 302SH11

Equipamento	Nº IQu	Resultados	Nº PC	Resultados (UFC)	
				Antes	Depois
302SH11	2.3.1	✓			
	2.3.2	✓	2.3.1	1	<1
	2.3.3	✓	2.3.2	<1	<1
	2.3.4	✓	Nº IB	Resultados	Concentração de H ₂ O ₂ (ppm)
	2.3.5	✓	2.3.1	-	
	2.3.6	✓	2.3.2	-	
			CP	+	0,7

Legenda: “✓” – Detecção de H₂O₂; “✗” – Não se detetou H₂O₂;

“+” – Crescimento Microbiológico; “-” – Ausência de Crescimento Microbiológico.

Observou-se que a alteração efetuada foi adequada, estando os resultados dentro dos critérios de aceitação. Assim, o novo tempo de desinfecção deve ser implementado nos próximos ciclos de desinfecção deste equipamento.

○ **Microdifusor 302SH12:**

Por último, na Tabela 4.15 estão apresentados os resultados para o 1º ciclo de desinfecção do microdifusor 302SH12.

Tabela 4.15 – Resultados do 1º ciclo de desinfecção para o microdifusor 302SH12

Equipamento	Nº IQu	Resultados	Nº PC	Resultados (UFC)	
				Antes	Depois
302SH12	1.4.1	✗			
	1.4.2	✗	1.4.1	<1	<1
	1.4.3	✗	1.4.2	<1	<1
	1.4.4	✗	1.4.3	<1	<1
	1.4.5	✗	1.4.4	7	3
	1.4.6	✗	Nº IB	Resultados	
	1.4.7	✓	1.4.1	+	
	1.4.8	✓	1.4.2	+	
	1.4.9	✓	1.4.3	+	
	1.4.10	✗	CP	+	

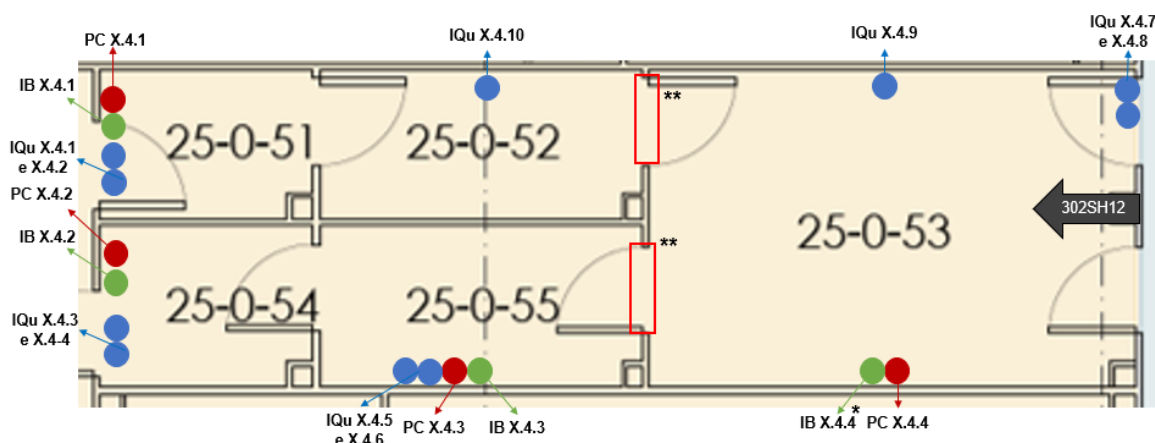
Legenda: “✓” – Detecção de H₂O₂; “✗” – Não se detetou H₂O₂;

“+” – Crescimento Microbiológico; “-” – Ausência de Crescimento Microbiológico.

A desinfecção aérea efetuada pelo equipamento 302SH12 não foi eficaz dada a existência de crescimento microbiológico em todos os indicadores biológicos amostrados (1.4.1 – 1.4.3). Para além disto, os resultados dos indicadores químicos indicam que o peróxido de hidrogénio não alcançou as salas 25-0-51, 25-0-52, 25-0-54 e 25-0-55 (vide Figura 4.6). Após averiguação, concluiu-se que as portas que

dividem a sala 25-0-53 das salas 25-0-52 e 25-0-55 estavam fechadas aquando da desinfeção, tendo assim obstruindo a dispersão do peróxido de hidrogénio e impedindo a desinfeção das restantes salas.

Sendo um erro accidental dos operadores, o 2º ciclo de desinfeção para a qualificação do equipamento foi efetuado sem alterações no procedimento, com a exceção da adição de um indicador biológico na sala 25-0-53 (IB X.1.4), e assegurando a permanência das portas abertas durante o processo de desinfeção.



Notas: O número do ciclo de desinfeção é representado, na figura, pela letra X;

O indicador assinalado com '*' foi colocado após o 1º ciclo de desinfeção;

As zonas assinaladas com '**' correspondem às portas que se encontravam fechadas no 1º ciclo.

Figura 4.6 – Planta da área abrangida pelo microdifusor 302SH12, com a localização dos testes efetuados

No 2º ciclo de desinfeção obtiveram-se os resultados ilustrados na Tabela 4.16.

Tabela 4.16 – Resultados do 2º ciclo de desinfeção para o microdifusor 302SH12

Equipamento	Nº IQu	Resultados	Nº PC	Resultados (UFC)	
				Antes	Depois
302SH12	2.4.1	✓			
	2.4.2	✓	2.4.1	<1	<1
	2.4.3	✓	2.4.2	<1	<1
	2.4.4	✓	2.4.3	<1	<1
	2.4.5	✓	2.4.4	18	<1
	2.4.6	✓	Nº IB	Resultados	Concentração de H ₂ O ₂ (ppm)
	2.4.7	✓	2.4.1	-	
	2.4.8	✓	2.4.2	-	
	2.4.9	✓	2.4.3	-	
	2.4.10	✓	2.4.4	-	
			CP	+	0,8

Legenda: “✓” – Detecção de H₂O₂; “✗” – Não se detetou H₂O₂;

“+” – Crescimento Microbiológico; “-” – Ausência de Crescimento Microbiológico

Neste ciclo de desinfecção, os indicadores químicos e biológicos apresentaram conformidade, observou-se uma redução do número de microrganismos das amostragens das superfícies e a quantidade de peróxido de hidrogénio residual é inferior ao limite.

Deste modo, foram efetuados 2 ciclos de desinfecção aérea para cada sistema de desinfecção constituídos pelos equipamentos 302SH9, 302SH10, 302SH11 e 302SH12 e respetivos desinfetantes F66-SR, tendo-se obtido resultados não conformes no 1º ciclo de desinfecção de todos os sistemas. Assim, através de uma análise de risco, determinaram-se as possíveis causas de falha e implementara-se alterações nos procedimentos de desinfecção que conduziram a resultados conformes, no 2º ciclo de desinfecção, para todos os equipamentos. Desta forma, será necessário efetuar, pelo menos, mais dois ciclos de desinfecção para concluir a qualificação de *performance* dos equipamentos e dar por terminada a qualificação e validação dos sistemas de desinfecção aérea destinados à linha 1 do INJ2.

Em relação ao microdifusor 302SH13, a qualificação de *performance* do mesmo será realizada em trabalho futuro.

4.4 Diretriz 8.12: Montagem de Equipamento Estéril

Em cada linha de produção de injetáveis, os frascos, provenientes de um túnel de esterilização, são transportados pelo interior de uma máquina de enchimento que procede à injeção de azoto, enchimento do pó e capsulagem. Com a exposição do produto ao ambiente, é imprescindível que as condições ambientais de classe A sejam cumpridas, neste caso, a máquina de enchimento encontra-se sobre fluxo laminar, com barreiras e portas de proteção.

Ao fim de cada semana de operação, as peças das máquinas de enchimento asséptico são desmontadas, sendo retiradas das APAs para lavagem e esterilização. Assim, antes do início de produção, os colaboradores da manutenção devem proceder à montagem das peças estéreis das máquinas de enchimento que têm contacto direto e indireto com o produto. Este processo deve ser realizado assepticamente, de forma a preservar a esterilidade das peças da máquina, não introduzir contaminação na área de processamento asséptico e garantir a qualidade e segurança do produto.

Posto isto, é necessário elaborar, para cada setor de produção de injetáveis, um procedimento detalhado com as instruções para a montagem da respetiva máquina de enchimento asséptico, que esteja em concordância com as Boas Práticas de Fabrico e previna a introdução de contaminação microbiológica na área de processamento asséptico.

Neste caso, realizou-se a instrução de montagem da máquina de enchimento asséptico 302 PEP1, pertencente ao setor de produção de injetáveis cefalosporínicos (INJ3), e da máquina de enchimento asséptico MACOFAR MT9 302 PEP6 da linha 2 do setor de produção de injetáveis penicilínicos (INJ2).

A primeira etapa para a construção de uma instrução bem caracterizada sobre a montagem de cada máquina de enchimento asséptico é conhecer o processo de funcionamento de cada uma, com o auxílio dos colaboradores que efetuam semanalmente a montagem das máquinas e dos chefes dos setores.

Em seguida, quando as peças se encontram na sala de lavagem, realiza-se um inventário das peças existentes e do material que entra na APA para a sua montagem. Com as peças devidamente identificadas, um colaborador simula o processo de montagem da máquina, na sala de lavagem, onde inclui todos os passos realizados por ordem, a sua importância e cuidados a ter. A demonstração é fotografada e as etapas são registadas. No dia de montagem, assiste-se e documenta-se, fora da APA, o procedimento real de montagem da máquina de enchimento.

Com a informação e fotografias recolhidas, elabora-se uma instrução detalhada sobre a montagem de cada máquina de enchimento asséptico que é revisto pelo operador responsável pelo procedimento e pelo respetivo chefe de setor.

4.4.1 Máquina de Enchimento Asséptico 302 PEP1

Antes de iniciar a montagem da máquina de enchimento asséptico 302 PEP1, o operador deve certificar-se que possui todas as ferramentas necessárias (chaves sextavadas, chave de aperto, chaves de cachimbo e chaves de fendas) e que a corrente elétrica que fornece a máquina se encontra desligada.

Durante a montagem, o operador deve tomar as seguintes precauções:

- Verificar a integridade dos sacos de esterilização onde se encontram as peças (estragos físicos, presença de humidade e data de validade da esterilização);
- Desinfetar os sacos de esterilização com álcool isopropílico estéril a 70% antes do manuseamento;
- Desinfetar as luvas imediatamente antes de qualquer operação no interior da classe A com álcool isopropílico estéril a 70%;
- Evitar o contacto da farda com o interior da classe A.

