

BEATRIZ VAZ MORGADO ESTEVES MOURATO

CONTROLO DE QUALIDADE DE FORMAS FARMACÊUTICAS ESTÉREIS

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde

Orientadora: Prof.^ª. Doutora Catarina Pinto Reis

Lisboa, 2013

BEATRIZ VAZ MORGADO ESTEVES MOURATO

CONTROLO DE QUALIDADE DE FORMAS FARMACÊUTICAS ESTÉREIS

Dissertação de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, apresentada na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias para obtenção de grau Mestre.

Orientadora: Prof.^a. Doutora Catarina Pinto Reis

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Faculdade de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa, 2013

AGRADECIMENTOS

À Prof.^a. Doutora Catarina Pinto Reis, minha orientadora, pela paciência, disponibilidade, orientação e um grande apoio em todo o desenvolvimento da dissertação.

Aos meus pais, pelo apoio incondicional, força e motivação que me têm dado desde sempre.

À minha restante família, pelo apoio e compreensão em todos os momentos.

Aos meus amigos que, de uma forma ou de outra, me apoiaram e incentivaram a lutar sempre.

RESUMO

Com o avanço da tecnologia cada vez mais acessível, torna-se imprescindível acompanhar este mesmo desenvolvimento e adotá-lo para a obtenção de um melhor produto.

Sendo as formas farmacêuticas estéreis alvo de uma rigorosa avaliação dos seus requisitos, é uma grande vantagem conhecer quais as orientações atuais para o fabrico destes produtos. Uma vez que estamos na era da “aldeia global”, é inquestionável a necessidade de conhecer documentos de outros países, isto porque na indústria farmacêutica, tal como em muitas outras, há o objetivo de expandir a comercialização de produtos para outros países, continentes, mas há que ter em atenção que para esses países os requisitos de qualidade desses produtos podem não ser iguais aos do nosso país. Ao conhecer e aplicar os principais e mais rígidos controlos e normas, é certo que todos os outros serão cumpridos. Como principais documentos que regulam e orientam o processo de fabrico destes produtos existem as *Good Manufacturing Practices*, as normas da *International Standardization Organization* e as Farmacopeias de vários países.

Na indústria farmacêutica, principalmente no fabrico das formas farmacêuticas estéreis, há controlo não só do processo de fabrico e produto final, como também de todo o ambiente e intervenientes que envolvem a produção.

Dentro das formas farmacêuticas em estudo encontram-se as de uso oftálmico, de aplicação nasal, de aplicação auricular e de uso parenteral. Todas estas têm o principal requisito de ser estéreis, variando nos outros parâmetros, como tonicidade e pH de acordo com a localização da administração. Os ensaios realizados tanto *em In Process Control* como no produto final, estão presentes nas Farmacopeias, que serão discutidos e comparados entre si.

ABSTRACT

With the advance of technology, and it is becoming more accessible, it is essential to control this development and even adopt some strategies for getting a better product.

Sterile dosage forms are subject of a rigorous assessment of their requirements, it is a great advantage to know which are the current guidelines for the manufacture of these products. Since we are in the era of the "global village", there is an unquestionable need to know documents from other countries, because in the pharmaceutical industry, as in many others, there is the goal of expanding the marketing of products to other countries, even continents, but it must be have in mind that for these countries the quality requirements of these products may not be the same for other country. By knowing and implementing the main and more strict controls and standards, it is certain that all others will be achieved. The main documents and guidelines for the process of manufacturing these products are the Good Manufacturing Practices, the guidelines of International Standardization Organization and the Pharmacopoeias of several countries.

In the pharmaceutical industry, especially in the manufacture of sterile dosage forms, it is not only the control of the manufacturing process and the final product that is made, it is as well the entire environment and operators involved in the production.

Within the pharmaceutical forms under consideration are the ones in the use of ophthalmic, nasal, auricular and parenteral administrations. All of these products must be sterile, varying the other parameters, such as tonicity and pH according to the local of administration. All tests performed, both in In Process Control and the final product, are present in Pharmacopoeias, which will be herein discussed and compared.

ÍNDICE

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Normas e Diretrizes.....	2
1.2	Formas Farmacêuticas Estéreis e Não-Estéreis.....	3
1.2.1	Estéril <i>versus</i> Esterilizado	3
1.2.2	Esterilização	4
2	TÉCNICA ASSÉPTICA.....	5
2.1	Controlo do número de partículas.....	7
2.2	Controlo microbiológico	10
2.3	Validação do Processo de Fabrico	10
2.4	Câmaras de Fluxo Laminar.....	12
2.5	Preparação Asséptica e Fabrico Industrial.....	17
2.5.1	Tecnologia de Isoladores	18
2.5.2	Tecnologia de sopragem/enchimento/vedação ou <i>Blow-fill-seal</i>	19
2.5.3	Produtos submetidos a esterilização final	20
2.6	Espaço físico	20
2.7	Pessoal.....	22
2.8	Vestuário.....	22
2.9	Métodos de Controlo Ambiental.....	23
3	CONTROLO DE QUALIDADE E ESTUDO COMPARATIVO DOS SEUS ENSAIOS 25	
3.1	Teste para deteção de Endotoxinas - Pirogénios	25
3.1.1	Teste LAL.....	25
3.1.2	Teste de Determinação da Temperatura em Coelho.....	26
3.2	Contaminação de partículas: partículas não visíveis.....	27
3.2.1	Ensaio de Contagem de Partículas por Interceção da Luz.....	28
3.2.2	Ensaio de Contagem de Partículas por Microscopia Ótica.....	28
3.3	Contaminação de partículas: partículas visíveis	29
3.4	Teste de Tonicidade.....	30
3.5	Determinação de pH	31
3.6	Volume Extraível.....	31
3.7	Teste de esterilidade.....	32
3.7.1	Método Standard	32
3.7.2	Métodos Rápidos.....	34

4	AS FORMAS FARMACÊUTICAS ESTÉREIS	36
4.1	Formas farmacêuticas de uso oftálmico	36
4.2	Forma farmacêutica de aplicação nasal	37
4.3	Forma farmacêutica de aplicação auricular	38
4.4	Formas farmacêuticas de uso parenteral	39
4.4.1	Água para Injetáveis	40
4.4.2	Preparações para irrigação.....	41
5	PREPARAÇÕES CITOTÓXICAS E NUTRIÇÕES PARENTÉRICAS.....	41
5.1	Preparações Citotóxicas.....	43
5.2	Nutrição Parentérica	43
6	COMPARAÇÃO DOS ENSAIOS REQUERIDOS SEGUNDO A FP, USP E PH. EUR.	45
6.1.1	Formas Farmacêuticas de uso oftálmico	45
6.1.2	Formas farmacêuticas de aplicação nasal	45
6.1.3	Formas farmacêuticas de aplicação auricular	46
6.1.4	Formas farmacêuticas de uso parenteral	46
7	CONCLUSÃO	47
	BIBLIOGRAFIA.....	49
	ANEXOS	54
	Anexo A - Propriedades do vestuário nas Salas Limpas.....	54
	Anexo B - Propriedades da Água para Injetáveis, segundo a Farmacopeia Portuguesa.	57
	Anexo C - Preparação asséptica nos Serviços Farmacêuticos Hospitalares.....	58

ÍNDICE DE FIGURAS E TABELAS

FIGURA 1 - DISPOSIÇÃO DAS VÁRIAS CLASSES DE SALAS LIMPAS.....	7
FIGURA 2 - CFL HORIZONTAL.....	13
FIGURA 3 - CFL VERTICAL.	13
FIGURA 4 - CFL SB CLASSE I.	14
FIGURA 5 - CFL SB CLASSE II A1 E A2.	14
FIGURA 6 - CFL SB CLASSE II B1.	15
FIGURA 7 - CFL SB CLASSE II B2.	16
FIGURA 8 - CFL SB CLASSE III.	16
FIGURA 9 - DIAGRAMA DE FLUXO DE MATERIAIS ATRAVÉS DO DEPARTAMENTO DE PRODUÇÃO ADAPTADO DE LACHMAN, L., H. LIEBERMAN, AND J. KANIG.	18
FIGURA 10 - EXEMPLO DA ESTRUTURA DE UM ISOLADOR.	19
FIGURA 11 - ETAPAS NO <i>BLOW-FILL-SEAL</i>	19
FIGURA 12 - EQUIPAMENTO DE DETECÇÃO E CONTAGEM DE PARTÍCULAS, MFI™ TECHNOLOGY.	28
FIGURA 13 - RETÍCULO CIRCULAR.	29
FIGURA 14 – ESQUEMATIZAÇÃO DO APARELHO PARA DETERMINAÇÃO DE PARTÍCULAS VISÍVEIS.	29
FIGURA 15 - EXEMPLO DE APARELHO PARA DETERMINAÇÃO DE PARTÍCULAS VISÍVEIS.	30
FIGURA 16 - PROTEÇÃO DE CALÇADO.	54
FIGURA 17 - LUVA DE NITRIL.	54
FIGURA 18 - ILUSTRAÇÃO DO MODELO DA BATA.	54
FIGURA 19 - TOUCA.....	55
FIGURA 20 - TOUCA /CAPUZ DE PROTEÇÃO NAS ÁREAS DE MAIOR RISCO.....	55
FIGURA 21 - MÁSCARA FFP2.	55
FIGURA 22 - MÁSCARA FFP3, COM VÁLVULA PARA CONFERIR MAIOR CONFORTO AO OPERADOR.	55
FIGURA 23 - MÁSCARA COM VISEIRA INTEGRADA.....	56
FIGURA 24 -VISEIRA.	56
FIGURA 25 - PROTEÇÃO OCULAR.....	56
FIGURA 26 - "FATO-MACACO" ESTÉRIL.....	56
FIGURA 27 - COMPARAÇÃO DE RÓTULOS DE MEDICAMENTOS CITOTÓXICOS.	59
FIGURA 28 - FILTRO RETENTOR DE AEROSSÓIS.	60
TABELA 1 - CLASSIFICAÇÕES DAS SALAS LIMPAS.	6
TABELA 2 - EXEMPLOS DE OPERAÇÕES PARA PRODUTOS COM ESTERILIZAÇÃO TERMINAL.	6
TABELA 3 - EXEMPLOS DE OPERAÇÕES PARA PREPARAÇÕES ASSÉPTICAS.....	6
TABELA 4 - REQUISITOS QUANTO AO NÚMERO DE PARTÍCULAS EM SUSPENSÃO NO AR, SEGUNDO A ISO 14644-1.....	8
TABELA 5 - REQUISITOS QUANTO AO NÚMERO DE PARTÍCULAS EM SUSPENSÃO NO AR, SEGUNDO AS WHO GMP, EM 2003.....	8
TABELA 6 - REQUISITOS QUANTO AO NÚMERO DE PARTÍCULAS EM SUSPENSÃO NO AR, SEGUNDO A EU GMP, EM 2008.....	8
TABELA 7 - FREQUÊNCIA DA REALIZAÇÃO DOS TESTES QUE DEMONSTREM A CONCORDÂNCIA COM AS CONCENTRAÇÕES LÍMITES DE PARTÍCULAS.....	9
TABELA 8 - LÍMITES RECOMENDADOS DE CONTAMINAÇÃO MICROBIANA.	10

TABELA 9 - REQUISITOS APLICÁVEIS CONFORME DIMENSÃO DE LOTE.	11
TABELA 10 - COMPARAÇÃO DOS VÁRIOS TIPOS DE CFL DE ACORDO COM AS NORMAS DOS E.U.A. E EUROPEIA.	13
TABELA 11 - CONDIÇÕES DE VESTUÁRIO EXIGIDAS PARA CADA CLASSE DE SALA LIMPA.	23
TABELA 12 - TÉCNICAS UTILIZADAS NA AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA.	24
TABELA 13 - TÉCNICAS UTILIZADAS NA AVALIAÇÃO DE PARTÍCULAS.	24
TABELA 14 - REQUISITOS PARA A SATISFAÇÃO NO ENSAIO DE DETERMINAÇÃO DA TEMPERATURA DOS COELHOS.	26
TABELA 15 - REQUISITOS PARA A SATISFAÇÃO DO ENSAIO DE CONTAGEM DE PARTÍCULAS POR INTERCEPÇÃO DA LUZ.	28
TABELA 16 - REQUISITOS PARA A SATISFAÇÃO DO ENSAIO DE CONTAGEM DE PARTÍCULAS POR MICROSCOPIA ÓTICA.	29
TABELA 17 - NÚMERO DE RECIPIENTES A UTILIZAR NO ENSAIO DE ACORDO COM O VOLUME DE SOLUÇÃO.	31
TABELA 18 - NÚMERO MÍNIMO DE UNIDADES A UTILIZAR NO ENSAIO CONFORME DIMENSÃO DO LOTE.	33
TABELA 19 - QUANTIDADE MÍNIMA A UTILIZAR NO ENSAIO CONFORME QUANTIDADE DE PREPARAÇÃO.	33
TABELA 20 - REQUISITOS PARA O ENSAIO DE ESTERILIDADE.	34
TABELA 21 - TESTE PARA COLÍRIOS E SOLUÇÕES DE LAVAGEM.	45
TABELA 22 - TESTES PARA PÓS.	45
TABELA 23 - TESTES PARA FORMULAÇÕES SEMISSÓLIDAS.	45
TABELA 24 - TESTES PARA IMPLANTES OFTÁLMICOS.	45
TABELA 25 - TESTES PARA GOTAS E SPRAY.	45
TABELA 26 - TESTES PARA PÓS.	45
TABELA 27 - TESTES PARA FORMULAÇÕES SEMISSÓLIDAS.	45
TABELA 28 - TESTES PARA SOLUÇÕES DE LAVAGEM.	45
TABELA 29 - TESTES PARA GOTAS E SPRAY.	46
TABELA 30 - TESTES PARA PÓS.	46
TABELA 31 - TESTES PARA FORMULAÇÕES SEMISSÓLIDAS.	46
TABELA 32 - TESTES PARA SOLUÇÕES DE LAVAGEM.	46
TABELA 33 - TESTES PARA INJEÇÕES.	46
TABELA 34 - TESTES PARA PÓS PARA INJEÇÕES.	46
TABELA 35 - TESTES PARA INFUSÕES.	46
TABELA 36 - TESTES PARA SOLUÇÕES DE IRRIGAÇÃO.	46