Para facilitar a compreensão do processo, a montagem da máquina 302 PEP1 encontra-se dividida pelas quatro principais peças que a constituem, apresentadas em seguida:

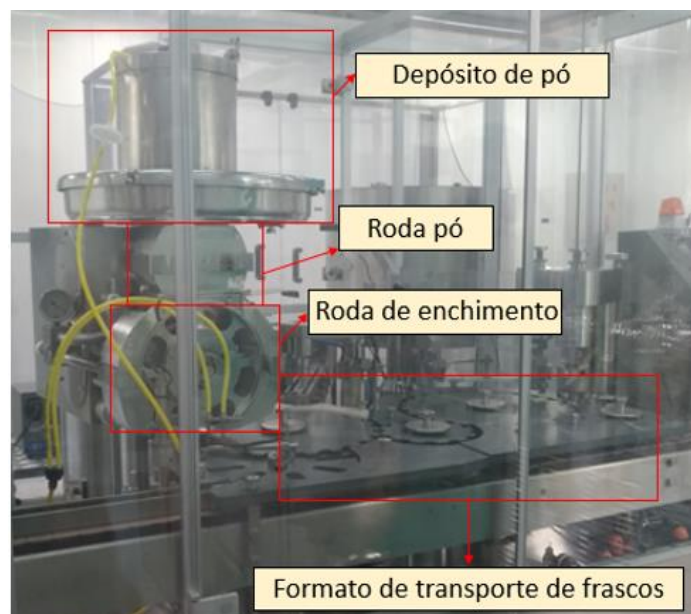


Figura 4.7 – Peças principais da máquina de enchimento asséptico 302 PEP1

- **Formato de transporte de frascos**

O formato de transporte de frascos é constituído por 5 rodas dentadas (numeradas de 1 a 5), 6 peças de apoio (identificadas de A a F), 4 discos idênticos e respectivos parafusos e a montagem deve seguir a disposição apresentada em seguida:

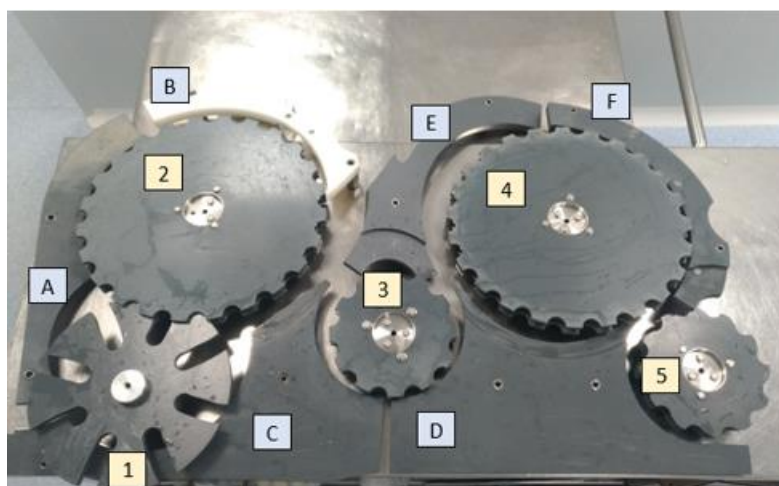


Figura 4.8 – Disposição das principais peças do formato de transporte de frascos

Após o correto posicionamento das rodas e peças de apoio do formato, devem ser colocados discos nas rodas de 2 a 5 e os respectivos parafusos. Com o aparafusamento manual, a montagem do formato de transporte de frascos fica completa e deve assemelhar-se à Figura 4.9.



Figura 4.9 – Montagem final do formato de transporte de frascos

○ **Roda de enchimento**

Para iniciar a montagem da roda de enchimento, o colaborador deve confirmar que possui 8 pares numerados de pistões e proceder ao encaixe dos filtros na extremidade dos mesmos.

Em seguida, coloca-se uma anilha, com as estrias viradas para cima, no interior da roda de enchimento e encaixam-se os pistões de baixo, por ordem crescente de numeração, com o auxílio da chave de aperto (Figura 4.10).



Figura 4.10 – Encaixe dos pistões inferiores

Com os pistões acomodados, posiciona-se e aparafusa-se a roda de afinação de peso (Figura 4.11). Para acondicionar a roda de afinação de peso, aparafusam-se, à sua volta, duas peças de fixação e colocam-se os pistões superiores.



Figura 4.11 – Detalhe de posicionamento da roda de afinação de peso

Por fim, insere-se a roda de doseamento e a placa de aperto, aparafusando ambas (Figura 4.12).



Figura 4.12 – Pormenor de encaixe da roda de doseamento e placa de aperto

Com a montagem concluída, a roda de enchimento é transportada para o interior da classe A e procede-se ao seu aparafusamento à máquina de enchimento (Figura 4.13).



Figura 4.13 – Encaixe da roda de enchimento na máquina 302 PEP1

○ **Roda pó e raspador**

O raspador deve ser aparafusado no topo da roda pó (Figura 4.14) e deve ser colocado um vedante.

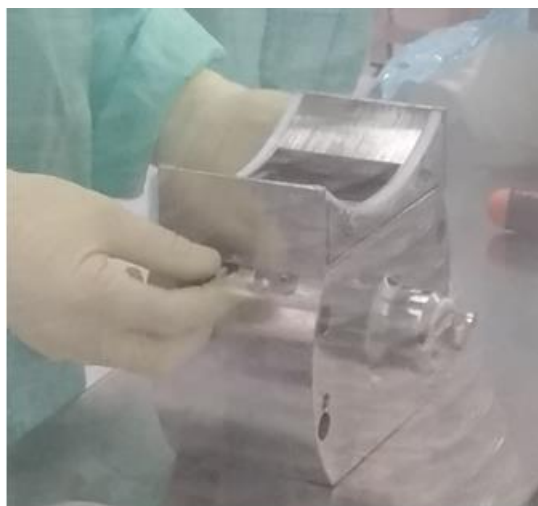


Figura 4.14 – Colocação do raspador na roda pó

Na máquina, a roda pó deve ser colocada em cima da roda de enchimento e devem ser aparafusadas lateralmente as peças de aspiração (Figura 4.15).



Figura 4.15 – Posicionamento final da roda pó

○ **Depósito de pó**

Para finalizar a montagem, encaixa-se, à base do depósito de pó, o agitador de pó e aparafusa-se a peça de fixação. A base e o agitador são colocados no topo da roda pó (Figura 4.16).



Figura 4.16 – Montagem da base do depósito de pó

Após vedar a parte superior do depósito, aparafusam-se as duas partes do depósito e coloca-se a tampa e os fios de ligação ao sistema de fornecimento de azoto (Figura 4.17).



Figura 4.17 – Aspeto final do depósito de pó

Assim, a montagem da máquina de enchimento asséptico de pó 302 PEP1 encontra-se concluída e podem ser efetuadas as calibrações e ajustes necessários. Os operadores devem esperar, pelo menos, 1 hora antes de iniciar as operações de produção.

4.4.2 Máquina de Enchimento Asséptico MACOFAR MT9 302 PEP6

Para a montagem da máquina de enchimento asséptico MACOFAR MT9 302 PEP6, o operador precisa de um conjunto de chaves de fendas e chaves sextavadas. As precauções tomadas durante a montagem são semelhantes às descritas para a máquina 302 PEP1.

A montagem da máquina 302 PEP6 está subdividida em 5 peças principais (formato de transporte dos fracos, formato de transporte de rolhas, sistema de enchimento do pó, depósito de pó e depósito de rolhas).

- **Formato de transporte de frascos**

O formato de transporte de frascos é constituído por uma base, peças de apoio, uma roda dentada denominada estrela e um empurrador de frascos que devem ser montados como ilustrado na Figura 4.18.

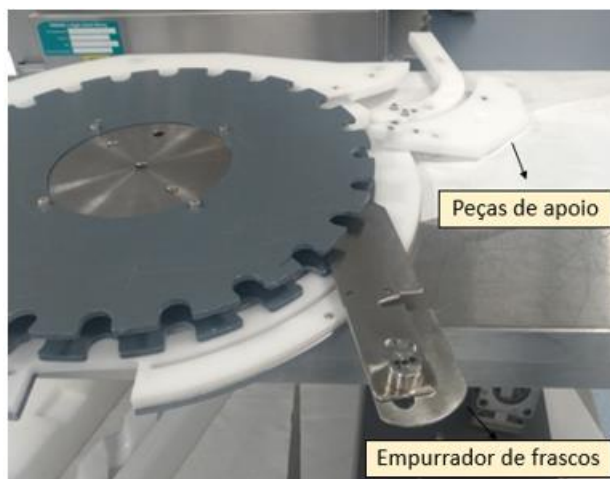


Figura 4.18 – Disposição das peças do formato de transporte de frascos

É ainda necessário montar a divisória de frascos, esta etapa é realizada apenas após a montagem do transporte de rolhas e da roda de enchimento. No final, o formato de transporte de frascos deve apresentar a disposição da Figura 4.19.



Figura 4.19 – Montagem final do formato de transporte de frascos

- **Formato de transporte de rolhas**

O formato de transporte de rolhas é formado por duas guias laterais, duas peças de apoio, duas cintas de transporte e dois sem fim que devem ser posicionados pela ordem descrita (vide Figura 4.20).

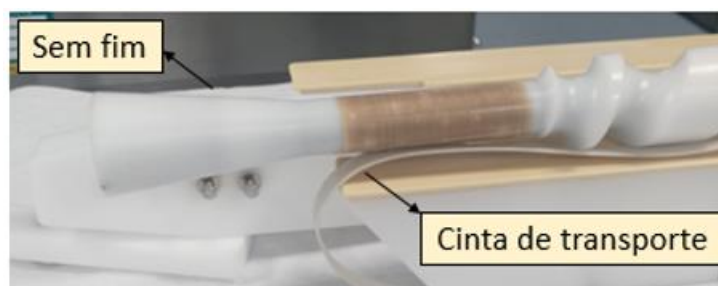


Figura 4.20 – Formato de transporte de rolhas

○ Sistema de enchimento de pó

A máquina de enchimento 302 PEP6 possui dois sistemas de enchimento de pó iguais, cada um deve ser montado num lado da máquina, que são constituídos por uma roda de aspiração, uma roda de doseamento e uma roda pó. A roda de aspiração deve ser colocada na máquina juntamente com a respetiva peça de aspiração.

A montagem da roda de doseamento assemelha-se à da roda de enchimento da máquina 302 PEP1, sendo necessário colocar a espiral de ajuste no centro da roda de doseamento e encaixar os filtros na posição correta através da numeração existente nos mesmos e na roda (Figura 4.21).



Figura 4.21 – Detalhe de montagem da roda de doseamento

Após o acondicionamento dos filtros, aparafusa-se a peça de afinação e as rodas de doseamento estão prontas para serem instaladas na máquina.

A roda pó é constituída por um conjunto complexo de peças apresentado na Figura 4.22.



Figura 4.22 – Constituintes da roda pó

O primeiro passo da montagem, é o encaixe das pás de agitação no interior da roda pó, seguido pela colocação e aparafusamento da tampa. No topo da roda posiciona-se o cone de entrada de pó, após colocação de vedante. Na base da roda, coloca-se a peça em meia-lua e de cada lado as peças de fixação e raspadores, sendo que no lado esquerdo da roda adiciona-se também o bloqueio de pó (Figura 4.23).

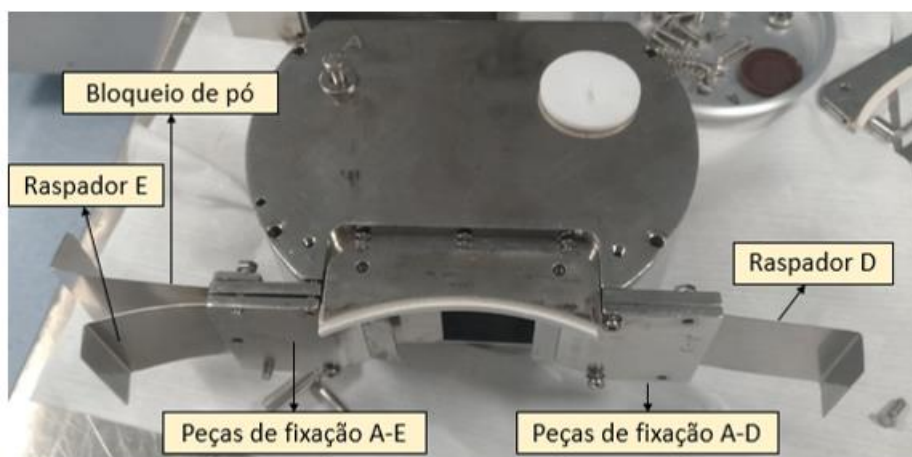


Figura 4.23 – Disposição das peças na roda pó

Em cima da peça de meia-lua, posiciona-se a peça de recolha e respetiva tampa e no topo a peça de sensor.

○ Depósito de pó

Na base do depósito de pó, devem colocar-se juntas e bocas de saída de pó (Figura 4.24), que devem ser devidamente aparafusadas.

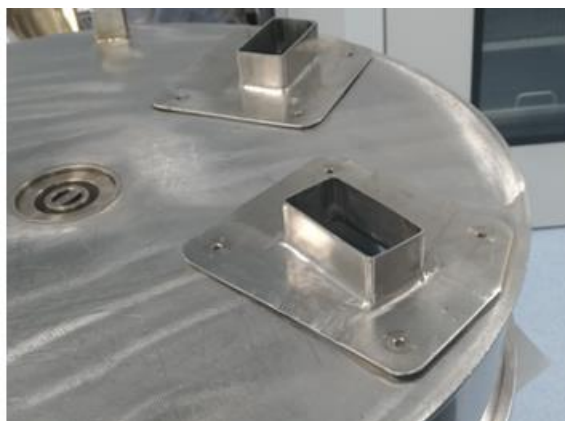


Figura 4.24 – Colocação das juntas na base do depósito de pó

Posteriormente, colocam-se as pás de agitação no interior da base do depósito e transfere-se para a máquina de enchimento. Na tampa do depósito, instala-se o óculo e respetiva tampa (Figura 4.25).

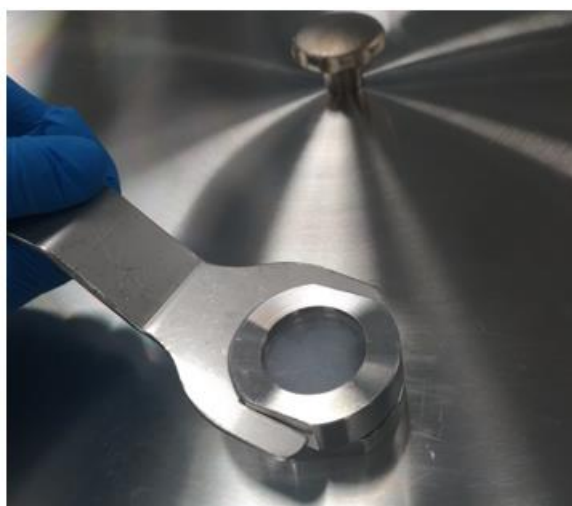


Figura 4.25 – Acondicionamento do óculo na tampa do depósito

Após união da tampa e base do depósito, deve ser aparafusada ao depósito a peça de alimentação de pó que fica no exterior da máquina de enchimento (Figura 4.26).



Figura 4.26 – Posicionamento da peça de alimentação de pó

- **Depósito de rolhas**

Por fim, o depósito de rolhas e respetiva tampa são colocados na máquina (Figura 4.27).



Figura 4.27 – Depósito de rolhas

Com isto a montagem da máquina de enchimento asséptico MACOFAR MT9 302 PEP6 está concluída e o operador pode iniciar a calibração da mesma. De forma semelhante à máquina 301 PEP2, deve decorrer, pelo menos, 1 hora entre a montagem e o início de produção.

Como a montagem das máquinas de enchimento asséptico é um processo que envolve o manuseamento de ferramentas e peças no interior da classe A, é necessário operar com cuidado de forma a evitar a introdução de microrganismos. Assim, durante a montagem, são realizadas monitorização microbiana com placas de sedimentação no interior e na zona circundante da máquina e o operador da manutenção que efetua este procedimento tem de amostrar as luvas com placas de contacto após a finalização do mesmo.

Após a elaboração das instruções de montagem das máquinas de enchimento asséptico do INJ3 e da linha 2 do INJ2, os colaboradores do setor de manutenção receberam formação acerca dos novos procedimentos, permitindo, a existência destes documentos, uma compreensão clara e objetiva das etapas de montagem e cuidados a ter na montagem destes equipamentos.

4.5 Diretriz 8.23: Integridade dos Sistemas de Fecho

Após o enchimento do pó, os frascos de injetáveis são fechados assepticamente com uma rolha de plástico, uma cápsula de alumínio e uma tampa *flip cap* (vide Figura 4.28) que possibilitam o acondicionamento e transporte seguro do produto, evitando a contaminação do mesmo e garantindo que a esterilidade alcançada na sua produção é mantida até à administração no paciente.

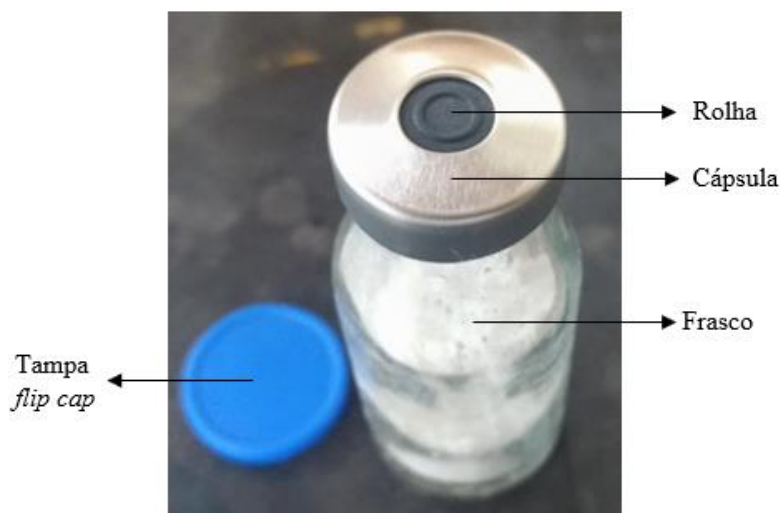


Figura 4.28 – Sistema de Fecho de um Frasco de Injetável

Nos laboratórios Atral, após o processo de enchimento e capsulagem, todos os frascos de injetáveis são sujeitos a uma inspeção visual realizada por um colaborador qualificado que identifica e exclui frascos que apresentem defeitos como impurezas no pó, rachaduras no vidro e defeitos de capsulagem. Não obstante, esta inspeção não é suficiente para verificar a integridade do sistema de fecho dos frascos que é testada, durante o período de operação, de hora a hora, pela extração de 5 frascos aleatórios e a realização de um teste de estanquicidade. Este teste qualitativo consiste na colocação dos frascos numa câmara de vácuo que contém uma solução de azul de metileno a 0,1% que atua como líquido rastreador. No fim do teste, os frascos são lavados e se for detetado, no interior dos frascos, coloração azul a integridade do sistema de fecho foi comprometida e os frascos devem ser rejeitados.

Para cumprir a diretriz 8.23 do Anexo 1, é necessário validar o teste de estanquicidade efetuado, garantindo a sua eficácia na deteção de defeitos do sistema de fecho dos frascos que comprometam a estanquicidade pretendida [8].

4.5.1 Resultados e Discussão

- Ensaio com frascos sem cápsula

Na Figura 4.29 está apresentado o resultado do teste de estanquicidade efetuado a 5 frascos de injetáveis não capsulados.



Figura 4.29 – Resultados do teste de estanquicidade para frascos não capsulados

Observa-se que, sem a cápsula, 80% das rolhas saíram dos frascos e conduziram à perda do pó e à entrada de azul de metileno. Comprova-se a importância da cápsula e do devido processo de capsulagem na integridade do sistema de fecho dos frascos de injetáveis. Denote-se que a ausência de cápsula é um defeito facilmente detectado pela inspeção visual do operador, após enchimento e capsulagem dos frascos, pelo que, frascos sem cápsula são imediatamente rejeitados e não são sujeitos ao teste de estanquicidade, não sendo necessário validar o teste para a detecção deste defeito.

- Simulação de defeitos de perfuração na rolha dos frascos:

Para determinar o limite de detecção do método para defeitos de perfuração na rolha realizaram-se 3 ensaios com 5 frascos para cada diâmetro de agulha (0,9 mm; 0,8 mm; 0,6 mm e 0,5 mm).

Apresenta-se, na Figura 4.30, o resultado do ensaio para perfurações de 0,6 mm que se encontra representado, antes do teste de estanquicidade, na Figura 3.8 da secção Validação do Método de Estanquicidade (Diretriz 8.23)3.4. Os resultados dos ensaios para simulação de defeitos de perfuração na rolha estão sumariados nas tabelas em seguida expostas (Tabela 4.17, Tabela 4.18, Tabela 4.19 e Tabela 4.20).



Figura 4.30 – Resultados do teste de estanquicidade para perfurações nas rolhas com diâmetro de 0,6 mm

Tabela 4.17 – Resultados do teste de estanquicidade para perfurações nas rolhas com diâmetro de 0,9 mm

Ensaio	Frasco nº1	Frasco nº2	Frasco nº3	Frasco nº4	Frasco nº5 (sem defeito)
1	✕	✕	✕	✕	✓
2	✕	✕	✕	✕	✓
3	✕	✕	✕	✕	✓

“✓” – Frasco com integridade intacta, “✕” – Frasco com integridade comprometida

Tabela 4.18 – Resultados do teste de estanquicidade para perfurações nas rolhas com diâmetro de 0,8 mm

Ensaio	Frasco nº1	Frasco nº2	Frasco nº3	Frasco nº4	Frasco nº5 (sem defeito)
1	✕	✕	✕	✕	✓
2	✕	✕	✕	✕	✓
3	✕	✕	✕	✕	✓

“✓” – Frasco com integridade intacta, “✕” – Frasco com integridade comprometida

Tabela 4.19 – Resultados do teste de estanquicidade para perfurações nas rolhas com diâmetro de 0,6 mm

Ensaio	Frasco nº1	Frasco nº2	Frasco nº3	Frasco nº4	Frasco nº5 (sem defeito)
1	✕	✕	✕	✕	✓
2	✕	✕	✕	✕	✓
3	✕	✕	✕	✕	✓

“✓” – Frasco com integridade intacta, “✕” – Frasco com integridade comprometida

Tabela 4.20 – Resultados do teste de estanquicidade para perfurações nas rolhas com diâmetro de 0,5 mm

Ensaio	Frasco nº1	Frasco nº2	Frasco nº3	Frasco nº4	Frasco nº5 (sem defeito)
1	✕	✕	✕	✕	✓
2	✕	✕	✕	✕	✓
3	✕	✕	✕	✕	✓

“✓” – Frasco com integridade intacta, “✕” – Frasco com integridade comprometida

Demonstrou-se que o teste de estanquicidade consegue detetar a perda de integridade dos frascos de injetáveis devido a perfurações na rolha para todos os diâmetros testados (0,9 mm; 0,8 mm; 0,6 mm e 0,5 mm). Destaca-se a facilidade da deteção visual da perda de integridade, uma vez que, o azul de metileno entrou completamente no interior dos frascos (vide Figura 4.30) e não há dúvida que a inspeção visual após limpeza dos frascos resulta na rejeição das amostras com este tipo de defeito.

Não tendo sido possível utilizar agulhas com diâmetros inferiores, conclui-se que o teste de estanquicidade permite detetar defeitos de perfuração na rolha dos frascos de injetáveis com diâmetros iguais ou superiores a 0,5 mm.