1 INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, o controlo de qualidade de um medicamento tem assumido visões distintas no que respeita aos critérios de aceitação dos resultados obtidos. Mais recentemente, na década de 60, o controlo da execução do processo de fabrico era realizado somente no produto final com pouco pessoal competente, com objetivo de uma redução de custos, e uma enorme tolerância no que toca a existência de pequenos “defeitos”. Mas, foi na década de 90 que se começou a valorizar mais a intervenção durante o processo de fabrico, o chamado IPC ou *In Process Control*, que assegura um controlo de todo o processo, por parte de todos os que nele intervêm, com a finalidade de prevenir erros na execução, zero defeitos no produto final e, assim, a máxima qualidade do produto.[1]

O conceito de qualidade tem-se desenvolvido ao longo do tempo de modo a satisfazer as necessidades requeridas com a evolução da humanidade. No campo da tecnologia farmacêutica, o rigor tem sido o fator impulsionador da evolução da qualidade, como podemos ver com as técnicas utilizadas no controlo das formas farmacêuticas usadas em uso terapêutico e de diagnóstico. É a qualidade que vai proporcionar um aumento da eficácia, diminuição da ocorrência de efeitos secundários indesejáveis e aumento da confiança do consumidor no produto.

No campo das formas farmacêuticas estéreis, o controlo de qualidade tem uma importância acrescida pois o estatuto de estéril está relacionado com o facto de a administração do medicamento ser feita por uma via onde existem poucas ou nenhuma defesas, como acontece com a administração de preparações IV. Com o conhecimento atual, tenta-se cada vez mais impedir a entrada de microrganismos e pirogénios no corpo humano. Por isso, quando se pensa em preparações medicamentosas que tenham de passar por entradas nas quais não existem defesas, como o pH do estômago por exemplo, existe uma preocupação acrescida pois há uma exposição maior à infeção. Quando o objetivo é atingir de imediato a circulação sanguínea, a utilização de uma preparação IV é a escolha mas requer requisitos especiais tais como esterilidade, isotonicidade em relação ao sangue, ajuste de pH, entre outros parâmetros, pois não há linhas de defesas até ao vaso sanguíneo que impeça a entrada de bactérias ou vírus que venham a provocar alguma patologia ou até mesmo a morte. Também a respeito de preparações IV, não é tolerada a presença de partículas, pois estas podem causar inclusive provocar embolismos. Por estes e outros motivos mencionados ao longo do trabalho, estas preparações de uso

parenteral, de uso oftálmico, de aplicação nasal e auricular requerem o estatuto de formas farmacêuticas estéreis.

1.1 Normas e Diretrizes

A Indústria Farmacêutica é uma indústria altamente regulamentada, em que todas as atividades têm de obedecer a normas internacionalmente estabelecidas para que os seus medicamentos possam ser comercializados.

Com o objetivo de regulamentar, informar e uniformizar todos os procedimentos e técnicas que intervenham no processo de produção de medicamentos, surgiram as normas e diretrizes, em constante atualização. Servem de “guias” para que se adaptem procedimentos que conduzam à obtenção de um produto final seguro, eficaz e de qualidade. São nestas normas e diretrizes que se encontram, por exemplo, requisitos para a construção de infraestruturas adequadas à realização da Técnica Asséptica, requisitos necessários para o seu controlo ambiental, regras a cumprir por parte das pessoas que contactam com os produtos no seu processo de fabrico, e também menciona os métodos de controlo e prevenção de contaminantes que suscetibilizem o produto de ficar com qualidade inferior.

Em Portugal, através do Infarmed, Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde I.P., tem-se como uma das principais referências na produção de produtos estéreis a “GMP Guidelines - EudraLex Volume 4” ou EU GMP. Este documento contém as regras que regem os medicamentos estéreis na União Europeia, através de orientações para a interpretação dos princípios e diretrizes das Boas Práticas de Fabrico (BPF) de medicamentos para uso humano e veterinário. As Boas Práticas de Fabrico são um conjunto de diretrizes que servem de garantia de qualidade do medicamento pois assim são fabricados em conformidade e controlados em relação aos padrões de qualidade solicitados pelo uso intencional do medicamento.

Também em Portugal, através do Instituto Português da Qualidade, é importante seguir as *International Organization for Standardization* (ISO), normas internacionais estabelecidas por um conjunto de países, uma vez que também Portugal contribuiu para a implementação dessas mesmas normas.

Ao todo são aplicáveis os seguintes documentos na indústria farmacêutica:

- Farmacopeia Portuguesa;
- Boas Práticas de Fabrico;

- *ISO - International Organization for Standardization*;
- Farmacopeia Americana (USP);
- Farmacopeia Europeia;
- Outra Farmacopeia de outro Estado Membro da UE, caso necessário.

Todos eles têm como principal finalidade a garantia de obtenção de um produto de qualidade, eficaz e seguro. No entanto, para alguns fatores podem mudar ligeiramente os seus parâmetros de aceitação, como é o caso das WHO GMP, um documento relativo às Boas Práticas de Fabrico escrito pela Organização Mundial de Saúde, face às EU GMP.

No desenvolvimento desta monografia irão ser comparados alguns aspetos presentes nestes documentos.

1.2 Formas Farmacêuticas Estéreis e Não-Estéreis

São formas farmacêuticas estéreis, preparações isentas de microrganismos ou pirogénios. Estes produtos têm a particularidade de serem administrados por vias através das quais há menos barreiras de defesas e, portanto, requerem isenção total de presença de contaminantes viáveis e não viáveis.

1.2.1 Estéril versus Esterilizado

A esterilidade é a ausência de microrganismos vivos. A realização de ensaios não é suficiente para garantir a esterilidade de um produto e a garantia da esterilidade passa igualmente pela aplicação de processos de produção convenientemente validados. Um produto diz-se estar esterilizado quando passa por um processo de esterilização no qual se atingiram as condições necessárias para a sua finalidade e reprodutibilidade, sendo os indicadores biológicos uma garantia da obtenção das condições ideais do método de esterilização. Um produto diz-se ser estéril quando a preparação passa por todo o controlo de qualidade com resultados satisfatórios à sua finalidade e uso, preenchendo todos os requisitos. É um termo relativo onde a probabilidade de crescimento de formas viáveis é de 10^{-6} . [1-3]. Quando este último facto é alcançado, designa-se por *Sterile Assurance Level*.

1.2.2 Esterilização

Na indústria farmacêutica, nomeadamente, na área de Investigação e Desenvolvimento de novos fármacos, quando se chega à fase de encontrar a melhor forma farmacêutica para um dado fármaco, caso seja necessário mantê-lo em meio estéril, a grande dúvida recai sobre a escolha do melhor método de esterilização. Dentro da vasta escolha de tipos de esterilização, não são todos os fármacos que conseguem manter a sua estabilidade após serem submetidos a certas técnicas de esterilização, sendo um exemplo, o caso das proteínas e enzimas que não podem ser sujeitos às temperaturas elevadas presentes em alguns tipos de esterilização, pois desnaturam limitando ou mesmo eliminando a sua atividade. No caso de uma preparação líquida, no geral, esta pode ser submetida a processos em autoclave ou filtração em Técnica Asséptica, mas caso seja um produto biológico, como por exemplo o Interferão, não pode ser submetido a uma esterilização final sendo a única escolha a filtração em Técnica Asséptica.[4-6]

De modo a garantir a ausência de microrganismos, pirogénios, partículas de tamanho correto e adequar as características físico-químicas da forma farmacêutica estéril, realiza-se o Controlo de Qualidade como é explicado ao longo desta monografia. No entanto, a melhor maneira de se obter um produto de excelência está na prevenção da contaminação e no controlo rigoroso do processo de fabrico, aplicando o melhor método de esterilização na altura do processo mais conveniente.

Quando se escolhe o melhor método de esterilização tem-se como principal preocupação garantir a segurança e efetividade posterior do produto. Apesar disto, têm-se em conta os efeitos económicos da utilização desse método.[2]

Como métodos de esterilização existem os de natureza química, como a utilização de gases ou líquidos como o formaldeído, óxido de etileno ou ozono; e de natureza física, como por exemplo, a utilização de calor seco ou húmido, radiações ionizantes ou não e a filtração por membrana porosa.

2 TÉCNICA ASSÉPTICA

Segundo a Farmacopeia Portuguesa VIII, a Preparação Asséptica tem como objetivo manter a esterilidade de um produto obtido a partir de componentes previamente esterilizados. Baseia-se na realização de processos em condições e instalações concebidas para impedir a contaminação microbiana da própria mistura asséptica dos componentes da fórmula, seguida do enchimento e do acondicionamento assépticos.

Assim, como já anteriormente referido, a produção de estéreis deve obedecer às Boas Práticas de Fabrico, também designadas por GMP, *Good Manufacturing Practice*, a fim de garantir a obtenção de um produto de qualidade, caso contrário, aparecerão problemas que necessitam de inspeção para averiguar a causa do problema, com perda de tempo e recursos evitáveis. [7]

De modo a garantir que a técnica se realiza em meio asséptico, há vários fatores cruciais que necessitam de especial atenção, tais como:

- Meio ambiente;
- Pessoal interveniente;
- Áreas críticas ou de trabalho e seu material;
- Esterilização dos recipientes/fechos e operações de transferência de produtos;
- Duração máxima do armazenamento antes da embalagem final.

Dentro do processo de fabrico de produtos estéreis existem dois caminhos possíveis conforme os requisitos da formulação: um, quando é possível submeter o produto a uma esterilização no final do processo; e outro, quando não há possibilidade de uma esterilização final, onde se exige que os processos de produção sejam conduzidos assepticamente em algumas ou todas as etapas.[8]

Para se conseguir realizar técnicas e processos num meio ambiente asséptico é necessário ter espaços onde a concentração de partículas viáveis e não-viáveis seja controlada, e que a sua organização e estrutura permitam minimizar a introdução, desenvolvimento e retenção destas mesmas partículas, que são as chamadas Salas Limpas. Estes espaços têm a temperatura, humidade e pressão controladas e, juntamente com outros fatores descritos ao longo do trabalho, vão permitir a realização da Técnica Asséptica.[9]

De acordo com as técnicas realizadas, assim se classificam as Salas Limpas ou áreas da produção, havendo classes de A a D, consoante os critérios e parâmetros exigidos em cada classe. Existem outras classificações relacionadas entre si, conforme exemplificado na seguinte tabela.[9, 10]

Tabela 1 - Classificações das Salas Limpas.

WHO/GMP	E.U.A.	ISO 14644
A	100	ISO 5
B	100	ISO 5
C	10 000	ISO 7
D	100 000	ISO 8

As tabelas seguintes apresentam exemplos de operações a realizar nas diversas classes, conforme o tipo de produto, onde as salas de classe A têm as operações de maior risco de contaminação e por isso têm maiores restrições no seu controlo.

Tabela 2 - Exemplos de operações para produtos com esterilização terminal.[8]

Classe	Exemplos de operações para produtos com esterilização terminal.
A	Enchimento de produtos (excecionalmente em risco)
C	Preparação de soluções (excecionalmente em risco) e enchimento de produtos
D	Preparação de soluções e de componentes para enchimento posterior

Tabela 3 - Exemplos de operações para preparações assépticas.[8]

Classe	Exemplos de operações para preparações assépticas.
A	Preparação e enchimento assépticos
C	Preparação de soluções para filtração
D	Manuseamento de componentes após lavagem

Assim, como em cada classe temos processos em que há um maior ou menor risco de contaminação, assim vão haver parâmetros para avaliar se essas salas estão de acordo com a classe/processo pretendido. Avaliam-se então: número de partículas em suspensão e qualidade microbiológica.

São nas áreas de Classe A que se realizam as operações de maior risco para a preparação e é por esta razão que nestas salas existem as Câmaras de Fluxo Laminar. Estas câmaras promovem um fluxo de ar unidirecional com velocidade estipulada, que não deve ser inferior a 0,4m/s segundo a norma dos E.U.A. ou 0,7m/s segundo a norma Europeia.[11]

Relativamente à distribuição das salas no espaço, as salas de Classe B são as que circundam as de Classe A e, conseqüentemente, estão rodeadas por salas de

Classe C e D onde o risco diminui quanto mais afastadas das salas de classe A, como é possível verificar no mapa mostrado na Figura 1.