- Simulação de defeitos no processo de capsulagem:

Como já demonstrado no ensaio com frascos não capsulados, a cápsula tem um papel essencial na integridade do sistema de fecho dos frascos, impedindo que a rolha saia do sítio e o produto seja exposto a contaminantes. A simulação de defeitos no processo de capsulagem equivalentes à colocação de duas ou uma bola de vidro com 0,4 mm de diâmetro cada entre a rolha e o gargalo do frasco conduziu aos resultados apresentados nas Tabela 4.21 e Tabela 4.22, respetivamente.

Tabela 4.21 – Resultados do teste de estanquicidade para defeitos de capsulagem equivalentes a 2 bolas de vidro com 0,4 mm de diâmetro

Ensaio	Frasco nº1	Frasco nº2	Frasco nº3	Frasco nº4	Frasco nº5 (sem defeito)
1	✗	✗	✗	✗	✓
2	✗	✗	✗	✗	✓
3	✗	✗	✗	✗	✓

“✓” – Frasco com integridade intacta, “✗” – Frasco com integridade comprometida

Tabela 4.22 – Resultados do teste de estanquicidade para defeitos de capsulagem equivalentes a 1 bola de vidro com 0,4 mm de diâmetro

Ensaio	Frasco nº1	Frasco nº2	Frasco nº3	Frasco nº4	Frasco nº5 (sem defeito)
1	✗	✗	✗	✗	✓
2	✗	✗	✗	✗	✓
3	✗	✗	✗	✓	✓

“✓” – Frasco com integridade intacta, “✗” – Frasco com integridade comprometida

Da Tabela 4.21, comprova-se que o teste de estanquicidade tem a capacidade de detetar todos os defeitos no processo de capsulagem equivalentes a duas bolas de vidro com 0,4 mm de diâmetro cada e, pela Tabela 4.22, determinou-se que defeitos de capsulagem equivalentes a 1 bola de vidro com 0,4 mm de diâmetro são detetados pelo teste de estanquicidade com uma probabilidade de, aproximadamente, 91,7 %.

É de salientar que o processo de capsulagem ocorre assepticamente, após enchimento e colocação da rolha, no interior da máquina de enchimento, pelo que, uma falha no processo não é facilmente apurada e este tipo de defeito dificilmente é detetado na inspeção visual realizada pelos operadores após produção dos frascos, uma vez que, o posicionamento aparentemente correto da cápsula não comprova a integridade do sistema de fecho.

A Figura 4.31 corresponde ao ensaio nº1 realizado com 2 bolas de vidro, após o teste de estanquicidade, e demonstra que a perda de integridade dos frascos nº1 e nº2 é clara, apesar das cápsulas aparentemente estarem bem posicionadas.



Figura 4.31 – Resultados do teste de estanquicidade para defeitos de capsulagem com 2 bolas de vidro

Adicionalmente, pela análise da Figura 4.31, a integridade dos frascos nº3, nº4 e nº5 não pode ser comprovada, uma vez que, a zona do gargalo não é verificada. A Figura 4.32 apresenta os resultados deste ensaio após a descapsulagem dos frascos.



Figura 4.32 – Resultados do teste de estanquicidade para defeitos de capsulagem com 2 bolas de vidro, após descapsulagem dos frascos

Verifica-se, após descapsulagem, que a integridade do sistema de fecho dos frascos nº3 e nº4 também foi comprometida, tendo entrado azul de metileno na zona do gargalo dos frascos onde se localizam as bolas de vidro.

Posto isto, conclui-se que o teste de estanquicidade permite detetar defeitos de capsulagem equivalentes a 1 bola de vidro com 0,4 mm de diâmetro com uma probabilidade de 91,7% e na totalidade para defeitos equivalentes a 2 bolas de vidro com 0,4 mm de diâmetro cada e destaca-se a particular importância da realização deste teste para a deteção de defeitos desta categoria que por inspeção visual não são identificados.

- Simulação de defeitos no vidro do frasco:

Na Figura 4.33 apresentam-se os resultados do ensaio realizado com frascos com defeito no vidro.



Figura 4.33 – Resultados do teste de deteção de defeitos no vidro dos frascos

Observa-se que, após realização do teste de estanquicidade, todos os frascos de injetáveis com defeitos no vidro foram preenchidos com a solução de azul de metileno. O teste de estanquicidade mostra-se capaz de detetar quebras e rachas no vidro dos frascos que conduzam à perda da integridade do sistema de fecho dos frascos de injetáveis. De forma semelhante aos frascos sem cápsula, frascos com defeitos bem visíveis no vidro são facilmente rejeitados na inspeção visual, não chegando a ser submetidos ao teste de estanquicidade. No entanto, defeitos no vidro do gargalo, tapados pela cápsula, podem não ser detetados visualmente, tendo-se demonstrado a capacidade do teste de estanquicidade para a respetiva deteção.

Em suma, com a finalização de todos os ensaios, conclui-se que o teste de estanquicidade utilizado para avaliar a integridade do sistema de fecho dos frascos de injetáveis é capaz de detetar os seguintes defeitos:

- Perfurações na rolha dos frascos com diâmetros de, pelo menos, 0,5 mm;
- Defeitos de capsulagem equivalentes à colocação de uma bola com 0,4 mm de diâmetro, correspondente a uma brecha de 0,4 mm de altura e de largura, entre o gargalo do frasco e a rolha, com probabilidade de 91,7%;
- Defeitos no vidro do frasco;

Com isto, demonstrou-se que o teste de estanquicidade é adequado para a avaliação da integridade do sistema de fecho dos frascos de injetáveis, encontrando-se validado para o efeito.

4.6 Diretrizes 8.87 - 8.89: Integridade de Filtros

Nas áreas de processamento asséptico existem diversas utilidades gasosas (azoto e ar comprimido) que passam por filtros estéreis antes da sua imediata utilização. Para garantir o bom funcionamento dos filtros estéreis de utilidades, estes devem ser sujeitos a um teste de integridade não destrutivo. Para além disso, as soluções de agentes de limpeza e desinfetantes utilizados na APA são filtrados antes da entrada.

A periodicidade da testagem dos filtros depende da criticidade atribuída aos mesmos, filtros considerados críticos devem ser testados após cada uso, ou seja, ao fim de cada semana de produção e a filtros não críticos devem ser testados em intervalos definidos de acordo com o risco que apresenta a perda de integridade do filtro.

Para classificar os filtros, de acordo com a sua criticidade, e definir a periodicidade da realização dos testes de integridades, efetuou-se uma Análise de Modo e Efeito de Falha para todos os filtros

utilizados para uma filtração esterilização de utilidades e desinfetantes em cada setor de produção de injetáveis.

4.6.1 Resultados e Discussão

Para melhor compreensão das análises efetuadas, é importante considerar que não existe, nos Laboratórios Atral, um teste prévio à integridade dos filtros de gases, sendo os mesmos substituídos de acordo com a periodicidade recomendada por cada fornecedor. Assim, não há qualquer registo de dados históricos que permitam classificar a probabilidade da perda de integridade deste tipo de filtro, tendo-se excluído das análises o parâmetro de probabilidade de ocorrência (vide secção 2.3.1). Para os filtros usados na filtração de líquidos (agentes de limpeza e desinfetantes) era efetuado o teste de ponto de bolha para a avaliação da integridade, antes da utilização. No entanto, não existe nenhum registo históricos das falhas do teste, não sendo possível obter dados para avaliar a probabilidade de ocorrência, excluindo-se este parâmetro da análise de risco para estes filtros.

Adicionalmente, a deteção da perda de integridade será realizada através dos testes de integridade a implementar, assim, a análise do parâmetro de deteção de falha é redundante, não tendo sido considerada. Posto isto, a FMEA recai na severidade do efeito de falha de cada filtro e o RPN corresponde ao valor atribuído à severidade.

Tabela 4.23 – FMEA à perda de integridade dos filtros da linha 1 do INJ2

Categoria do Filtro e Fluido Filtrado	Função	Efeito das Falhas	S
Filtro de desinfetantes (Cloreto de benzalcônio, lixívia, etc)	Filtrar os desinfetantes	Desinfetante não Estéril	1
Filtro de Expulsão, limpeza e inertização frascos DOSA (Azoto)	Enchimento do pó	Contaminação do produto	5
Filtro máquina lavar frascos (Ar comprimido)	Lavagem dos frascos	Limpeza inadequada dos frascos	2
Filtro reservatório máquina lavar frascos (Água)	Lavagem dos frascos	Limpeza inadequada dos frascos	2
Filtro entrada máquina lavar frascos (Água)	Lavagem dos frascos	Limpeza inadequada dos frascos	2
Filtro da autoclave (Ar)	Esterilização de materiais	Esterilização sem efeito e contaminação do produto	5
Filtro geral da máquina de enchimento (Azoto)	Enchimento do pó	Contaminação do produto	5

Tabela 4.24 – FMEA à perda de integridade dos filtros da linha 2 do INJ2

Categoria do Filtro e Fluido Filtrado	Função	Efeito das Falhas	S
Filtro de desinfetantes (Cloreto de benzalcônio, lixívia, etc)	Filtrar os desinfetantes	Desinfetante não estéril	1
Filtro de Expulsão, limpeza e inertização frascos MACOFAR (Azoto)	Enchimento do pó	Contaminação do produto	5
Filtro máquina lavar frascos (Ar comprimido)	Lavagem dos frascos	Limpeza inadequada dos frascos	2
Filtro máquina lavar frascos (Água)	Lavagem dos frascos	Limpeza inadequada dos frascos	2
Filtro máquina lavar frascos (Água reciclada)	Lavagem dos frascos	Limpeza inadequada dos frascos	2
Filtro da autoclave (Ar)	Esterilização de materiais	Esterilização sem efeito e contaminação do produto	5
Filtro geral da máquina de enchimento (Azoto)	Enchimento do pó	Contaminação do produto	5
Filtro geral da máquina de enchimento (Ar comprimido)	Correto funcionamento da máquina	Contaminação do ambiente	4

Tabela 4.25 – FMEA à perda de integridade dos filtros do INJ3

Categoria do Filtro e Fluido Filtrado	Função	Efeito das Falhas	S
Filtro de desinfetantes (Cloreto de benzalcónio, lixívia, etc)	Filtrar os desinfetantes	Desinfetante não estéril	1
Filtro de azoto (Azoto)	Enchimento do pó	Contaminação do produto	5
Filtro máquina lavar frascos (Ar comprimido)	Lavagem dos frascos	Limpeza inadequada dos frascos	2
Filtro máquina lavar frascos (Água)	Lavagem dos frascos	Limpeza inadequada dos frascos	2
Filtro da autoclave (Ar)	Esterilização de materiais	Esterilização sem efeito e contaminação do produto	5
Filtro da máquina de enchimento – Descarga (Azoto)	Enchimento do pó	Contaminação do produto	5
Filtro da máquina de enchimento – Limpeza (Azoto)	Limpeza do pó que permanece na roda após o enchimento	Contaminação do ambiente	4

Considerou-se a severidade da perda de integridade de filtros de desinfetantes mínima ($S=1$), apesar do contexto de utilização em áreas de processamento asséptico, uma vez que, os desinfetantes são utilizados na higienização da sala e da máquina de enchimento, antes do início da operação, não estando em contacto com o produto e precedendo a desinfecção aérea da área que desinfeta todas as superfícies e não está dependente de filtros.

A falha dos filtros das máquinas de lavar os frascos, independentemente da utilidade filtrada, foi considerada pouco grave ($S=2$), uma vez que, após lavagem, os frascos são encaminhados para o túnel de esterilização onde a contaminação microbiológica é eliminada.

A perda de integridade dos filtros destas duas categorias é então classificada como não crítica, tendo-se optado por testar a integridade dos mesmos com uma periodicidade mensal.

Os restantes filtros apresentados nas tabelas são considerados críticos pelo impacto direto (filtros com severidade igual a 5) ou indireto (filtros com severidade de 4) que têm na qualidade e segurança do produto, devendo a perda de integridade dos mesmos ser testada no fim de cada semana de operação.

4.7 Diretriz 9.36 (v.): Monitorização Microbiológica em Anaerobiose

No processo de enchimento asséptico dos frascos de injetáveis utiliza-se um gás inerte (azoto) para transportar o pó até ao interior dos frascos e, para produtos que se degradam na presença de oxigénio, realiza-se, após enchimento, a inertização com azoto da atmosfera no interior dos frascos para conservar a qualidade do produto até ao recetor final.

A ausência de oxigénio pode conduzir à proliferação de microrganismos anaeróbios, caracterizados por utilizarem o processo fermentação para obtenção de energia, não necessitando de oxigénio. Atualmente, o controlo microbiológico das linhas de produção de injetáveis é efetuado apenas em aerobiose, pelo que, não existe uma estratégia para a deteção de microrganismos anaeróbios.

De acordo com a diretriz 9.36 (v.) do Anexo 1 (vide Tabela 2.1) deve considerar-se a realização de uma monitorização em anaerobiose ocasional das linhas de produção de injetáveis durante a simulação do processo asséptico (denominado por *Media Fill*, onde os frascos são cheios com produto e com meio nutritivo para avaliar o crescimento microbiológico, caso exista). Como o *Media Fill* ocorre após a paragem da unidade fabril (início de setembro), decidiu-se efetuar de imediato um controlo microbiológico em anaerobiose do ar, com placas de sedimentação, e de superfícies e fardamento dos operadores, com placas de contacto, durante 3 dias consecutivos de produção de forma a avaliar o risco de contaminação por microrganismos anaeróbios nas unidades de produção de injetáveis. Adicionalmente, aquando

da realização do *Media Fill*, executou-se, durante um dia de enchimento, a monitorização em anaerobiose das linhas 1 e 2 do INJ2 e do INJ3.

Relativamente aos locais de amostragem para a monitorização em anaerobiose, escolheram-se os locais definidos previamente pelos Laboratórios Atral, através de análises de risco, para as monitorizações de rotina. Os critérios de aceitação são iguais aos da monitorização microbiológica em aerobiose (vide Tabela 3.5).

4.7.1 Resultados e Discussão

Apresentam-se em seguida os resultados da monitorização em anaerobiose, durante 3 dias de produção, dos setores de produção de injetáveis da unidade fabril.

Tabela 4.26 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Ar, com placas de sedimentação, na Linha 1 do INJ2 da UP

Local de Amostragem	Classe	Dia 1 (UFC)	Dia 2 (UFC)	Dia 3 (UFC)
2 – 3ª antecâmara do vestiário de entrada de pessoas	B	<1	<1	<1
3 – Sala de enchimento	B	<1	<1	<1
4 – Mesa da balança	B	<1	<1	<1
8 – Tapete da Dosa	A	<1	<1	<1
9 – Pulmão dos frascos da Dosa	A	<1	<1	<1
10 – Saída do túnel	A	<1	<1	<1
14 – Fluxo de ar, bancada de transferência de pós	A	<1	<1	<1
15 – Sala de pesagem/mistura	B	<1	<1	<1
16 – 2ª antecâmara de entrada de matérias-primas	B	<1	<1	<1
20 – Zona de enchimento da Dosa, junto ao acesso dos operadores	A	<1	<1	<1

Tabela 4.27 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose de Superfícies, com placas de contacto, na Linha 1 do INJ2 da UP

Local de Amostragem	Classe	Dia 1 (UFC)	Dia 2 (UFC)	Dia 3 (UFC)
2 – Porta da 3ª antecâmara do vestiário de entrada de pessoas	B	<1	<1	<1
5 – Mesa de controlo de pesos	B	<1	<1	<1
10 – Porta interna da Dosa	A	<1	<1	<1
11 – Ligação asséptica, entrada de pó	B	<1	<1	<1
12 – Porta exterior da Dosa	B	<1	<1	<1
14 – Saída do túnel	A	<1	<1	<1
15 – Porta da autoclave	B	<1	<1	<1
19 – Fluxo de ar, bancada de transferência de pós	A	<1	<1	<1

Tabela 4.28 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Fardamento, com placas de contacto, na Linha 1 do INJ2 da UP

Local de Amostragem*	Dia 1		Dia 2			Dia 3		
	Col 1 (UFC)	Col 2 (UFC)	Col 1 (UFC)	Col 2 (UFC)	Col 3 (UFC)	Col 1 (UFC)	Col 2 (UFC)	Col 3 (UFC)
3 – Fato, axila direita	<1	<1	-	-	-	<1	-	<1
4 – Luva esquerda	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
5 – Luva direita	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
10 – Bota esquerda	-	-	<1	-	-	-	-	-
11 – Bota direita	-	-	-	<1	<1	-	<1	-

*A avaliação do fardamento dos colaboradores segue os critérios de classe B.

Tabela 4.29 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Ar, com placas de sedimentação, na Linha 2 do INJ2 da UP

Local de Amostragem	Classe	Dia 1 (UFC)	Dia 2 (UFC)	Dia 3 (UFC)
2 – 3ª antecâmara do vestiário de entrada de pessoas	B	<1	<1	<1
3 – Sala de enchimento	B	<1	<1	<1
5 – Capsulagem	B(A)*	<1	<1	<1
7 – Ao lado da máquina, junto do depósito de pó e rolhas	B(A)*	<1	<1	<1
8 – Máquina de enchimento, junto à porta de acesso dos operadores	A	<1	<1	<1
13 – Fluxo de ar, transferência de pós	A	<1	<1	<1
14 – Sala de pesagem/mistura	B	<1	<1	<1
15 – 3ª antecâmara de matérias-primas	B	<1	<1	<1
18 – Saída de frascos da APA, passagem para a inspeção visual	B	<1	<1	<1

*B(A): Zona de classe B com ar de classe A.

Tabela 4.30 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose de Superfícies, com placas de contacto, na Linha 2 do INJ2 da UP

Local de Amostragem	Classe	Dia 1 (UFC)	Dia 2 (UFC)	Dia 3 (UFC)
2 – Porta da 3ª antecâmara do vestiário de entrada de pessoas	B	<1	<1	<1
5 – Mesa de controlo de pesos	B	<1	<1	<1
7 – Zona exterior do depósito de rolhas	B(A)*	<1	<1	<1
9 – Porta, lado de dentro da máquina de enchimento	A	<1	<1	<1
11 – Saída do túnel	A	<1	<1	<1
12 – Porta exterior da Macofar	B	<1	<1	<1
13 – Porta da autoclave	B	<1	<1	<1
15 – Fluxo de ar, bancada de transferência de pós	A	<1	<1	<1

*B(A): Zona de classe B com ar de classe A

Tabela 4.31 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Fardamento, com placas de contacto, na Linha 2 do INJ2 da UP

Local de Amostragem*	Dia 1				Dia 2			Dia 3
	Col 1 (UFC)	Col 2 (UFC)	Col 3 (UFC)	Col 4 (UFC)	Col 1 (UFC)	Col 2 (UFC)	Col 3 (UFC)	Col 1 (UFC)
2 – Fato, axila esquerda	-	-	-	-	<1	<1	<1	-
3 – Fato, axila direita	<1	<1	<1	<1	-	-	-	-
4 – Luva esquerda	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
5 – Luva direita	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
10 – Bota esquerda	-	-	-	-	-	-	-	<1

*A avaliação do fardamento dos colaboradores segue os critérios de classe B.

Tabela 4.32 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Ar, com placas de sedimentação, no INJ3 da UC

Local de Amostragem	Classe	Dia 1 (UFC)	Dia 2 (UFC)	Dia 3 (UFC)
3 – Interior da máquina de enchimento	A	<1	<1	<1
6 – Parede externa da bacia de cápsulas	B(A)*	<1	<1	<1
7 – Mesa de apoio	B	<1	<1	<1
8 – Sala de enchimento	B	<1	<1	<1
12 – Sala de descarga da autoclave	B	<1	<1	<1
13 – 3ª Antecâmara de materiais	B	<1	<1	<1
14 – 3ª Antecâmara de pessoas, entrada	B	<1	<1	<1
17 – Painel de comandos da máquina	B	<1	<1	<1
18 – Zona de transferência do pó	A	<1	<1	<1
19 – Sala de saída dos frascos	B	1	<1	<1

*B(A): Zona de classe B com ar de classe A

Tabela 4.33 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose de Superfícies, com placas de contacto, no INJ3 da UC

Local de Amostragem	Classe	Dia 1 (UFC)	Dia 2 (UFC)	Dia 3 (UFC)
2 – Entrada de frascos, interior da porta	A	<1	<1	<1
3 – Parte externa da porta da câmara de enchimento	B	<1	<1	<1
5 – Parede externa da bacia de cápsulas	B(A)*	<1	<1	<1
8 – Parte interna da base da máquina	A	<1	<1	<1
9 – Mesa de apoio	B	<1	<1	<1
14 – Carro de transporte de material	A	<1	<1	<1
16 – Porta, junto ao puxador, 3ª antecâmara de materiais	B	<1	<1	<1
17 – Porta, junto ao puxador, 3ª antecâmara de pessoas	B	<1	<1	<1

*B(A): Zona de classe B com ar de classe A

Tabela 4.34 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Fardamento, com placas de contacto, no INJ3 da UC

Local de Amostragem*	Dia 1		Dia 2		Dia 3	
	Col 1 (UFC)	Col 2 (UFC)	Col 1 (UFC)	Col 2 (UFC)	Col 1 (UFC)	Col 2 (UFC)
2 – Fato, axila esquerda	-	-	<1	<1	-	-
3 – Fato, axila direita	0	0	-	-	-	-
4 – Luva esquerda	<1	<1	<1	<1	<1	<1
5 – Luva direita	<1	<1	<1	<1	<1	<1
10 – Bota esquerda	-	-	-	-	<1	<1

*A avaliação do fardamento dos colaboradores segue os critérios de classe B.

A análise das tabelas apresentadas permite observar a ausência de crescimento microbiológico de seres anaeróbios em todos locais de amostragem da UP e apenas a identificação de uma unidade formadora de colónias no local de amostragem nº19 do controlo do ar com placas de sedimentação, localizado na sala de saída dos frascos, zona de classe B, na UC (Tabela 4.32). Identificou-se este microrganismo como sendo uma bactéria da espécie *Staphylococcus haemolyticus*, tipicamente encontrada na flora da pele dos seres humanos [61].

Por ser um microrganismo anaeróbico facultativo [61], a deteção da presença do mesmo pode ser efetuada tanto em controlo microbiológico em anaerobiose como em controlo microbiológico em aerobiose, pelo que, a presença desta bactéria, por si só, não justifica a implementação de uma monitorização diária em anaerobiose das linhas de produção de injetáveis da unidade fabril.

Relativamente à monitorização microbiológica em anaerobiose, ao longo de um dia de enchimento, durante a simulação do processo asséptico, da linha 1 da UP e do INJ3 apresentam-se nas tabelas em seguida os resultados.