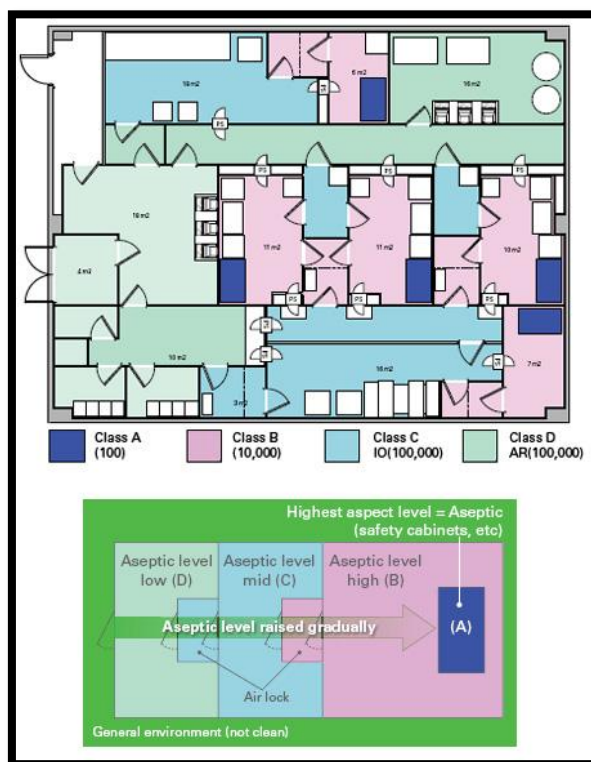


Figura 1 - Disposição das várias classes de Salas Limpas.[12]

2.1 Controlo do número de partículas

As partículas presentes no ar de entrada são retidas por filtros HEPA e partículas nas Salas Limpas são removidas por fluxo de ar laminar. Os filtros HEPA são capazes de reter, pelo menos, 99,97% de partículas com diâmetro superior a $0,3 \mu\text{m}$. A integridade destes filtros HEPA tem de ser regularmente verificada.[13, 14]

Como foi referido anteriormente existem várias classificações de Salas Limpas, que apesar de semelhantes nos seus objetivos mostram requisitos mínimos variáveis. Segundo a ISO 14644-1[9], permite os seguintes requisitos quanto ao número de partículas em suspensão no ar:

Tabela 4 - Requisitos quanto ao número de partículas em suspensão no ar, segundo a ISO 14644-1.

Número de classificação ISO (N)	Limite de concentração máxima (partículas/m ³ de ar) para partículas de igual ou tamanho superior que o especificado.					
	0,1 µm	0,2 µm	0,3 µm	0,5 µm	1 µm	5 µm
ISO Classe 1	10	2				
ISO Classe 2	100	24	10	4		
ISO Classe 3	1 000	237	102	35	8	
ISO Classe 4	10 000	2 370	1 020	352	83	
ISO Classe 5	100 000	23 700	10 200	3 520	832	29
ISO Classe 6	1 000 000	237 000	102 000	35 200	8 320	293
ISO Classe 7				352 000	83 200	2 930
ISO Classe 8				3 520 000	832 000	29 300
ISO Classe 9				35 200 000	8 320 000	293 000

Já segundo as EU GMP e WHO GMP, o número máximo de partículas em suspensão, permitidas para cada classe de *Sala Limpa*, apresenta-se mais restrita com diminuição do número aceitável de partículas, como demonstrado nas seguintes tabelas.[8]

Tabela 5 - Requisitos quanto ao número de partículas em suspensão no ar, segundo as WHO GMP, em 2003.

	Em repouso		Em operação	
Classe	Número máximo permitido de partículas/m³ igual ou superior a			
	0,5 µm	5 µm	0,5 µm	5 µm
A	3500	1	3500	1
B	3 500	1	350 000	2 000
C	350 000	2 000	3 500 000	20 000
D	3 500 000	20 000	não definido	não definido

Tabela 6 - Requisitos quanto ao número de partículas em suspensão no ar, segundo a EU GMP, em 2008.

	Em repouso		Em operação	
Classe	Número máximo permitido de partículas/m³ igual ou superior a			
	0,5 µm	5 µm	0,5 µm	5 µm
A	3500	20	3520	20
B	3 520	29	352 000	2 900
C	352 000	2 900	3 520 000	29 000
D	3 520 000	29 000	não definido	não definido

Nestas últimas tabelas, há a distinção da quantidade de partículas “em repouso” e “em operação”, sendo que o estado “em repouso” é aquele em que a instalação está aberta e em funcionamento, com equipamento produtivo completo, mas sem pessoal operacional presente, e portanto tendencialmente com menor número de partículas avaliado após um curto período de “limpeza” de 15-20 minutos num estado sem pessoal operacional, após conclusão das operações. Já o estado “em operação” é aquele em que a instalação está a funcionar no modo operacional definido, com o número de pessoas especificado a trabalhar nesta área, o que vai proporcionar um possível aumento de partículas em suspensão. No entanto, as condições das partículas para a classe A “em operação” indicadas na tabela devem ser mantidas na zona imediatamente circundante do produto, quando este ou o recipiente aberto estão expostos ao ambiente, demonstrando ser um desafio devido à produção de partículas ou gotículas pelo próprio produto.[8]

Segundo as BPF, de modo a se atingir as condições desejadas para as classes de ar B, C e D, os requisitos da qualidade do ar devem estar relacionadas com as dimensões da sala e com o equipamento e pessoal presentes na mesma e o sistema de ar deve dispor de filtros terminais apropriados, como HEPA, para as classes A, B e C.[8]

De modo a monitorizar a eficácia da proteção contra o aparecimento de partículas, existem sistemas de monitorização que consistem em contadores de partículas independentes. Estes são constituídos por uma rede de pontos de amostragem sequencial acedidos pelo coletor ligado a um único contador partícula ou uma combinação de dois. O sistema escolhido deve ser apropriado para o tamanho de partícula considerado. A seleção do sistema de monitorização deve ter em conta o risco apresentado pelos materiais utilizados na operação de produção, por exemplo, os que envolvem organismos vivos ou radiofármacos.[8]

A periodicidade da avaliação da contaminação de partículas [15] está relacionada com o tipo de *Sala Limpa*, como está descrito na tabela seguinte.

Tabela 7 - Frequência da realização dos testes que demonstrem a concordância com as concentrações limites de partículas.[15]

Classificação	Intervalo de tempo máximo	Método utilizado no teste
≤ ISO Classe 5	6 meses	Anexo B na ISO 14644-1:1999
> ISO Classe 5	12 meses	Anexo B na ISO 14644-1:1999
Nota: O teste de contagem de partículas será realizado normalmente no estado operacional, mas poderá também ser realizado no estado “em repouso” de acordo com a classificação ISO.		

2.2 Controlo microbiológico

No caso de operações utilizando a Técnica Asséptica, a monitorização deve ser frequente, recorrendo a métodos como placas de sedimentação, amostragem volumétrica do ar e das superfícies, por exemplo, recorrendo a esfregaços e placas de contacto. Os métodos de amostragem utilizados na operação não devem interferir com a proteção da zona. Os resultados da monitorização devem ser considerados na análise da documentação dos lotes relativos ao Controlo de Qualidade, para libertação do produto acabado nas condições desejadas. As superfícies e o pessoal devem ser monitorizados após operações críticas.

É igualmente necessária monitorização microbiológica adicional para além das operações de produção, por exemplo, após validação, limpeza e higienização dos sistemas.

Seguem-se os limites recomendados de contaminação microbiana, de acordo com o processo utilizado na verificação, segundo a EU GMP e igualmente para as WHO GMP.

Tabela 8 - Limites recomendados de contaminação microbiana.[8]

Classe	Técnica Utilizada			
	Amostra de ar (UFC/m ³)	Placas de sedimentação Ø=90mm (UFC/4h)	Placa de contacto Ø=55mm (UFC/placa)	Impressão de luva, 5 dedos (UFC/luva)
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

2.3 Validação do Processo de Fabrico

A validação do processo de fabrico inclui verificações adequadas sobre o conjunto dos parâmetros referidos e o próprio processo é sujeito a verificações regulares por simulação com meios de crescimento microbiano, para bactérias e fungos, que são incubados e examinados com vista à deteção de uma eventual contaminação microbiana do ar, operador, câmara e/ou material. A validação do

processamento asséptico deve incluir um teste de simulação utilizando um meio nutritivo (*media filling*), onde a escolha recai com base na forma farmacêutica do produto e na transparência, concentração e adequação para esterilização do meio nutritivo. Este teste deve reproduzir, tanto quanto possível, o processo de fabrico asséptico habitual e incluir todos os passos de fabrico críticos posteriores. Deve igualmente considerar diversas intervenções que costumam ocorrer durante a produção normal bem como situações particulares e de grande severidade. Os testes de simulação do processo devem ser efetuados como validação inicial, com três testes satisfatórios consecutivos por turno, e repetidos em intervalos definidos e após qualquer alteração significativa do sistema Aquecimento, Ventilação e Ar Condicionado (AVAC), do equipamento, do processo e do número de turnos. De forma geral, os testes de simulação devem ser repetidos duas vezes por ano por turno e processo.[8]

O número de recipientes utilizado nas operações de *media filling* deve ser suficiente para permitir uma avaliação válida e, em lotes reduzidos, deve ser pelo menos igual ao tamanho do lote do produto. O objetivo deve ser um crescimento zero, sendo aplicáveis os seguintes requisitos conforme a dimensão do lote.

Tabela 9 - Requisitos aplicáveis conforme dimensão de lote.[8]

Enchimento inferior a 5 000 unidades	Não devem ser detetadas quaisquer unidades contaminadas.
Enchimento de 5 000 a 10 000 unidades	a) Uma unidade contaminada dá origem a uma investigação e eventual repetição do processo; b) Duas unidades contaminadas são consideradas motivo de revalidação, após a investigação.
Enchimento superior a 10 000 unidades	a) Uma unidade contaminada dá origem a uma investigação; b) Duas unidades contaminadas são consideradas motivo de revalidação, após a investigação.

Além disso, os produtos esterilizados por filtração ou preparados em condições assépticas são submetidos ao ensaio de esterilidade através de uma amostra de dimensão apropriada antes da libertação do lote.

No fabrico de formulações estéreis há especial atenção ao meio envolvente da produção em si, com requisitos especiais sendo o principal objetivo minimizar o risco de contaminação por partículas viáveis e não-viáveis. Para isto é necessária a formação do pessoal interveniente de modo a ser possível seguir as técnicas e

processos de preparação/produção estabelecidos, incluindo não só a própria produção como também a limpeza, manutenção e armazenamento dos produtos envolvidos.

2.4 Câmaras de Fluxo Laminar

Sendo as Câmaras de Fluxo Laminar, CFL, um dos equipamentos mais importantes na manipulação de produtos estéreis farmacêuticos, é considerado um dos principais meios preventivos de contaminação não só do produto mas também do operador e meio ambiente. Nestas câmaras são manipulados produtos citotóxicos, preparações de nutrição parentéricas, colírios ou preparações intraoculares por exemplo, que requerem ausência total de partículas e existência de esterilidade, e para tal, a câmara proporciona o melhor meio para a sua manipulação.

Existem várias classificações para as CFL, existindo uma segundo a normativa Europeia EN 12469 e uma americana relativa às câmaras de segurança biológica, NSF standard 49. A normativa dos E.U.A. também tem importância em Portugal pelo facto de muitas câmaras utilizadas no nosso país terem origem norte-americana. Ambas as normativas especificam três classes de câmaras de segurança biológica I, II e III com definições muito semelhantes, sendo a maior diferença na classe II em que a normativa americana subdivide a classe em vários tipos.

Assim, as CFL classificam-se em:

- ♦ CFL Horizontal
- ♦ CFL Vertical
- ♦ CFL de Segurança Biológica (CFL SB)
 - Norma E.U.A. – NSF standard 49
 - Classe I
 - Classe II (Tipo A1, A2, B1, B2 e B3)
 - Classe III
 - Norma Europeia – EN 12469
 - Classe I
 - Classe II
 - Classe III

Tabela 10 - Comparação dos vários tipos de CFL de acordo com as normas dos E.U.A. e Europeia.[11]

Tipo CFL	Classe de risco biológico	Tipo de Proteção			Recirculação	Exaustão	
		Operador	Produto	Ambiente		Sala	Exterior
Horizontais	-	Não	Sim	Não	Não	X	
Verticais	-	Não	Sim	Não	Não	X	
SB classe I	1-3	Sim	Não	Sim	Não	Ambas possíveis	
SB Classe II							
A1	1-3	Sim	Sim	Sim	70%	X	
A2	1-3	Sim	Sim	Sim	70%	X	
B1	1-3	Sim	Sim	Sim	30%		X
B2	1-3	Sim	Sim	Sim	Não		X
B3	1-3	Sim	Sim	Sim	70%		X
SB classe III	4	Sim	Sim	Sim	Não		X

As CFL horizontais e verticais não são *Câmaras de Segurança Biológica* e caracterizam-se pela projeção de fluxo de ar filtrado por filtros HEPA. A sua utilização é direcionada ao meio hospitalar, mais propriamente, aos Serviços Farmacêuticos, para a manipulação de produtos estéreis não-tóxicos e sem propriedades antigénicas, como por exemplo, o caso da nutrição parentérica.