Tabela 4.35 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Ar, com placas de sedimentação, na Linha 1 do INJ2 da UP, durante o *Media Fill*

Local de Amostragem	Classe	Resultados (UFC)
2 – 3ª antecâmara do vestiário de entrada de pessoas	B	<1
3 – Sala de enchimento	B	<1
4 – Mesa da balança	B	<1
8 – Tapete da Dosa	A	<1
9 – Pulmão dos frascos da Dosa	A	<1
10 – Saída do túnel	A	<1
14 – Fluxo de ar, bancada de transferência de pós	A	<1
15 – Sala de pesagem/mistura	B	<1
16 – 2ª antecâmara de entrada de matérias-primas	B	<1
20 – Zona de enchimento da Dosa, junto ao acesso dos operadores	A	<1

Tabela 4.36 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose de Superfícies, com placas de contacto, na Linha 1 do INJ2 da UP, durante o *Media Fill*

Local de Amostragem	Classe	Resultados (UFC)
2 – Porta da 3ª antecâmara do vestiário de entrada de pessoas	B	<1
5 – Mesa de controlo de pesos	B	<1
10 – Porta interna da Dosa	A	<1
11 – Ligação asséptica, entrada de pó	B	<1
12 – Porta exterior da Dosa	B	<1
14 – Saída do túnel	A	<1
15 – Porta da autoclave	B	<1
19 – Fluxo de ar, bancada de transferência de pós	A	<1

Tabela 4.37 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Fardamento, com placas de contacto, na Linha 1 do INJ2 da UP, durante o *Media Fill*

Local de Amostragem*	Resultados	
	Col 1 (UFC)	Col 2 (UFC)
3 – Fato, axila direita	<1	<1
4 – Luva esquerda	<1	<1
5 – Luva direita	<1	<1

*A avaliação do fardamento dos colaboradores segue os critérios de classe B.

Tabela 4.38 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Ar, com placas de sedimentação, na Linha 2 do INJ2 da UP, durante o *Media Fill*

Local de Amostragem	Classe	Resultados (UFC)
2 – 3ª antecâmara do vestiário de entrada de pessoas	B	<1
3 – Sala de enchimento	B	<1
5 – Capsulagem	B(A)*	<1
7 – Ao lado da máquina, junto do depósito de pó e rolhas	B(A)*	<1
8 – Máquina de enchimento, junto à porta de acesso dos operadores	A	<1
13 – Fluxo de ar, transferência de pós	A	<1
14 – Sala de pesagem/mistura	B	<1
15 – 3ª antecâmara de matérias-primas	B	<1
18 – Saída de frascos da APA, passagem para a inspeção visual	B	<1

*B(A): Zona de classe B com ar de classe A

Tabela 4.39 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose de Superfícies, com placas de contacto, na Linha 2 do INJ2 da UP, durante o *Media Fill*

Local de Amostragem	Classe	Resultados (UFC)
2 – Porta da 3ª antecâmara do vestiário de entrada de pessoas	B	<1
5 – Mesa de controlo de pesos	B	<1
7 – Zona exterior do depósito de rolhas	B(A)*	<1
9 – Porta, lado de dentro da máquina de enchimento	A	<1
11 – Saída do túnel	A	<1
12 – Porta exterior da Macofar	B	<1
13 – Porta da autoclave	B	<1
15 – Fluxo de ar, bancada de transferência de pós	A	<1

*B(A): Zona de classe B com ar de classe A

Tabela 4.40 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Fardamento, com placas de contacto, na Linha 2 do INJ2 da UP, durante o *Media Fill*

Local de Amostragem*	Resultados
	Col 1 (UFC)
3 – Fato, axila direita	<1
4 – Luva esquerda	<1
5 – Luva direita	<1
6 – Fato, pulso esquerdo	<1
7 – Fato, pulso direito	<1

*A avaliação do fardamento dos colaboradores segue os critérios de classe B.

Tabela 4.41 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Ar, com placas de sedimentação, no INJ3 da UC, durante o *Media Fill*

Local de Amostragem	Classe	Resultados (UFC)
3 – Interior da máquina de enchimento	A	<1
6 – Parede externa da bacia de cápsulas	B(A)*	<1
7 – Mesa de apoio	B	<1
8 – Sala de enchimento	B	<1
12 – Sala de descarga da autoclave	B	<1
13 – 3ª Antecâmara de materiais	B	<1
14 – 3ª Antecâmara de pessoas, entrada	B	<1
17 – Pannel de comandos da máquina	B	<1
18 – Zona de transferência do pó	A	<1
19 – Sala de saída dos frascos	B	<1

*B(A): Zona de classe B com ar de classe A

Tabela 4.42 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose de Superfícies, com placas de contacto, no INJ3 da UC, durante o *Media Fill*

Local de Amostragem	Classe	Resultados (UFC)
2 – Entrada de frascos, interior da porta	A	<1
3 – Parte externa da porta da câmara de enchimento	B	<1
5 – Parede externa da bacia de cápsulas	B(A)*	<1
8 – Parte interna da base da máquina	A	<1
9 – Mesa de apoio	B	<1
14 – Carro de transporte de material	A	<1
16 – Porta, junto ao puxador, 3ª antecâmara de materiais	B	<1
17 – Porta, junto ao puxador, 3ª antecâmara de pessoas	B	<1

*B(A): Zona de classe B com ar de classe A

Tabela 4.43 – Resultados da Monitorização Microbiológica em Anaerobiose do Fardamento, com placas de contacto, no INJ3 da UC, durante o *Media Fill*

Local de Amostragem*	Dia 1 – Turno 1		Dia 1 – Turno 2		
	Col 1 (UFC)	Col 2 (UFC)	Col 1 (UFC)	Col 2 (UFC)	Col 3 (UFC)
1 – Capuz, zona da boca	-	-	<1	1	<1
2 – Fato, axila esquerda	<1	<1	<1	<1	<1
3 – Fato, axila direita	<1	<1	<1	<1	<1
4 – Luva esquerda	-	-	<1	<1	<1
5 – Luva direita	-	-	<1	<1	<1
6 – Fato, pulso esquerdo	-	-	<1	<1	<1
7 – Fato, pulso direito	-	-	<1	<1	<1
8 – Fato, zona do peito	<1	<1	<1	<1	<1
9 – Fato, zona da virilha	-	-	<1	<1	<1
10 – Bota esquerda	-	-	<1	<1	2
11 – Bota direita	-	-	<1	<1	<1

*A avaliação do fardamento dos colaboradores segue os critérios de classe B.

De forma semelhante à monitorização em anaerobiose durante as operações de rotina, não foi detetado crescimento microbiológico na monitorização em anaerobiose da linha 1 do INJ2 da UP durante o *Media Fill* (Tabela 4.35, Tabela 4.36 e Tabela 4.37) e na linha 2 do INJ2 da UP (Tabela 4.38, Tabela 4.39 e Tabela 4.40). Assim, estas linhas de produção demonstraram resultados conformes, não existindo evidência de crescimento de microrganismos anaeróbios no INJ2 da UP.

Em relação ao INJ3, as monitorizações microbiológicas do ar com placas de sedimentação (Tabela 4.41) e de superfícies com placas de contacto (Tabela 4.42) resultaram na ausência de crescimento microbiológico. No entanto, na monitorização microbiológica do fardamento (Tabela 4.43), detetou-se 1 UFC no local de amostragem nº1 (capuz, zona da boca) do colaborador nº2 e 2 UFC no local de amostragem nº10 (bota esquerda) do colaborador nº3. Como o fardamento dos operadores é avaliado segundo

os critérios de classe B, estes resultados estão abaixo do limite de alerta e de ação (3 e 5 UFC, respectivamente), não sendo alarmantes.

Em suma, a análise dos resultados da monitorização microbiológica em anaerobiose, durante a operação de rotina e no *Media Fill*, das linhas de produção de injetáveis permitiu concluir que a utilização de um gás inerte (azoto) no processo de enchimento pode facilitar o crescimento de seres anaeróbios, no entanto, todos os resultados estão dentro dos critérios de aceitação, tendo-se optado pela implementação de uma monitorização microbiológica em anaerobiose durante, pelo menos, uma simulação do processo asséptico por ano em todas as linhas de produção de injetáveis da unidade fabril. Esta decisão permite o cumprimento da diretriz 9.36 (v.) do Anexo 1 e reforça as medidas de monitorização e controlo existentes na fábrica para salvaguardar a qualidade e segurança do produto.

4.8 Outras Diretrizes

Para além das diretrizes já mencionadas nesta dissertação, implementaram-se e/ou atualizaram-se as diretrizes mencionadas em seguida.

- Diretriz 4.28: Requalificação de Zonas Limpas

A requalificação das salas dos setores de injetáveis ocorre semestralmente, nos laboratórios Atral, através de uma entidade externa que realiza a contagem de partículas, em repouso e em operação, nas salas de forma a determinar a sua classificação atual. É dever da Atral garantir que, em cada sala, o número e localização das amostras realizadas cumpre a regulação ISO 14644 Parte 1 e, de acordo com a diretriz 4.28, para zonas de processamento asséptico e respetivo *background*, é necessário garantir que existe um ponto de amostragem em todas as zonas críticas de processamento [8].

Posto isto, para cada sala de processamento asséptico, determinaram-se as zonas críticas, através de critérios como exposição direta do produto ao ambiente, elevado fluxo de colaboradores, entrada de matérias-primas ou materiais, zona de intervenções, entre outros e distribuíram-se os locais de amostragem adequadamente.

- Diretriz 4.33: Limpeza e Desinfecção de Zonas Limpas

Nesta diretriz, salienta-se a importância da limpeza e desinfecção de zonas limpas, sendo obrigatório a existência de procedimentos escritos e detalhados que permitam a formação dos colaboradores. Adicionalmente, o programa de desinfecção deve incluir mais do que um tipo de desinfetante e, periodicamente, deve ser utilizado um agente desinfetante com esporicida [8].

Para além da utilização semanal de peróxido de hidrogénio ou formaldeído (desinfetantes com atividade esporicida) para a desinfecção das áreas de processamento asséptico, optou-se por utilizar hipoclorito de sódio (lixívia), quinzenalmente, para a desinfecção das máquinas de enchimento asséptico e das saídas dos túneis de esterilização na linha 1 e 2 do INJ2, tendo-se atualizado as respetivas instruções de limpeza e desinfecção.

Como já mencionado, na UP, as matérias-primas são pesadas e preparadas em salas destinadas a esse fim. As salas de preparação de matérias-primas são zonas limpas, pelo que, elaborou-se um procedimento de limpeza e desinfecção das mesmas, que inclui instruções para a limpeza e desinfecção do espaço geral, do fluxo de transferência de pó e da bancada, balança e misturador. Tal como nas áreas de processamento asséptico, esta instrução inclui a desinfecção quinzenal com lixívia e os tempos máximos de espera entre cada etapa de limpeza e desinfecção, exigência da diretriz 8.18 do Anexo 1.

- Diretriz 8.19: Monitorização de Operações Assépticas

Para cumprir a legislação relativa a esta diretriz, é necessária a supervisão regular das operações assépticas por colaboradores qualificados [8]. Assim, elaborou-se um registo de monitorização visual de operações assépticas que permite, ao colaborador qualificado, a documentação do tipo de operações supervisionadas, dos operadores em causa e de qualquer anomalia nas práticas de processamento asséptico, de forma a permitir o alerta ao chefe de setor e à garantia de qualidade e a tomada de medidas adequadas.