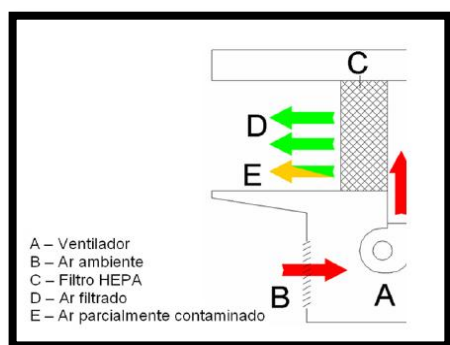


Figura 2 - CFL Horizontal.[11]

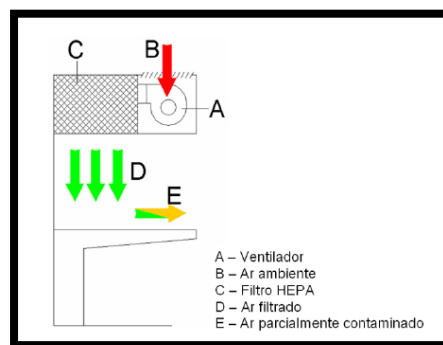


Figura 3 - CFL Vertical. [11]

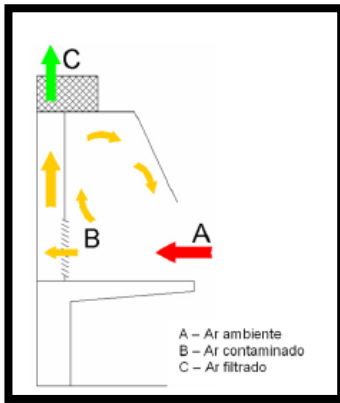


Figura 4 - CFL SB Classe I. [11]

As *CFL de Segurança Biológica Classe I* proporcionam proteção do operador e do ambiente e não do produto em manipulação, e por isso são preferidas as CFL SB de classe II que protegem também o produto. Estas câmaras conferem uma proteção do operador através de uma corrente de ar que atravessa a abertura de manipulação, do exterior para o interior da câmara, como demonstra a Figura 4, a uma velocidade mínima de 0,4m/s (norma E.U.A.) ou 0,7-1 m/s (norma Europeia), sendo o ar expelido da câmara através de um filtro HEPA, obtendo-se consequentemente a proteção do ambiente. [11]

Relativamente às CFL SB classe II, como já foi referido anteriormente, segundo a norma americana existem quatro tipos: A1, A2, B1, B2 e B3.

No tipo CFL SB classe II A1 e A2 existe um ventilador interno que aspira o ar ambiente que passa pela grelha anterior, de modo a manter um fluxo de ar com velocidade mínima de 0,38 m/s para as A1 e 0,5 m/s para as A2, na abertura de trabalho da câmara. Esse ar, antes de chegar à área de trabalho passa por um filtro HEPA e é dirigido de cima para baixo em direção à área de trabalho, resultando num fluxo compreendido entre 0,25-0,5 m/s, isento de partículas minimizando assim a contaminação cruzada. No entanto, uns centímetros acima da área de trabalho, o fluxo de ar divide-se, sendo uma parte aspirada pela grelha anterior e outra pela grelha posterior, como demonstrado na Figura 5. O ar é então conduzido através do pleno posterior para o espaço situado entre os filtros HEPA de saída e de alimentação, de modo a que 30% seja expelido e 70% recirculado. Este mecanismo é possível devido à diferença de tamanho de filtros e pelo efeito de um registo modulador. Nestas câmaras como é difícil conduzir a exaustão para o exterior, uma vez que compromete a dinâmica interna da câmara, é preferível selecionar uma câmara classe II B sempre que haja necessidade de exaustão exterior.[11]

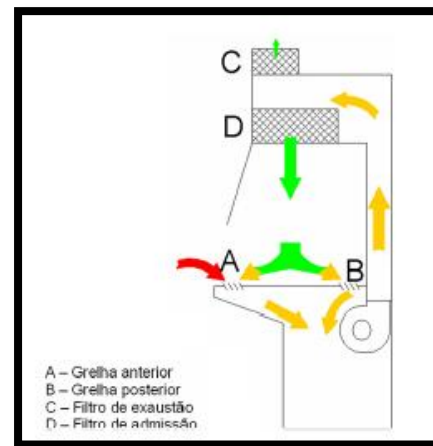
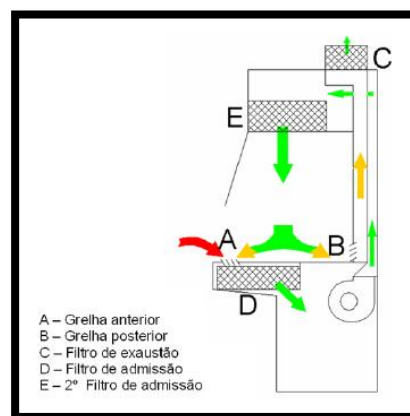


Figura 5 - CFL SB classe II A1 e A2. [11]

Uma outra diferença entre as CFL SB classe II A1 e A2 é relativa à possibilidade de manipulação de químicos tóxicos voláteis e radionuclídeos, onde só é possível nas A2 quando da presença de níveis reduzidos ou vestígios. As CFL SB classe II A2 e as B3 são muito semelhantes, havendo até fabricantes que produzem câmaras que podem funcionar como tipo A2 ou B3, sendo designadas de A/B3. Como pode ser visto na Tabela 10, as B3 diferem por serem construídas de modo a poderem evacuar o ar de extração para o exterior, sem prejuízo da dinâmica interna da câmara, isto porque têm uma velocidade superior de entrada do ar na abertura de trabalho (0,5 em vez de 0,4 m/s) e por terem os plenos que reduzem o ar contaminado, rodeados por outros plenos com pressão negativa. Com este mecanismo, qualquer fuga de ar contaminado irá ser feita para o interior da câmara e não para o exterior.[11]

Nas CFL SB classe II B1, os ventiladores de admissão aspiram ar ambiente e 30% do ar recirculado do interior da câmara, através de um filtro HEPA situado logo abaixo da bancada de trabalho, a uma velocidade mínima de 0,5 m/s. Após filtrado, o ar é enviado para a parte superior da câmara, efetuando depois um trajeto descendente até à área de trabalho, onde poderá constar um filtro HEPA para remoção de eventuais partículas geradas pelo ventilador. Os restantes 70% de ar recirculado são aspirados pela grelha posterior e enviados para o exterior através de um filtro HEPA de saída, percorrendo um circuito independente.



Estas CFL estão ligadas ao exterior através de uma conduta de exaustão que tem o ventilador de saída na extremidade terminal, levando a uma pressão negativa. É recomendado que o ventilador seja alimentado por um circuito de emergência, para evitar que pare de funcionar.[11]

Figura 6 - CFL SB classe II B1. [11]

As CFL SB classe B2 permitem a manipulação tanto de substâncias sólidas e aerossóis como também de produtos que emitam gases e vapores. São câmaras de exaustão total. Por isso, estas câmaras têm uma manutenção mais cara pois podem consumir mais de 30 m³ de ar condicionado por minuto. Têm a particularidade de não permitir a recirculação de ar interno. Contém um ventilador de admissão que aspira o ar ambiente na parte superior da câmara e é através de um filtro HEPA que esse ar entra sob a forma laminar no interior da câmara, área de trabalho. De seguida, o

sistema de extração aspira esse ar pelas grelhas anterior e posterior, inclusive a quantidade de ar ambiente da grelha anterior para criar um movimento de ar do exterior para o interior, com velocidade mínima de 0,5 m/s. No entanto, todo o ar admitido passa por um filtro HEPA e/ou outros filtros como os de carvão ativado, por exemplo. O ar de extração deve ser evacuado por uma conduta construída para esse efeito, com ventilador de extração na extremidade externa, isto porque em caso de falha deste ventilador, este irá provocar uma pressão positiva no interior da câmara, levando assim à saída de ar contaminado da câmara para a sala. Para evitar a ocorrência desta falha, pretende-se que este tipo de CFL tenha um *Sistema de Monitorização da Pressão na Conduta de Saída*, que possa desligar o ventilador de admissão sempre que essa pressão ultrapassar um valor pré-definido, de modo a compensar o efeito.[11]

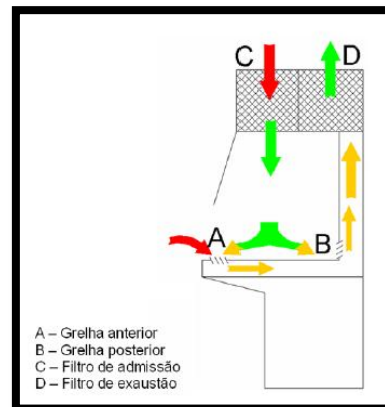


Figura 7 - CFL SB classe II B2. [11]

Por fim, as CFL SB classe III constituem a máxima proteção do operador e ambiente. São concebidas para a manipulação de microrganismos classificados no nível de risco biológico 4, ou seja, microrganismos que causam doenças graves no ser humano, sendo suscetível de apresentar um elevado nível de propagação e para o qual não existem, em regra, meios eficazes de profilaxia ou de tratamento.[16] Estas câmaras também se

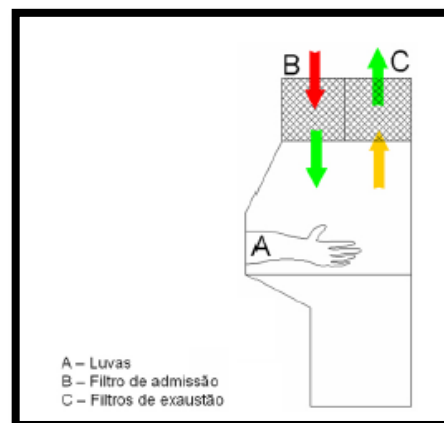


Figura 8 - CFL SB classe III. [11]

caracterizam por serem estanques aos gases, com uma janela fixa onde a introdução e extração dos produtos se faz por uma câmara com dupla porta, em que cada porta só pode ser aberta se a outra estiver fechada. Relativamente à ventilação da câmara, esta faz-se por circuito exterior à câmara, sendo o ar que entra filtrado por um filtro HEPA e o ar evacuado filtrado por dois filtros HEPA montados em série. Como o operador não tem acesso direto ao interior da câmara, a manipulação faz-se através de luvas de borracha fixas à frente da câmara, sendo estanques aos gases. Uma outra grande diferença desta câmara em relação às restantes é o facto de poder ser feita à

medida e pode incorporar no seu interior prateleiras, frigoríficos ou centrífugas, por exemplo.[11]

2.5 Preparação Asséptica e Fabrico Industrial

Tal como acontece para as restantes formas farmacêuticas, os produtos farmacêuticos estéreis têm um processo rigorosamente controlado, que vai desde a combinação dos compostos da fórmula pretendida até à colocação do produto em embalagem e rotulagem. No entanto, o que as distingue dos outros produtos é que os estéreis têm um controlo mais exigente e restrito no que toca ao ambiente envolvente à produção, levando a um controlo não só do ambiente físico mas também do pessoal interveniente. Por muito que um processo esteja perfeitamente elaborado, se não tiver pessoal qualificado ou um meio envolvente de acordo com os requisitos e equipamentos adequados, não se poderá obter um produto de qualidade. É por isso essencial documentar todos os passos do processo de produção e as condições necessárias.[17]

Em lotes de grande dimensão, deve-se prestar atenção à obtenção e manutenção da homogeneidade das formas farmacêuticas produzidas, e é por isso importante ter um bom planeamento de todos os passos do processo para que se possam manter os valores de qualidade pretendidos. Por exemplo, a ordem de mistura dos compostos quando se fazem lotes grandes, pode levar logo à obtenção de um produto de risco e má qualidade, devido a problemas físicos em distribuir um composto para ajuste de pH num grande tanque de solução.[17]

No início do processo de produção, tal como se pode observar pela Figura 9, os compostos, componentes dos recipientes e equipamento de fabrico são levados do armazém até à área de produção. O equipamento necessita de esterilização e despirogenização antes de ser montado no local, mas numa produção industrial este equipamento sofre este processo na origem, e é submetido a verificações periódicas uma vez que não o mudam de lugar.[17]

Após a lavagem, os componentes devem ser manipulados num ambiente de, pelo menos, classe D, e no caso das matérias-primas e componentes esterilizados, deve ocorrer num ambiente de classe A com uma envolvente de classe B, salvo se forem posteriormente sujeitos a esterilização ou filtração.[8] Exemplos de esterilização de componentes são os recipientes de vidro esterilizados por calor seco e as tampas de borracha por calor húmido.[10, 17]

A preparação de soluções que irão ser filtradas durante o processo deve ocorrer num ambiente de classe C; a preparação de materiais e produtos não filtrados deve ocorrer num ambiente de classe A com uma envolvente de classe B.[8]

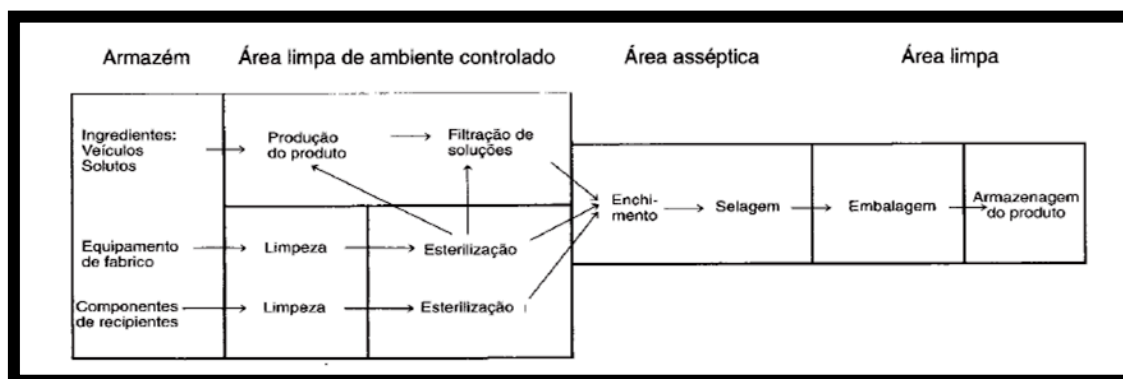


Figura 9 - Diagrama de fluxo de materiais através do departamento de produção adaptado de Lachman, L., H. Lieberman, and J. Kanig.[17]

O manuseamento e enchimento de produtos preparados assepticamente devem ocorrer num ambiente de classe A, *Sala Limpa* ou área asséptica, com uma zona envolvente de classe B. Aqui, todos os equipamentos e materiais utilizados devem ser estéreis, mantendo assim os requisitos de esterilidade da área envolvente ao produto.[8, 17]

Antes da conclusão da rolhagem, a transferência de recipientes parcialmente fechados, usados na liofilização, deve ocorrer num ambiente de classe A, com uma envolvente de classe B, ou em tabuleiros de transferência herméticos, num ambiente de classe B. Segue-se a selagem, também em classe A, mas quando for colocado na embalagem já é numa área limpa que não necessita de responder aos requisitos da área de classe A. Os produtos embalados são guardados no armazém de quarentena até que todos os registos dos controlos de qualidade em processo e produto tenham sido avaliados e correspondam aos parâmetros exigidos, sendo o produto posteriormente libertado para distribuição.[17]

2.5.1 Tecnologia de Isoladores

Os Isoladores têm como objetivo minimizar a principal causa de contaminação do produto, a intervenção humana, em áreas de processamento, o que pode resultar numa diminuição significativa do risco de contaminação microbológica dos produtos fabricados assepticamente a partir do ambiente que rodeia o processo de produção. O ambiente que rodeia um isolador terá de ser de classe D ou superior.[8]

O Isolador e o ambiente devem estar preparados para promover uma qualidade do ar necessária para o funcionamento daquela zona, sendo o ambiente interior estéril, esterilizado com vapor de peróxido de hidrogénio, por exemplo, e o fluxo de ar unidirecional. Os Isoladores são construídos de materiais diferentes, de fácil limpeza e manutenção. Os dispositivos de transportes podem variar entre ter uma ou duas portas, destinadas a selar o sistema que incorpora métodos de esterilização.[18]

O transporte de materiais para o interior e exterior do Isolador constitui um risco de contaminação, uma vez que no seu interior se realiza manipulação de alto risco.[8]



Figura 10 - Exemplo da estrutura de um Isolador.[19]

2.5.2 Tecnologia de sopragem/enchimento/vedação ou *Blow-fill-seal*

Esta tecnologia consiste em máquinas específicas, nas quais, numa operação contínua há formação dos contentores a partir de granulado termoplástico, enchimento e fecho. O equipamento utilizado na produção asséptica é composto por um chuveiro de ar de classe A e está integrado num ambiente classe C ou superior, desde que seja usado vestuário das categorias A/B.[8, 20]

Devido a esta tecnologia especial, deve-se prestar especial atenção à conceção e à qualificação do equipamento, validação e reprodutibilidade da limpeza e da esterilização *in loco*, ao ambiente circundante da Sala Limpa

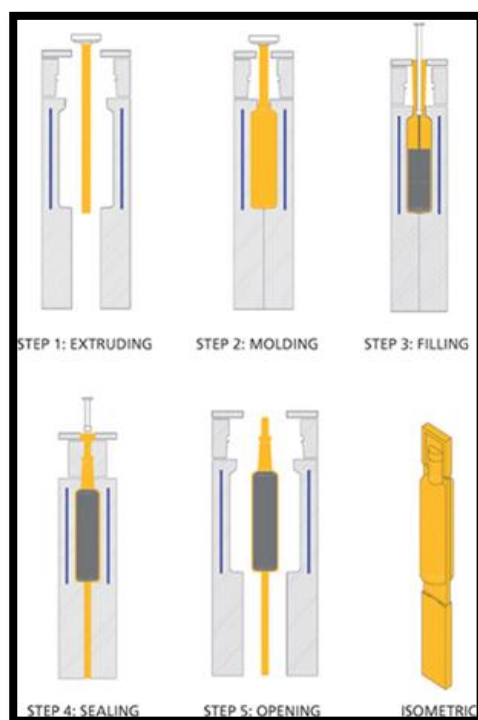


Figura 11 - Etapas no *Blow-fill-seal*. [17]

em que se encontra o equipamento, à formação e ao vestuário do operador, às intervenções na zona crítica do equipamento, incluindo qualquer montagem asséptica antes de se dar início ao enchimento.[8]

2.5.3 Produtos submetidos a esterilização final

Quando o produto em questão é submetido a esterilização final, a sua preparação deve processar-se, no mínimo, num ambiente de classe D, de modo a originar baixo risco de contaminação microbiana e por partículas, apropriado para filtração e esterilização.[8]

Caso o produto apresente um risco elevado ou invulgar de contaminação microbiana, por exemplo quando o produto favorece o crescimento de flora microbiana ou tem de aguardar um período prolongado antes da esterilização ou não é processado maioritariamente em recipientes fechados, a preparação deve ocorrer num ambiente de classe C. O enchimento destes produtos deve ocorrer, no mínimo, num ambiente de classe C.[8]

Já se o caso for de risco de contaminação ambiental, o enchimento deve ocorrer numa zona de classe A com um ambiente circundante de, pelo menos, classe C.[8]

A preparação e enchimento de pomadas, cremes, suspensões e emulsões deve ocorrer geralmente num ambiente de classe C, antes da esterilização terminar. No entanto, caso o produto seja exposto e não for posteriormente filtrado, a preparação e enchimento devem ocorrer num ambiente de classe A, com uma envolvente de classe B.[8]

2.6 Espaço físico

Nas áreas limpas, todas as superfícies expostas devem ser lisas, impermeáveis e intactas, não devem existir recantos inacessíveis à limpeza e os rebordos salientes. Prateleiras, armários e equipamento auxiliar devem ser reduzidos ao mínimo de modo a diminuir a contaminação ou acumulação de partículas ou de microrganismos e permitir a aplicação repetida de agentes de limpeza e de desinfetantes, se for caso disso. Em relação às portas, são preferíveis as portas de correr, evitando assim recantos inacessíveis.

A limpeza deverá ser feita por pessoal que tenha tido formação para esta tarefa, tendo um horário específico. Os procedimentos de limpeza e técnicas especiais serão definidos para minimizar o risco de acidentes inevitáveis ou falhas de sistemas que criam contaminação, que coloquem as Salas Limpas, produtos, processos ou pessoas em risco.[8, 21]

Os tetos falsos devem ser vedados para impedir a contaminação do espaço superior. Os tubos e condutas e outros sistemas de abastecimento devem ser instalados de forma a não criar recantos, aberturas e superfícies permeáveis difíceis de limpar.[8]

A zona de eliminação de substâncias deve ser proibida nas áreas de classes A/B utilizadas no fabrico asséptico. Noutras áreas, devem ser colocados interruptores de ar entre a máquina ou drenos. Por exemplo, os drenos no pavimento das Salas Limpas de classes inferiores devem ser equipados com redes protetoras ou válvulas hidráulicas para impedir o refluxo.[8]

Os vestiários devem ser concebidos com entradas pressurizadas e utilizados como barreira física das diversas fases de mudança de vestuário, minimizando, deste modo, a contaminação microbiana e por partículas do vestuário protetor. Devem ser eficazmente limpos com ar filtrado. No estado “em repouso”, a etapa final do vestiário deve ser da mesma classe da área a que dá acesso. Por vezes, é desejável a utilização de vestiários separados para a entrada e saída das áreas limpas. Regra geral, só deve haver instalações para lavar as mãos na primeira etapa dos vestiários.[8]

As duas portas pressurizadas não devem abrir simultaneamente. Deve ser acionado um sistema de bloqueio ou um sistema de aviso visual e/ou sonoro a fim de impedir a abertura de mais do que uma porta de cada vez.[8]

O abastecimento do ar filtrado deve manter uma pressão positiva e um fluxo de ar em relação às áreas circundantes de classe inferior em todas as condições operacionais e limpar eficazmente a área. As salas adjacentes de classe diferente devem ter uma pressão diferencial de 10 - 15 pascais (valor de referência). Deve prestar-se particular atenção à proteção da zona de risco mais elevado, ou seja, o ambiente imediato a que estão expostos o produto e os componentes limpos que entram em contacto com o produto. Em certas operações, poderá ser necessário proceder à descontaminação das instalações e ao tratamento do ar expelido da área limpa. Deve também existir um sistema de alerta para indicar falhas no abastecimento de ar. Devem existir manómetros entre as áreas em que estas diferenças são significativas. As diferenças de pressão devem ser registadas regularmente ou documentadas.[8]

2.7 Pessoal

Apesar de o processo industrial de medicamentos estar muito automatizado, o papel do pessoal que intervém no processo é de extrema importância. Todo o pessoal deve receber formação relativa não só das suas tarefas em particular como também acerca do “ambiente” do seu local de trabalho. É necessário formar sobre a Técnica Asséptica, como manter a higiene e limpeza necessárias para cada área de trabalho, elementos básicos de microbiologia, saber comunicar quaisquer condições que possam provocar a propagação de um número ou tipos anormais de contaminantes, conhecer o procedimento sobre troca de roupa e lavagem de modo a minimizar a contaminação do vestuário da área limpa ou o transporte de contaminantes para as áreas limpas e como atuar em caso de emergência. Também é importante que os funcionários estejam de boa saúde, realizem exames médicos periódicos e relatem qualquer desenvolvimento de sintoma que seja sinal de infeção.[8]

Em todas as áreas de produção nas áreas limpas, deve estar presente apenas o número mínimo de pessoas necessárias. [22]

2.8 Vestuário

O vestuário e respetiva qualidade devem ser apropriados para o processo e a classe da área de trabalho. Deve ser limpo, resistente ao atrito e dispersar o mínimo de partículas, como é o caso do algodão.[5, 21] Este facto é de extrema importância pois é a primeira linha de controlo de libertação de contaminantes, partículas viáveis e não-viáveis do exterior.

No equipamento do pessoal deve constar, principalmente, uma bata, calças, touca, botas, luvas e óculos, sendo de evitar a presença de botões e pregas, pois podem alojar partículas constituindo uma fonte de contaminação.[5]

Quando o vestuário se destina a ser novamente usado, este deverá ser submetido a 3 processos diferentes de limpeza: desinfeção, ciclos de água quente e esterilização, para que se possa garantir o estado pretendido quando for novamente utilizado numa Sala Limpa. Nestes processos também são efetuados testes de esterilidade para comprovar que a limpeza foi realizada com sucesso e não há perigo de contaminação por parte do vestuário.[21]

Descreve-se seguidamente o vestuário exigido para cada classe de Sala Limpa.

Tabela 11 - Condições de vestuário exigidas para cada classe de Sala Limpa.[8]

Classe D	O cabelo e, se for caso disso, a barba devem ser cobertos. Deve-se usar um fato protetor e sapatos ou protetores de sapatos adequados. Devem tomar-se medidas adequadas para evitar qualquer contaminação proveniente do exterior da área limpa.
Classe C	O cabelo e, se for caso disso, a barba e o bigode devem ser cobertos. Deve usar-se um fato completo ou de duas peças com calças, apertado nos pulsos e com gola alta e sapatos ou protetores de sapatos adequados. Estes fatos não devem disseminar praticamente quaisquer fibras ou partículas.
Classe A/B	O cabelo deve ser totalmente encerrado numa touca e, se for caso disso, a barba e o bigode; a touca deve ser introduzida dentro da gola do fato; deve usar-se máscara facial para impedir o derrame de gotículas. Devem-se usar luvas de borracha ou plástico, esterilizadas e sem pó, e calçado esterilizado ou desinfetado. As calças devem ser introduzidas dentro do calçado e as mangas do vestuário dentro das luvas. O vestuário protetor não deve disseminar praticamente quaisquer fibras ou partículas e reter as partículas lançadas pelo corpo.

O vestuário exterior não deve entrar nos vestiários de acesso às salas da classe B e C. Deve ser fornecido a cada operador das áreas da classe A/B, vestuário protetor limpo e estéril (esterilizado ou adequadamente higienizado) para cada sessão de trabalho. Durante as operações, as luvas devem ser regularmente desinfetadas e juntamente com as máscaras, estas devem ser mudadas, pelo menos, em cada nova sessão de trabalho.[8]

É desejável a existência de lavandarias separadas para este tipo de vestuário, de modo a garantir o tratamento adequado do vestuário não danificando as fibras e diminuindo assim o risco de emissão de partículas.