Com a implementação desta diretriz, procedeu-se à supervisão da montagem dos sacos de meio de cultura e respetivas mangueiras no INJ3 para o arranque da simulação do processo asséptico e da respetiva monitorização microbiológica com placas de contacto, placas de sedimentação e amostrador de ar no INJ3. Observou-se ainda a calibração da bomba peristáltica e o arranque do processo de enchimento asséptico, tendo-se detetado que os frascos não apresentavam a solubilização pretendida, sendo necessário alterar a razão entre o volume do meio e do pó.

Realizou-se também a supervisão da montagem da máquina de enchimento asséptico DOSA 302 PEP5 da linha 1 da UP e da máquina MACOFAR MT9 302 PEP6 da linha 2 da UP, ambas para o *Media Fill*. Na linha 2 verificou-se ainda a esterilização dos frascos no túnel de esterilização, a conclusão de um ciclo de esterilização da autoclave e o ajuste do caudal da bomba peristáltica. Relativamente à linha 1, monitorizou-se a mudança do saco do meio nutritivo e o ajuste de volume do meio, tendo-se observado uma não conformidade no processo de capsulagem que foi devidamente registado e comunicado.

Estas monitorizações permitiram a aquisição de conhecimento mais profundo sobre o processo de simulação de enchimento asséptico e a melhoria contínua do mesmo através da deteção de pontos a

melhorar e de medidas preventivas a serem implementadas. Adicionalmente, a equipa da garantia da qualidade forneceu *feedback* ao chefe de cada setor que posteriormente comunicou aos colaboradores envolvidos os aspetos positivos e negativos das operações realizadas, possibilitando o crescimento contínuo e potencializando a minimização de riscos.

5.

CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO

O cumprimento do Anexo 1 das Boas Práticas de Fabrico é obrigatório para produtores de medicamentos estéreis uma vez que, a via de administração parental implica o contacto direto entre o fármaco e a corrente sanguínea do paciente, sendo essencial garantir que não se introduz contaminação microbiana, de partículas ou de endotoxinas/pirogênicos no mesmo.

O objetivo desta dissertação foi a implementação das novas diretrizes do Anexo 1 das Boas Práticas de Fabrico, que descreve as leis em vigor para a produção de medicamentos estéreis, nas linhas de produção de injetáveis da unidade fabril (linha 1 e 2 do INJ2 e INJ3).

Em particular, este trabalho permitiu realizar uma avaliação global da eficiência da estratégia de controlo e contaminação implementada no INJ3, assegurando a conformidade dos controlos existentes no setor e permitindo a melhoria contínua dos mesmos (diretriz 2.3).

Adicionalmente, validou-se o método de estanquicidade para a verificação de integridade do sistema de fecho de frascos de injetáveis (diretriz 8.19), tendo-se demonstrado a capacidade de deteção de defeitos na rolha dos frascos com diâmetros iguais ou superiores a 0,5 mm, de defeitos no processo de capsulagem equivalentes a uma brecha de 0,4 mm de largura e comprimento entre o gargalo e a rolha do frasco e de defeitos no vidro dos frascos. E realizou-se a validação do processo de entrada de materiais pelas antecâmaras do INJ3 por desinfecção, tendo-se demonstrado a eficácia do processo para placas de monitorização, material não autoclavável envolvido em invólucros e material não autoclavável sem invólucros. A conclusão desta validação encontra-se pendente dos resultados das investigações iniciadas à contaminação de uma bilha de matérias-primas e à esterilidade de sacos de cápsulas.

Realizou-se a qualificação de instalação e operação dos microdifusores NOUVAIR 302SH9, 302SH10, 302SH11, 302SH12 e 302SH13, os 4 primeiros a instalar na linha 1 do INJ2 e o último a instalar no setor da microbiologia, encontrando-se aptos à instalação e operação. Iniciou-se a qualificação de *performance* dos equipamentos destinados à linha 1 do INJ2, tendo a conclusão desta etapa ficado pendente para trabalho futuro.

Elaborou-se um procedimento detalhado de montagem das máquinas de enchimento asséptico da linha 2 do INJ2 e do INJ3, com a inclusão dos cuidados a ter para evitar contaminação microbiológica (diretriz 8.12), atualizaram-se as instruções de limpeza e desinfecção de zonas limpas do INJ2, tendo-se

adicionado o uso quinzenal de lixívia (atividade esporicida) aos protocolos, e criou-se uma instrução de limpeza e desinfecção para a sala de preparação de matérias-primas, considerada uma zona limpa devido ao manuseamento asséptico das mesmas, cumprindo as diretrizes 4.33 e 8.18 do Anexo 1.

Determinou-se, através de análises de risco, a criticidade de cada filtro de esterilização de gases (azoto e ar comprimido) e de líquidos que entram nas áreas de processamento asséptico, o que possibilitou definir a periodicidade da realização do teste de integridade destes filtros, de acordo com as diretrizes 8.87, 8.88 e 8.89 do Anexo 1.

Implementou-se um registo de monitorização de operações assépticas (diretriz 8.19), que permitiu a supervisão de operações como o arranque da simulação do processo asséptico, a monitorização microbiológica das áreas de processamento asséptico e a montagem de máquinas de enchimento, proporcionando, ao departamento da garantia da qualidade, um contacto mais próximo com a produção e a transmissão do *feedback* mais adequado, como correções ou melhorias a implementar.

Em relação à monitorização microbiológica em ambiente de anaerobiose, os resultados obtidos através desta monitorização em 3 dias de operação de rotina e durante 1 dia de enchimento durante a simulação do processo asséptico encontram-se dentro dos critérios de aceitação, tendo-se decidido implementar esta monitorização anualmente durante a realização da simulação do processo asséptico, como descrito no ponto v. da diretriz 9.36.

A aplicação das medidas supramencionadas permitiu a introdução de novas práticas nas áreas de preparação de injetáveis da unidade fabril que reforçam a segurança e qualidade do produto, diminuindo o risco de contaminação e permitindo a melhoria contínua do processo de produção asséptico.

Para a conclusão da implementação das diretrizes do novo Anexo 1 apresentam-se as seguintes tarefas a realizar em trabalho futuro:

- Conclusão da qualificação de *performance* dos sistemas de desinfecção aérea a instalar na linha 1 do INJ2, utilizando as condições determinadas no 2º ciclo de desinfecção efetuado para cada sistema, de forma a garantir a eficácia dos ciclos restantes;
- Realização da qualificação de *performance* do microdifusor 302SH13 e respetivo desinfetante, a instalar no setor de microbiologia;
- Conclusão da validação do processo de desinfecção utilizado para a entrada de materiais pelas antecâmaras no INJ3 e realização da validação para as linhas 1 e 2 do INJ2;
- Implementação de uma instrução de montagem da máquina de enchimento asséptico DOSA 302 PCA10 da linha 1 do INJ2.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Atral, “Quem somos.” Accessed: Mar. 18, 2023. [Online]. Available: <https://www.atral.pt/quem-somos/>
- [2] Público, “Grupo foi fundado por Sebastião Alves em 1963.” Accessed: Mar. 18, 2023. [Online]. Available: <https://www.publico.pt/2016/09/07/economia/noticia/o-grupo-fundado-por-sebastiao-alves-1743377>
- [3] Atral, “Novo acionista - Grupo Medifarma .” Accessed: Mar. 18, 2023. [Online]. Available: <https://www.atral.pt/noticias/novo-acionista-grupo-medifarma/>
- [4] Público, “Grupo peruano Medifarma comprou a portuguesa Atral .” Accessed: Mar. 18, 2023. [Online]. Available: <https://www.publico.pt/2016/09/07/economia/noticia/grupo-peruano-medifarma-comprou-a-portuguesa-atral-1743379>
- [5] Atral, “Unidade de Cefalosporinas.” Accessed: Mar. 18, 2023. [Online]. Available: <https://www.atral.pt/producao/unidades-de-cefalosparinas/>
- [6] Atral, “Unidade de Penicilinas.” Accessed: Mar. 18, 2023. [Online]. Available: <https://www.atral.pt/producao/unidade-penicilinas/>
- [7] Atral, “Unidade Geral.” Accessed: Mar. 18, 2023. [Online]. Available: <https://www.atral.pt/producao/unidade-geral/>
- [8] European Commission, “The Rules Governing Medicinal Products in the European Union Volume 4 EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use: Annex 1 - Manufacture of Sterile Medicinal Products,” 2022. [Online]. Available: https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/20220825_gmp-an1_en_0.pdf
- [9] S. K. Bardal, J. E. Waechter, and D. S. Martin, “Pharmacokinetics,” *Applied Pharmacology*, vol. 1, pp. 17–34, Jan. 2011, doi: 10.1016/B978-1-4377-0310-8.00002-6.
- [10] B. M. Kaminsky, J. R. Bostwick, and S. K. Guthrie, “Alternate Routes of Administration of Antidepressant and Antipsychotic Medications,” *Annals of Pharmacotherapy*, vol. 49, no. 7. SAGE Publications Inc., pp. 808–817, Jul. 20, 2015. doi: 10.1177/1060028015583893.
- [11] S. Kwatra, G. Taneja, and N. Nasa, “Alternative Routes of Drug Administration- Transdermal, Pulmonary & Parenteral,” *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 02, no. 04, pp. 409–426, 2012, doi: 10.35652/igjps.2012.47.
- [12] L. Buhse, R. Kolinski, B. Westenberger, A. Wokovich, J. Spencer, C. W. Chen, S. Turujman, M. Gautam-Basak, G. J. Kang, A. Kibbe, B. Heintzelman, and E. Wolfgang, “Topical Drug

- Classification,” *Int J Pharm*, vol. 295, no. 1–2, pp. 101–112, May 2005, doi: 10.1016/j.ijpharm.2005.01.032.
- [13] W. Leppert, M. Malec-Milewska, R. Zajackowska, and J. Wordliczek, “Transdermal and topical drug administration in the treatment of pain,” *Molecules*, vol. 23, no. 3. MDPI AG, 2018. doi: 10.3390/molecules23030681.
- [14] J. F. Jin, L. Zhu, M. Chen, H. Xu, H. Wang, X. Feng, X. Zhu, and Q. Zhou, “The optimal choice of medication administration route regarding intravenous, intramuscular, and subcutaneous injection,” *Patient Preference and Adherence*, vol. 9. Dove Medical Press Ltd., pp. 923–942, Jul. 02, 2015. doi: 10.2147/PPA.S87271.
- [15] European Commission, “The Rules Governing Medicinal Products in the European Union Volume 4 EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products of Human and Veterinary Use: Chapter 1 - Pharmaceutical Quality System,” Bruxelles, 2013.
- [16] WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations, “Annex 2 - WHO good manufacturing practices for pharmaceutical products: main principles,” 2014. [Online]. Available: www.who.int/medicines/
- [17] GMP Journal, “Annex 1 Revision.” Accessed: Mar. 25, 2023. [Online]. Available: <https://www.gmp-journal.com/current-articles/details/annex-1-revision.html>
- [18] European Commission, “EC Guide to Good Manufacturing practice revision to Annex 1: Manufacture of Sterile Medicinal Products,” Bruxelles, 2003.
- [19] European Commission, “The Rules Governing Medicinal Products in the European Union Volume 4 EU Guidelines to Good Manufacturing Practice Medicinal Products for Human and Veterinary Use: Annex 1 Manufacture of Sterile Medicinal Products (corrected version),” Bruxelles, 2007.
- [20] European Medicines Agency, “Committee for Human Medicinal Products ICH guideline Q9 on quality risk management,” Sep. 2015. [Online]. Available: www.ema.europa.eu/contact
- [21] S. Dahiya, R. K. Khar, and A. Chhikara, “Opportunities, challenges and benefits of using HACCP as a quality risk management tool in the pharmaceutical industry,” *Quality Assurance Journal*, vol. 12, no. 2. pp. 95–104, Apr. 2009, doi: 10.1002/qaj.446.
- [22] A. Y. Alam, “Steps in the Process of Risk Management in Healthcare,” *J Epidemiol Prev Med*, vol. 2, no. 2, pp. 1–5, Oct. 2016.
- [23] N. V. Gupta, V. Reddy, V. Gupta, V. Raghunandan, and N. Kashyap, “Quality Risk Management in Pharmaceutical Industry: A Review,” *International Journal of PharmaTech Research*, vol. 6, no. 3, pp 908-914, Aug. 2014.
- [24] G. Cristea and D. M. Constantinescu, “A comparative critical study between FMEA and FTA risk analysis methods,” in *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, Institute of Physics Publishing, Oct. 2017, doi: 10.1088/1757-899X/252/1/012046.