Os elementos mais importantes no vestuário estão descritos no Anexo A.

2.9 Métodos de Controlo Ambiental

Com a finalidade de controlar e verificar o cumprimento das exigências, realiza-se o Controlo Ambiental, o qual depende da área envolvida e do tipo de produto a preparar. Como anteriormente já foi referido, existem vários tipos de salas, ou áreas, cada um com os seus requisitos no que respeita ao número de partículas e contaminação microbiológica. Com esse objetivo realizam-se os seguintes testes:

Avaliação Biológica
•Exposição de Placas de Petri •Colheita através de fenda •Colheita através de centrifugação •Colheita através de uma série de tamizes •Colheita por impacto num líquido •Filtração através de membrana

Tabela 12 - Técnicas utilizadas na avaliação microbiológica.[17]

Avaliação de Partículas
•Filtração através de membrana •Contador de partículas por difracção da luz em ângulo recto • Contador de partículas por difracção da luz

Tabela 13 - Técnicas utilizadas na avaliação de partículas. [17]

Apesar da realização destes testes, existe também o Controlo do Tráfego de Pessoal, o principal agente de contaminação, e Controlo do Ar.

Relativamente ao Controlo de Tráfego, este começa logo na organização dos espaços na indústria. Há uma disposição das salas de modo a que, por exemplo, as Salas Limpas, ou de Classe A, tenham acesso através de uma antecâmara, sendo que para se poder entrar nestas salas, tem que estar autorizado para tal e seguir procedimentos rígidos em relação ao vestuário e higiene, e não é permitida a saída e reentrada sem que se realizem novamente os procedimentos de vestuário e higiene. [17]

No Controlo do Ar, há a preocupação de que este tanto se adequue não só aos processos que estejam a ser realizados no local como também ao pessoal interveniente. Em qualquer área ocupada por pessoal, o ar deve ser renovado em intervalos frequentes, sendo que o ar exterior fresco ou reciclado deve ser primeiro filtrado para remover partículas grosseiras e podem existir filtros em série constando filtros HEPA no final da série. No caso das áreas limpas, o ar limpo e asséptico flui com maior volume e velocidade de fluxo, produzindo assim uma pressão positiva nestas áreas, evitando a entrada de ar sujo através das aberturas ou portas temporariamente abertas.[17]

3 CONTROLO DE QUALIDADE E ESTUDO COMPARATIVO DOS SEUS ENSAIOS

Uma vez finalizado o processo de produção e ao longo de produção, realiza-se a comprovação da qualidade do produto. Estes ensaios são de extrema importância pois pertencem ao passo importante antes da libertação dos lotes produzidos para futura comercialização.

3.1 Teste para deteção de Endotoxinas - Pirogénios

As bactérias Gram-negativas são as responsáveis pela libertação de endotoxinas, sendo algumas delas de atividade pirogénica mais elevada, e portanto pretende-se que o medicamento seja isento destes contaminantes, uma vez que prejudicam a saúde do indivíduo.[3] De natureza lipopolissacáridica, estas endotoxinas são potentes iniciadores de resposta inflamatória que através de recetores *toll-like* 4 e CD4, levam à libertação de citocinas responsáveis pelo aumento da temperatura corporal.[23, 24]

Para deteção destas endotoxinas existe o método *in vivo*, onde se mede a variação da temperatura ou variação leucocitária nos coelhos e/ou cães após administração IV da solução amostra, uma vez que a sua sensibilidade é semelhante à dos humanos [25, 26]; e, finalmente, os métodos *in vitro*, onde se utilizam um lisado de amebócitos de *limulo*, ou método LAL, para a determinação por Gelificação, Turbidimetria e Colorimetria.[27]

3.1.1 Teste LAL

Quando na Farmacopeia não está mencionado qual o ensaio de endotoxinas específico, o Ensaio de Gelificação é o método de referência. É o mais simples e que depende de menor tempo dos 3 métodos que utilizam LAL, dado o facto de apresentar um resultado positivo ou negativo caso ocorra gelificação ou não, visível a olho nu. Já o método de Turbidimetria e Colorimetria são métodos quantitativos, obtendo-se assim uma concentração de endotoxinas/pirogénios. No entanto, apesar de estes dois últimos métodos necessitarem de mais materiais e instrumentos são fáceis de automatizar para o controlo de rotina de um grande número de amostras.[3]

O limite de sensibilidade para o teste de endotoxinas a ser utilizado é calculado através da expressão K/M, onde M é a dose máxima administrada a um adulto, com peso médio de 70Kg, por Kg por hora. O valor de K é o valor máximo permitido de endotoxinas numa preparação farmacêutica, sendo 5,0 EU/kg para as preparações de uso parenteral e 0,2 EU/kg para as preparações para administração intra-raquideana.[3]

3.1.2 Teste de Determinação da Temperatura em Coelho

Como método *in vivo* há a Determinação da Temperatura em Coelhos, cujo ensaio é muito semelhante na Farmacopeia Portuguesa (FP), Americana (USP), Britânica (BP), Europeia (EP) e Japonesa (JP).[3, 28-31]

Neste ensaio, escolhem-se coelhos adultos saudáveis com um peso de 1,5 Kg, que não tenham sido submetidos a uma pesquisa negativa de pirogénios durante os 3 dias precedentes, ou que não tenham sido utilizados nas 3 semanas precedentes numa pesquisa positiva de pirogénios. Há medição da temperatura antes, durante 30 min, e após a administração da solução amostra pela veia marginal da orelha, durante 90 min.[3] A solução-amostra satisfaz o ensaio de acordo com a tabela seguinte.

Tabela 14 - Requisitos para a satisfação no Ensaio de Determinação da temperatura dos coelhos. [3, 28-31]

Farmacopeia	N.º de coelhos no grupo	Satisfaz teste se a diferença de temperatura é menor que (°C)	Não-satisfaz teste se a diferença de temperatura é maior que (°C)
FP, BP, Ph. Eur.	3	1,15	2,65
	6	2,80	4,30
	9	4,45	5,95
	12	6,60	6,60
USP	3	----	O aumento de temperatura de cada coelho não deve ser superior a 0,6°C
	8	3,30	
JP	3	1,30	2,50
	6	3,00	4,20
	9	5,00	5,00

No caso de ocorrer infeção bacteriana, há libertação de pirogénios que ativam mecanismos de defesa que se traduzem pelo aumento rápido do número de leucócitos em circulação, nomeadamente os neutrófilos, com o intuito de combater a infeção de forma o mais rapidamente possível. A atuação dos leucócitos traduz-se pela produção de pirogénios endógenos, denominados de citocinas, que tal como os pirogénios

exógenos podem desencadear a febre, sendo este um mecanismo de proteção do organismo.[32, 33]

3.2 Contaminação de partículas: partículas não visíveis

Uma das fases mais importantes no “Ciclo de vida” do medicamento é a formulação do próprio medicamento mas também a escolha do recipiente ou embalagem primária. O fabrico dos materiais dos recipientes tem vindo a sofrer alterações ao longo dos tempos, sempre com novidades que permitem uma maior estabilidade do produto armazenado.

No controlo da contaminação por partículas não visíveis, o constituinte mais predominantemente encontrado é o Silicone, com origem nas ampolas de vidro por exemplo. Tal como a composição química das partículas, a dimensão também é de grande importância pois num estudo foram encontradas partículas de tamanho compreendido entre 5-50 μm , tamanho superior ao diâmetro dos capilares, ou seja 8-12 μm , que levam à sua obstrução.[34, 35]

Para a determinação da contaminação por partículas existem 2 métodos: o Ensaio de Contagem de Partículas por Interceção da Luz (método 1) e o Ensaio de Contagem de Partículas por Microscopia Ótica (método 2). Tanto um método como outro apresentam procedimentos iguais nas FP, USP, BP, Ph. Eur. e JP.[36-38]

Para a determinação de partículas não visíveis nas preparações injetáveis e nas preparações para perfusão utiliza-se de preferência o Ensaio de Contagem de Partículas por Interceção da Luz. Em determinadas preparações, pode ser necessário realizar Ensaios de Contagem de Partículas por Interceção da Luz em primeiro lugar e só depois por Microscopia Ótica para se poder concluir quanto à conformidade dos resultados obtidos.[3] Mas quando o método 1 não é aplicável, por exemplo no caso das preparações pouco límpidas ou muito viscosas, como é o caso das emulsões, das soluções coloidais e das preparações de lipossomas, o ensaio realiza-se com recurso ao método 2. Do mesmo modo, um ensaio de Contagem de Partículas por Microscopia Ótica pode igualmente ser exigido no caso de produtos que formem bolhas de ar ou de gás quando passam através do detetor. Se a viscosidade da preparação é tal que o exame por um ou outro dos métodos é impossível, pode-se efetuar uma diluição quantitativa com um diluente apropriado de modo a reduzir a viscosidade para o grau julgado necessário para permitir o ensaio.[3] Em ambos os ensaios, o procedimento efetua-se em condições que limitem a contaminação por partículas, de preferência numa CFL.[3]

3.2.1 Ensaio de Contagem de Partículas por Intercepção da Luz

Neste ensaio é utilizado um aparelho baseado no princípio da intercepção de um raio luminoso que vai permitir a determinação automática do tamanho das partículas e a distribuição de tamanhos. Para isso, o aparelho é calibrado com substâncias de referência que consistem em dispersões de partículas esféricas, de tamanho conhecido e compreendido entre 10 e 25 μm , em água isenta de partículas. A realização deste ensaio exige condições que limitem a contaminação por partículas, por isso é aconselhável ser feito numa CFL. [3]

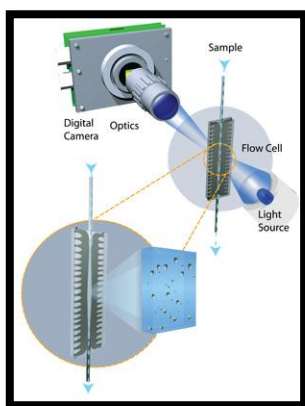


Figura 12 - Equipamento de detecção e contagem de partículas, MFI™ Technology.[39]

A amostra satisfaz o ensaio quando cumpre os seguintes requisitos, que são iguais para FP, USP, BP, Ph. Eur. e JP:

Tabela 15 - Requisitos para a satisfação do Ensaio de Contagem de Partículas por Intercepção da Luz.[3, 28-31]

Volume da solução	Tamanho de partícula ≥ 10 μm	Tamanho de partícula ≥ 25 μm
Pequeno volume (≤ 100 mL)	3000 por recipiente	300 por recipiente
Grande volume (>100 mL)	12 por mL	2 por mL

3.2.2 Ensaio de Contagem de Partículas por Microscopia Ótica

Para este ensaio é utilizado um microscópio binocular, um dispositivo de filtração e uma membrana capaz de reter possíveis contaminações por partículas. O microscópio é constituído por um micrómetro ocular calibrado, que consiste num retículo circular que compreende um grande círculo, ou campo de visão do retículo, dividido em quartos por linhas cruzadas, círculos de referência negros e transparentes de diâmetro de 10 e de 25 μm com um aumento de 100 e uma escala linear graduada

de 10 em 10 μm e é calibrado com um micrómetro de objetiva. São necessários também dois iluminadores, um iluminador episcópico para fundo claro, interno do microscópio, e um iluminador auxiliar externo regulável, ajustável para permitir uma iluminação oblíqua refletida segundo um ângulo de 10-20°. O dispositivo de filtração está destinado a reter a contaminação por partículas, constituído por um suporte de filtro de vidro ou de outro material conveniente, uma fonte de vácuo e uma membrana adequada. A membrana filtrante, de dimensões apropriadas, é de cor negra ou cinzenta escura e é coberta ou não com uma grelha, sendo o tamanho dos poros inferior ou igual a 1,0 μm . [3] Tal como o ensaio anterior, a realização deste ensaio exige condições que limitem a contaminação por partículas, por isso é aconselhável ser feito numa CFL. [3]

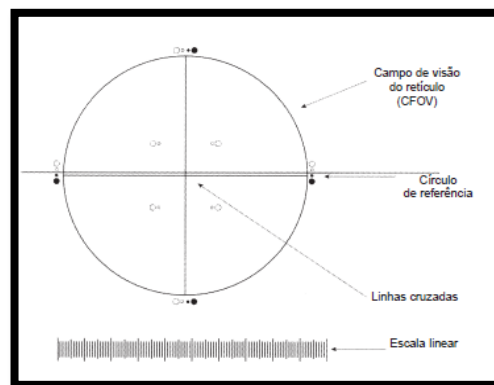


Figura 13 - Retículo circular. [2]

A amostra satisfaz quando cumpre os seguintes requisitos que são iguais para FP, USP, BP, Ph. Eur. e JP:

Tabela 16 - Requisitos para a satisfação do Ensaio de Contagem de Partículas por Microscopia Ótica.[3, 28-31]

Volume da solução	Tamanho de partícula $\geq 10 \mu\text{m}$	Tamanho de partícula $\geq 25 \mu\text{m}$
Pequeno volume ($\leq 100 \text{ mL}$)	6000 por recipiente	600 por recipiente
Grande volume ($> 100 \text{ mL}$)	25 por mL	3 por mL

3.3 Contaminação de partículas: partículas visíveis

Neste ensaio analisa-se a contaminação por partículas nas preparações Injetáveis constituída por partículas estranhas, não dissolvidas e móveis, além das bolhas de gás, e que se encontram involuntariamente dentro destas soluções.

Para este ensaio utiliza-se um aparelho, como demonstrado na Figura 14 e 15,

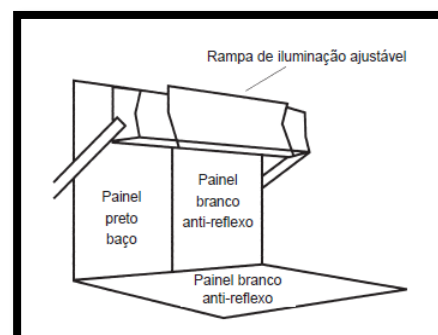


Figura 14 – Esquematização do aparelho para determinação de partículas visíveis.[2]

constituído por um painel preto baixo, um painel branco antirreflexo e uma rampa com fonte de iluminação ajustável.

Para a detecção de partículas, retiram-se os rótulos dos recipientes, lavam-se e seca-se o exterior do recipiente. Agita-se suavemente e inverte-se cada recipiente com precaução, evitando a formação de bolhas de ar e observa-se o interior do recipiente durante cerca de 5 segundos contra o painel branco. Repete-se de seguida o mesmo procedimento contra o painel preto. Caso haja a presença de qualquer partícula, regista-se.[2]



Figura 15 - Exemplo de aparelho para determinação de partículas visíveis.
[40]

3.4 Teste de Tonicidade

A determinação da tonicidade utiliza a medição do abaixamento crioscópio, pressão de vapor e pressão osmótica. O abaixamento crioscópio e a pressão de vapor são métodos rápidos e que necessitam de pouca quantidade de amostra, mas têm a desvantagem de serem métodos indiretos dependentes de fatores termodinâmicos e solubilidade. A pressão osmótica sobre os glóbulos vermelhos não é muito aceite uma vez que o comportamento dos glóbulos vermelhos pode variar consoante a sua resistência. No entanto para todos os métodos, a temperatura ambiente vai influenciar nos resultados obtidos. Também existem métodos diretos, como a osmometria de membrana desenvolvida em laboratório, semipermeável, onde se mede a pressão do líquido após se atingir o equilíbrio do fluxo através da membrana, mas tem a limitação de requerer grandes quantidades de amostra.[5, 41-43]

3.5 Determinação de pH

O pH é um parâmetro essencial não só no controlo do produto, na previsão da estabilidade ao longo do tempo, mas também é um indicador do processo de fabrico, indiretamente, que demonstra uniformidade do produto.[44, 45]

Este ensaio pode ser realizado com papéis indicadores, pouco rigorosos, colorimetria ou através de técnicas potenciométricas, método mais rigoroso.[3, 5, 31]

3.6 Volume Extraível

O ensaio do *Volume Extraível* é destinado às preparações injetáveis unidose como ampolas, cartuchos ou seringas pré-cheias. Estes medicamentos estão acondicionados em recipientes que contêm uma quantidade de preparação suficiente para permitir a administração da dose nominal indicada no rótulo, sendo o volume final ligeiramente superior ao volume nominal. O excedente depende das características do produto e não é uma quantidade capaz de apresentar risco se o conteúdo for administrado na sua totalidade.[3]

No caso das suspensões e as emulsões são agitadas antes da retirada do conteúdo para a determinação da massa volúmica. As preparações oleosas ou viscosas podem ser aquecidas, se necessário, segundo as indicações indicadas no rótulo e vigorosamente agitadas imediatamente antes da retirada do conteúdo; posteriormente, este é arrefecido a 25°C antes da determinação do volume.[3]

Para a realização do ensaio, utiliza-se o número de amostras conforme o seu volume, como está descrito na Tabela 17. Retira-se, então, todo o volume contido no recipiente para uma proveta, e no caso de volumes mais pequenos faz-se com auxílio de seringa. A amostra satisfaz o ensaio caso o volume obtido não seja inferior ao volume nominal. O procedimento e critérios de satisfação do ensaio são iguais para as Farmacopeias Americana, Britânica, Japonesa e Europeia.[3, 28-31, 36-38]

Tabela 17 - Número de recipientes a utilizar no ensaio de acordo com o volume de solução.[3, 28-31]

Volume de solução	N.º de recipientes usados para o teste
≥ 10 mL	1
3 – 10 mL	3
< 3 mL	5

3.7 Teste de esterilidade

Todos os produtos designados estéreis terão essencialmente de satisfazer este ensaio, cuja principal finalidade deste é garantir que se está presente de um produto isento de microrganismos viáveis, cuja probabilidade de sobrevivência seja de 10^{-6} . São submetidos a este teste os produtos e materiais sujeitos a um processo de esterilização previamente validado, tal como o processo de fabrico.[17, 46]

3.7.1 Método Standard

O método *standard* é o que está presente nas Farmacopeias, com procedimento igual para vários países, e realiza-se num ambiente onde o risco de contaminação seja o mínimo possível, ou seja, nas CFL presentes em Salas Limpas. Desta forma não só é possível tanto o despiste de uma contaminação por parte da matéria-prima, recipientes, equipamentos, instrumentos, como também do processo de produção e o ambiente envolvente. Neste procedimento existem 2 métodos distintos: técnica de filtração através de membrana ou sementeira direta do meio nutritivo com a amostra.[3, 28-31, 36]

A técnica da filtração através de membrana é utilizada sempre que a natureza do produto o permita, ou seja, quando são preparações aquosas filtráveis, alcoólicas ou oleosas, preparações solúveis em solventes aquosos ou oleosos ou miscíveis com esses solventes desde que não exerçam efeito antimicrobiano nas condições do ensaio, de modo a evitar falsos negativos. Segundo este método, faz-se passar a amostra do produto por um filtro de membrana estéril, do tipo polimérico, de porosidade igual a 0,2 μm . Esta porosidade vai permitir a retenção de bactérias no filtro, que posteriormente é lavado e inoculado num meio segundo a Tabela 20. Esta técnica permite analisar maiores quantidades de volumes.[3, 46]

No método de sementeira direta do meio nutritivo com a amostra, há inoculação direta do produto a analisar, conforme a Tabela 20.[3]

Quando existe na amostra um agente com propriedades antimicrobianas, efetua-se o ensaio após ter-se inativado o agente antimicrobiano por meio de uma substância adequada, como um agente complexante que o faça precipitar seguida de filtração para remoção, ou por alteração do pH ótimo ou por diluição numa quantidade suficiente do meio de cultura. Ambos os métodos são baseados na inoculação, membrana ou amostra e isolamento dos microrganismos.[3, 5, 46]

Relativamente à quantidade de amostras a ser submetida ao ensaio, esta depende da dimensão do lote, como é referido nas seguintes tabelas.

Tabela 18 - Número mínimo de unidades a utilizar no ensaio conforme dimensão do lote.[3]

N.º de unidades por lote	N.º mínimo de unidades a examinar por meio, salvo exceção justificada e autorizada
Preparações parentéricas ≤ 100 > 100 e ≤ 500 > 500	10%, mas não menos de 4 10 2%, mas não mais de 20
Preparações oftálmicas e outras preparações de uso não-injetável ≤ 200 > 200 Se o produto for acondicionado em recipientes unitários, aplica-se o esquema de amostragem das preparações parentéricas	5%, mas não menos de 2 10
Produtos sólidos a granel ≤ 4 > 4 e ≤ 50 > 50	Todos os recipientes 20%, mas não menos de 4 2%, mas não menos de 10
Antibióticos a granel acondicionados em oficina (mais de 5 g)	6

(Se o conteúdo de um só recipiente é suficiente para semear os dois meios, esta coluna indica o número de recipientes a utilizar para o conjunto dos dois meios)

As quantidades mínimas utilizadas no ensaio estão já definidas e estão mencionadas na tabela seguinte.

Tabela 19 - Quantidade mínima a utilizar no ensaio conforme quantidade de preparação.[3]

Quantidade de cada recipiente da preparação	Quantidade mínima a ser utilizada em cada meio de cultura
Para líquidos Menos de 1 mL 1 mL – 40 mL 40 mL – 100 mL Mais de 100 mL	Conteúdo total do recipiente Metade do conteúdo do recipiente 20 mL 10% do conteúdo do recipiente a obter pelo menos 20 mL
Líquidos antibióticos	1 mL
Outras preparações solúveis em água ou em misturados de isopropilo	Todo o conteúdo de cada recipiente de modo a obter pelo menos 200 mg
Preparações insolúveis, cremes e pomadas a converter em suspensão ou emulsão	Todo o conteúdo de cada recipiente de modo a obter pelo menos 200 mg
Sólidos < 50 mg 50 mg – 300 mg 300 – 5 g > 5 g	Conteúdo total do recipiente Metade do conteúdo do recipiente 150 mg 500 mg

Segundo a Farmacopeia, não só portuguesa, como também a USP, BP, Ph. Eur. ou JP por exemplo, os meios de cultura onde vão ser inoculados a amostra ou a membrana de filtração, têm de permitir a deteção não só de bactérias como também de fungos, fazendo ensaios distintos. Como está indicado na Tabela 20, o meio de cultura escolhido antecipadamente para deteção de bactérias ou fungos, permite detetar um tipo de microrganismo, e a sua incubação tem temperatura e duração em dias específicas. [3, 46] Na prática do controlo de qualidade dos produtos estéreis, o ensaio para deteção de bactérias realiza-se ao mesmo tempo que o ensaio para deteção de fungos, diversificando o meio de inoculação como já foi referido e a amostra satisfaz o ensaio do teste de esterilidade quando não apresenta crescimento microbiano ao fim de 14 dias.

Tabela 20 - Requisitos para o Ensaio de Esterilidade.[3, 28-31]

Meio de cultura	Microrganismo em teste	Incubação		
		Temp. (°C)	Duração (dias)	Tipo de microrganismo
Tioglicolato	<i>Bacillus subtilis</i>	30-35	3 dias	Anaeróbio
	<i>Staphylococcus aureus</i>	30-35	3 dias	Anaeróbio
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30-35	3 dias	Anaeróbio
Tioglicolato alternativo	<i>Bacterides vulgates</i>	30-35	3 dias	Anaeróbio
	<i>Clostridium sporogenes</i>	30-35	3 dias	Anaeróbio
Hidrolisado de caseína e de soja	<i>Aspergillus niger</i>	20-25	5 dias	Aeróbio
	<i>Candida albicans</i>	20-25	5 dias	Aeróbio

3.7.2 Métodos Rápidos

Apesar do método *standard*, descrito na Farmacopeia, existem outros tipos de testes que se têm demonstrado mais rápidos na deteção de eventuais contaminações, mais sensíveis e mais precisos. Porém, não são muito utilizados a nível da indústria, uma vez que exigem maiores custos e pessoal qualificado para os realizar. São exemplo de métodos rápidos[4, 46], os seguintes métodos:

Sistema de crescimento direto • Aplicação das amostras nas membranas próprias, colocadas em meio de cultura e incubadas; • Obtenção de imagem utilizando um detector CCD, <i>Charge Couple Device</i>, que ao fazer emitir um feixe de luz sobre a amostra, cria uma imagem onde se detetam as colónias.	Técnica Colorimétrica • Monitorização da produção de CO₂ pelos microrganismos; • Presença de microrganismos detetada pelo aumento da sua libertação de CO₂, ficando a coloração do sensor mais nítida, sinal de contaminação; • Detecção imediata a "olho nú"; • Suporta temperatura dos 10-30°C.	Método ATP-bioluminescência • Reacção entre um complexo enzimático luciferase-luciferina com o ATP libertado pelos microrganismos, na presença de oxigénio, resultando da produção de luz; • Utiliza-se um luminómetro para detectar e quantificar a luz emitida, proporcional à biomassa das amostras.
--	---	---

Método de contagem direta das colónias viáveis • Amostra filtrada e corada; • Contagem das células microbianas através de microscopia de epifluorescência; • Método incapaz de testar várias amostras em simultâneo.	Citometria de fluxo • Utilização da coloração "chemochrome B"; • Contagem através de instrumento de deteção a laser; • Aplicações: Contagem de indicadores biológicos.	Tecnologia de PCR • Têm como base a informação genética, ADN; • Amplificação de sequências específicas de ADN e, consequente, identificação do microrganismo; • Aplicação: controlo da água.	Identificação genética • Diferenciação química e estrutural das membranas e paredes de bactérias Gram⁻ e Gram⁺; • Maior garantia de reprodutibilidade face aos métodos bioquímicos.
---	---	---	---