- [25] C. Dağsuyu, E. Göçmen, M. Narlı, and A. Kokangül, “Classical and fuzzy FMEA risk analysis in a sterilization unit,” *Computers & Industrial Engineering*, vol. 101, pp. 286–294, Nov. 2016, doi: 10.1016/j.cie.2016.09.015.
- [26] E. Ruijters, and M. Stoelinga, “Fault tree analysis: A survey of the state-of-the-art in modeling, analysis and tools,” *Computer Science Review*, vol. 15. Elsevier Ireland Ltd, pp. 29–62, Feb. 01, 2015, doi: 10.1016/j.cosrev.2015.03.001.
- [27] P. Verma, N. V. S. Madhav, and V. Kr Gupta, “A Review article on Pharmaceutical Validation and Process Controls,” *The Pharma Innovation Journal*, vol. 1, no. 7, pp. 51–60, 2012, doi: 10.52711/2231-5675.2022.00035
- [28] J. Dunj6, V. Fthenakis, J. A. V6lchez, and J. Arnaldos, “Hazard and operability (HAZOP) analysis. A literature review,” *Journal of Hazardous Materials*, vol. 173, no. 1–3. pp. 19–32, Jan. 15, 2010, doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.08.076.
- [29] A. de J. Penelas and J. C. M. Pires, “Hazop analysis in terms of safety operations processes for oil production units: A case study,” *Applied Sciences (Switzerland)*, vol. 11, no. 21, Nov. 2021, doi: 10.3390/app112110210.
- [30] European Commission, “EudraLex Volume 4 EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use - Annex 15: Qualification and Validation,” Bruxelles, 2015.
- [31] M. K. Mishra and P. Kumari, “A review on pharmaceutical process validation,” *The Pharma Innovation Journal*, vol. 8, no. 6, pp. 950–958, 2019, doi: 10.22270/jddt.v3i4.547
- [32] K. B. Ahir, K. D. Singh, S. P. Yadav, H. S. Patel, and C. B. Poyahari, “Overview of Validation and Basic Concepts of Process Validation,” *Scholars Academic Journal of Pharmacy (SAJP)*, vol. 3, no. 2, pp. 178–190, 2014.
- [33] B. Reyes, and D. Alvarez, “Strategies for the assessment of Disinfection and Cleaning on Biopharmaceutical Cleanroom,” vol. 2, 2014, doi: 10.13140/2.1.1514.9449.
- [34] R. Saha, “Cleaning and Disinfection: An Important Pillar of Contamination Control,” May 2022. Accessed: Sep. 09, 2023 [Online]. Available: www.americanpharmaceuticalreview.com
- [35] C. Otto, S. Zahn, F. Rost, P. Zahn, D. Jaros, and H. Rohm, “Physical Methods for Cleaning and Disinfection of Surfaces,” *Food Engineering Reviews*, vol. 3, no. 3–4. pp. 171–188, Dec. 2011, doi: 10.1007/s12393-011-9038-4.
- [36] W. Rutala and D. Weber, “Monitoring and improving the effectiveness of surface cleaning and disinfection,” *American Journal of Infection Control*, vol. 44, pp. 69–76, 2016, doi: 10.1016/j.ajic.2015.10.039
- [37] G. McDonnell, A. D. Russell, L. Operations, and S. Louis, “Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance,” in *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 12, no. 1, 1999, pp. 147–179, doi: 10.1128/CMR.12.1.147

- [38] A. D. Russell, "Bacterial Spores and Chemical Sporicidal Agents," in *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 3, no. 2, 1990, pp. 99–119, doi: 10.1128/CMR.3.2.99
- [39] J. Stuart, J. Chewins, and J. Tearle, "Comparing the Efficacy of Formaldehyde with Hydrogen Peroxide Fumigation on Infectious Bronchitis Virus," *Applied Biosafety*, vol. 25, no. 2, pp. 83–89, Jun. 2020, doi: 10.1177/1535676020909998.
- [40] ECHA, "Substance Information - Formaldehyde." Accessed: Sep. 09, 2023. [Online]. Available: <https://echa.europa.eu/pt/substance-information/-/substanceinfo/100.000.002>
- [41] J. A. Swenberg, B. C. Moeller, K. Lu, J. E. Rager, R. C. Fry, and T. B. Starr, "Formaldehyde carcinogenicity research: 30 years and counting for mode of action, epidemiology, and cancer risk assessment," *Toxicol Pathol*, vol. 41, no. 2, pp. 181–189, Feb. 2013, doi: 10.1177/0192623312466459.
- [42] A. Nishikawa, K. Nagano, H. Kojima, and K. Ogawa, "A comprehensive review of mechanistic insights into formaldehyde-induced nasal cavity carcinogenicity," *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, vol. 123, pp. 2–11, Jul. 2021, doi: 10.1016/j.yrtph.2021.104937.
- [43] M. Hauptmann, P. A. Stewart, J. Lubin, L. Freeman, R. Hornug, R. Herrick, R. Noover, J. Fraumeni, A. Blair, and R. Hayes "Mortality from lymphohematopoietic malignancies and brain cancer among embalmers exposed to formaldehyde," *Journal of the National Cancer Institute*, vol. 101, no. 24, pp. 1696–1708, Dec. 2009, doi: 10.1093/jnci/djp416.
- [44] Y. I. Archakov, A. A. Bulatova, L. N. Gorchakov, and E. I. Ivanova, "Corrosion resistance of stainless steels in formaldehyde solutions at elevated temperatures," *Chemistry and Technology of Fuels and Oils*, vol. 21, pp. 455–456, 1985, doi: 10.1007/BF00735119
- [45] E. Linley, S. P. Denyer, G. McDonnell, C. Simons, and J. Y. Maillard, "Use of hydrogen peroxide as a biocide: New consideration of its mechanisms of biocidal action," *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 67, no. 7, pp. 1589–1596, Jul. 2012, doi: 10.1093/jac/dks129.
- [46] ECHA, "Substance Information - Hydrogen Peroxide." Accessed: Sep. 09, 2023. [Online]. Available: <https://echa.europa.eu/pt/substance-information/-/substanceinfo/100.028.878>
- [47] S. C. Williams, "Hydrogen Peroxide Material Compatibility Chart from ISM and IS Med Specialties," Englewood, Jul. 2020.
- [48] M. Juskiewicz, M. Walczak, N. Mazur-Panasiuk, and G. Woźniakowski, "Effectiveness of chemical compounds used against african swine fever virus in commercial available disinfectants," *Pathogens*, vol. 9, no. 11, pp. 1–10, Nov. 2020, doi: 10.3390/pathogens9110878.
- [49] J. Stuart, J. Chewins, and J. Tearle, "Comparing the Efficacy of Formaldehyde with Hydrogen Peroxide Fumigation on Infectious Bronchitis Virus," *Applied Biosafety*, vol. 25, no. 2, pp. 83–89, Jun. 2020, doi: 10.1177/1535676020909998.
- [50] B. W. Sheldon and J. Brake, "Hydrogen Peroxide as an Alternative Hatching Egg Disinfectant," *Poultry Science*, vol. 70, pp. 1092–1098, Jun. 1990, doi: 10.3382/ps.0701092

- [51] S. V. W. B. Oliveira, E. M. Moraes, M. A. T. Adorno, M. B. A. Varesche, E. Foresti, and M. Zaiat, "Formaldehyde degradation in an anaerobic packed-bed bioreactor," *Water Research*, vol. 38, no. 7, pp. 1685–1694, 2004, doi: 10.1016/j.watres.2004.01.013.
- [52] S. Cadirci, "Disinfection of hatching eggs by formaldehyde fumigation- a review," *Faculty of Agriculture – Harran University*, vol. 73, no. 2, pp. 116-123, Jul. 2009.
- [53] Y. Lu and C. Wu, "Reductions of Salmonella enterica on chicken breast by thymol, acetic acid, sodium dodecyl sulfate or hydrogen peroxide combinations as compared to chlorine wash," *International Journal Food Microbiology*, vol. 152, no. 1–2, pp. 31–34, Jan. 2012, doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.09.015.
- [54] A. S. Bidra, J. S. Pelletier, J. B. Westover, S. Frank, S. M. Brown, and B. Tessema, "Comparison of In Vitro Inactivation of SARS CoV-2 with Hydrogen Peroxide and Povidone-Iodine Oral Antiseptic Rinses," *Journal of Prosthodontics*, vol. 29, no. 7, pp. 599–603, Aug. 2020, doi: 10.1111/jopr.13220.
- [55] R. Mathaes, H. Mahler, J. Buettiker, H. Roehl, P. Lam, H. Brown, J. Luemkemann, M. Adler, J. Huwyler, A. Streubel, and S. Mohl, "The pharmaceutical vial capping process: Container closure systems, capping equipment, regulatory framework, and seal quality tests," *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 99. Elsevier B.V., pp. 54–64, Feb. 01, 2016. doi: 10.1016/j.ejpb.2015.11.016.
- [56] United States Pharmacopeia, "USP 1207: PACKAGE INTEGRITY LEAK TEST TECHNOLOGIES," 2016.
- [57] D. Guazzo, "Parenteral product container closure integrity testing," in *Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications*, 3rd ed., vol. 7, S. Nema and J. Ludwig, Eds., Missouri: Informa healthcare, 2010, pp. 358–368.
- [58] T. Hessian, "Fault Tree Analysis," Accessed: Sep. 09, 2023. [Online]. Available: <https://sixsigmastudyguide.com/fault-tree-analysis/>
- [59] C. Napoli, V. Marcotrigiano, and M. T. Montagna, "Air sampling procedures to evaluate microbial contamination: A comparison between active and passive methods in operating theatres," *BMC Public Health*, vol. 12, no. 1, 2012, doi: 10.1186/1471-2458-12-594.
- [60] "CDC - NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards - Hydrogen peroxide." Accessed: Mar. 07, 2023. [Online]. Available: <https://www.cdc.gov/niosh/npg/npgd0335.html>
- [61] K. H. Schleifer and W. E. Kloos, "Isolation and characterization of Staphylococci from human skin. I. Amended descriptions of Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus saprophyticus and descriptions of three new species: Staphylococcus cohnii, Staphylococcus haemolyticus, and Staphylococcus xylosus," *International Journal of Systematic Bacteriology*, vol. 25, no. 1, pp. 50–61, Jan. 1975, doi: 10.1099/00207713-25-1-50.



2023

Filipa Raquel Almeida Jorge

IMPLEMENTAÇÃO DE MELHORIAS NAS ÁREAS DE PREPARAÇÃO DE INJETÁVEIS DE ACORDO COM
O ANEXO 1 DAS BOAS PRÁTICAS DE FABRICO