4 AS FORMAS FARMACÊUTICAS ESTÉREIS

4.1 Formas farmacêuticas de uso oftálmico

As preparações oftálmicas são estéreis e apirogênicas, destinadas a tratar afecções do globo ocular ou como adjuvantes no diagnóstico. Nestas preparações estão enquadradas formas líquidas, semissólidas e sólidas, que podem conter um ou mais princípios ativos que têm como condições fundamentais a esterilidade, isotonia, apirogenia e ausência de partículas.[47] Estas formulações têm aplicação na pálpebra, conjuntiva e córnea.[5] Dentro deste grupo inserem-se os colírios, geles, cremes, pomadas de uso oftálmico e implantes oftálmicos. Podendo-se classificar os colírios como aquosos, oleosos, gasosos e secos, sendo mais usualmente como gotas.[48] Estas últimas são instiladas no saco conjuntival sendo rapidamente eliminadas pelas lágrimas, diminuindo tempo de contacto, o que obriga a um maior número de administrações para garantir a concentração ideal no local. Uma alternativa aos colírios seria a pomada oftálmica, quando possível, uma vez que se mantém no local durante mais tempo, ou o uso de implantes oftálmicos, colocados no saco conjuntival para libertação controlada do fármaco, havendo uma dose sempre ajustada.[5, 47, 49, 50]

Durante o seu processo de produção é indispensável um controlo de qualidade em IPC com o objetivo de detetar o mais precocemente a possível existência de partículas, microrganismos, pirogênios, monitorizar valores de pH e tonicidade, tamanho de partícula no caso das suspensões, limpidez da solução e integridade da embalagem, por exemplo.[3]

Relativamente à tonicidade das preparações oftálmicas, estas deveriam ser isotónicas. A zona ocular tolera bem cloreto de sódio (NaCl) a 0,9% que corresponde a 300 mOsmol/L mas caso seja 0,5% ou NaCl a 2%, também há boa tolerância. No entanto, tem de haver precaução quando é hipertónica ou osmolaridade seja superior de 300 mOsmol/L, isto porque a integridade do olho e produção de lágrima podem ficar afetadas, levando mesmo à morte celular quando for aplicada uma solução hipertónica sobre um olho seco que produza pouca lágrima, sendo esta também a razão da advertência relativa ao uso de conservantes, tipo BAK ou cloreto de benzalcónio, nas preparações oftálmicas.[47, 51] Estas preparações, para além das propriedades já mencionadas, contêm mais aspetos de grande importância na sua formulação como seja o pH. Uma vez que estes medicamentos têm ação local e como há presença da lágrima como meio de proteção, estas formas farmacêuticas têm de se manter estáveis, juntamente com a composição da lágrima. Por isso, é desejável que

o pH destas formas farmacêuticas seja próximo do pH lacrimal, ou seja, próximo da neutralidade. No entanto, há formulações que não são estáveis a $\text{pH} \approx 7$, havendo tolerância ocular quando o pH da formulação fica ligeiramente mais ácido, evitando irritabilidade ocular por parte do princípio ativo instável quando em solução de pH neutro.[47, 52] No caso do princípio ativo da formulação conter atividade antimicrobiana, as preparações oftálmicas são dispensadas em sistema multidose que incluem um agente conservante. Após a sua abertura, estes produtos têm uma validade aproximada de 30 dias.[3]

4.2 Forma farmacêutica de aplicação nasal

Quando se fala de aplicação nasal, o destino do medicamento é a mucosa nasal, por ação tópica, exercendo maioritariamente uma ação descongestionante, seja por intermédio de princípios ativos ou de água do mar.

Antigamente formuladas com veículos oleosos, é hoje preferida a solução aquosa na produção de um medicamento para esta aplicação, pois veio-se a verificar que as soluções oleosas podiam originar pneumonias lipídicas por haver partículas que chegavam até aos pulmões. No entanto, a preparação das soluções aquosas requer atenção em vários aspetos, uma vez que a sua má preparação pode causar danos na mucosa nasal, chegando mesmo a ser irreversíveis.[5] A formulação destas preparações deve ter em conta a escolha dos princípios ativos. As suas doses e os seus veículos não poderão impedir a atividade normal dos cílios nem modificar a viscosidade própria do muco, conferindo sempre uma perfeita compatibilidade com a fisiologia normal da mucosa nasal.[5] Uma substância bastante importante nestas preparações é o NaCl. Este composto isotonizante quando está presente numa concentração de 0,9% e a uma temperatura entre 25-30°C, permite que os cílios da mucosa nasal permaneçam ativos. Esta formulação é isotónica com a mucosa nasal. No entanto, quando aumenta a sua concentração para 4-4,5%, esta formulação já impede o movimento ciliar, o qual é restaurado após lavagem com água destilada e soro fisiológico. O mesmo acontece quando temos a situação oposta, uma solução hipotónica de NaCl, ou seja, em concentração perto de 0,2-0,3%, há paragem do movimento ciliar, mas se este contacto se mantiver por tempo suficiente, a mucosa nasal poderá ficar lesada irreversivelmente.[5] Assim, pretende-se que estas formas farmacêuticas obedeçam aos seguintes requisitos:

- pH situado entre 6,5-8,3, uma vez que o pH da secreção nasal esta compreendido entre 6,4 e 6,8 e tem tendência a alcalinizar no caso de constipações, rinites e sinusites;
- Possuam uma determinada capacidade tampão;
- Isotonicidade relativa ao muco;
- Não modificar a viscosidade normal dos cílios nasais;
- Ser compatível com a atividade ciliar e o muco produzido;
- Possuir longa estabilidade;
- Conter agentes antimicrobianos em quantidades suficientes que impeçam o crescimento de microrganismos;
- Ser estéril (ou semi-estéril), uma vez que é aplicada na mucosa que não se encontra íntegra.

4.3 Forma farmacêutica de aplicação auricular

A administração auricular tem como objetivo a ação local do medicamento, onde a absorção sistémica não tem revelado grande aplicação. Embora seja habitual a instilação de gotas no canal auditivo externo, com a intenção de aliviar a dor, por exemplo, estas formulações têm demonstrado algumas limitações, nomeadamente, quando a integridade da membrana timpânica não esteja devidamente assegurada. A escolha dos medicamentos que podem ser utilizados no tratamento de afeções do ouvido médio ou do ouvido externo está dependente não só dos aspetos etiológicos, como do carácter temporal da situação clínica.[5, 53] Na zona auricular predominam 2 tipo de patologias: a acumulação excessiva de cerúmen e as infeções. Para a acumulação de cerúmen, utilizam-se soluções para a sua remoção como, por exemplo, água aquecida à temperatura corporal e, quando necessário, por estar duro e compactado, pode ser previamente amolecido. O bicarbonato de sódio, também eficaz, pode causar secura do canal auditivo. [53-55]

Em relação às infeções auriculares, apesar na zona auricular ter uma flora própria de *Micrococcus aureus*, *Micrococcus albus* e *Corynebacteria spp*, entre outros, podem aparecer bacilos *Pseudomonas aeruginosa* que se desenvolvem quando o ouvido está mais sensível, proporcionando um ambiente favorável ao seu desenvolvimento e aparecimento de infeção, e daí a importância da esterilidade nestas preparações.[53]

Tal como nas preparações anteriores, as auriculares também têm obedecer a certos requisitos. Pretende-se que as preparações auriculares tenham, essencialmente, um pH compreendido entre 5-7,8, podendo ser ligeiramente ácidas e deverão ser estéreis, uma vez que a zona auricular pode não se encontrar íntegra.[53]

4.4 Formas farmacêuticas de uso parenteral

As formulações com via de administração parenteral (IV, IM, SC, entre outras) são das que apresentam maior rigor na sua produção. Estas formulações deverão ser produtos estéreis, apirogénicos, isotónicos e com pH próximo do pH sanguíneo, aproximadamente 7, isentos de partículas, à exceção das suspensões onde há controlo do tamanho de partícula, cujo controlo de qualidade recai na verificação da sua perfeita tolerância para os tecidos e inocuidade total para o organismo.[5]

Dentro destas preparações existem as líquidas (soluções, emulsões ou suspensões) ou sólidas, que contêm um ou mais princípios ativos. Quando se fala de soluções aquosas tem-se como objetivos a isotonicidade, pH próximo da neutralidade e serem apirogénicas e já no caso de soluções oleosas pretende-se que sejam preparadas com óleos isentos de acidez, nunca excluindo a esterilidade de ambas. A importância do pH recai também na manutenção da estabilidade do produto.[5, 44, 45]

As formas mais usualmente utilizadas são as injeções, prontas a administrar ou com necessidade de diluição, pós para reconstituição no momento de administração e implantes. Mas, antes da sua administração, alguns medicamentos são apresentados sob forma concentrada líquida que necessita de diluição e quando se apresenta sob forma de pó liofilizado necessita de reconstituição com um solvente adequado, sendo que no final se podem obter preparações definitivas, quando a estabilidade se mantém durante mais tempo, ou extemporâneas como é o caso de muitos liofilizados hidrolizáveis, em que a sua administração tem de ocorrer ao fim de muito pouco tempo após reconstituição.[5]

No entanto, também dentro deste grupo, existem as vacinas, o sangue e produtos derivados do sangue, soluções de diálise e fármacos radioativos que necessitam de especial atenção na sua recolha/produção, uma vez que as suas propriedades assim o requerem.

No processo de formulação destes produtos, quando se pretende adicionar excipientes como solventes (soro ou soro glicosilado), soluções tampão, tensioativos, ou soluções para manter a forma isotónica, estabilizadores ou conservantes, tem que se ter em atenção que a quantidade deve ser a mínima possível para que os

excipientes tenham efeito e não causem efeitos adversos como, por exemplo, afetar a estabilidade, biodisponibilidade, segurança, eficácia dos princípios ativos ou, eventualmente, causar toxicidade ou irritação local.

Uma escolha para as soluções aquosas é o uso de Água para Injetáveis. As características desta água são apresentadas no Anexo B. Este solvente é muitas vezes utilizado na reconstituição de medicamentos liofilizados ou concentrados antes da sua administração.[56-58]

4.4.1 Água para Injetáveis

O veículo preferencialmente utilizado para administrar injetáveis é a Água para Injetáveis, uma vez que a solução aquosa é a formulação ideal.[17, 58]

Esta água é estéril, isenta de pirogênios e a sua qualidade é controlada ao longo de todo o processo de produção. Outros requisitos, também importantes, da Água para Injetáveis são referidos no Anexo B.[3, 58]

No fabrico a granel para produção do medicamento final, a Água para Injetáveis é obtida a partir da água para consumo humano, que é purificada através da técnica de destilação ou osmose inversa. Durante a produção e a conservação são tomadas medidas apropriadas para garantir que o número total de microrganismos aeróbios viáveis é convenientemente controlado e monitorizado. São estabelecidos limites de alerta e de intervenção de modo a detetar qualquer evolução indesejável.[3] Em condições normais, é considerado como sinal para intervenção apropriada um número de microrganismos aeróbios viáveis totais de 10 microrganismos/100 mL. Este limite é determinado utilizando meio gelosado, por filtração de membrana de, no mínimo, 200 mL de água para preparações injetáveis a granel e incubando a 30-35°C durante 5 dias. No caso das preparações injetáveis serem objeto de um tratamento asséptico, pode ser necessário aplicar limites mais restritos.[3, 59]

Na produção de Água Esterilizada para preparações injetáveis em monodoses, esta é repartida por recipientes apropriados e, de seguida, fechados e esterilizados pelo meio de calor, em condições tais que satisfaça o ensaio das Endotoxinas bacterianas da Farmacopeia, sendo isenta de qualquer aditivo.

Os recipientes contêm uma quantidade de água suficiente para permitir a obtenção do volume nominal.[3]

4.4.2 Preparações para irrigação

Apesar de não serem de administração injetável, também são consideradas como formas farmacêuticas estéreis. São mais utilizadas em meio hospitalar, destinadas a serem usadas em cirurgias, por exemplo, para irrigação de cavidades, cicatrizes e superfícies. Como há possibilidade de contacto direto com vasos sanguíneos, também estes produtos deverão cumprir os requisitos das preparações de uso parenteral. Estes produtos são estéreis, isentos de pirogénios e partículas, e de grande volume onde há dissolução de um ou mais princípios ativos, sendo exemplos soluções de NaCl a 0,9% e de Lactato de Ringer.[36]

5 PREPARAÇÕES CITOTÓXICAS E NUTRIÇÕES PARENTÉRICAS

As Preparações Citotóxicas e as Nutrições Parentéricas têm especial atenção uma vez que não só têm interesse a nível industrial como também nos Serviços Farmacêuticos existentes nos Hospitais. Ambas são formas farmacêuticas líquidas, de administração IV, equiparadas às preparações de uso parenteral, como já foi anteriormente descrito. No caso destas preparações, desde a produção industrial dos medicamentos até à manipulação, a Técnica Asséptica é requisito essencial de forma que no final se obtém um produto final estéril, apirogénico, ausente de partículas, com pH próximo da neutralidade, garantindo-se também a estabilidade e compatibilidade de todos os constituintes prescritos nas doses corretas. Para todas as preparações, devem ser feitos registos de todas as operações efetuadas, sejam estas realizadas assepticamente ou não, assim como o tempo de preparação, qual o operador, o número de lote dos produtos e a data de preparação. São igualmente necessários ensaios de validação dos métodos utilizados e deverão ser efetuados testes ambientais que compreendam não só o ar, como também as superfícies e o operador. [60, 61]

No caso destas preparações, nos Serviços Farmacêuticos tem de haver três espaços diferenciados: uma área de ambiente controlado ou Sala Limpa, uma área de trabalho e uma área de armazém.[61]

A área de ambiente controlado, ou Sala limpa, é a área onde há maior risco para o produto manipulado. Tem acesso limitado e controlado, separado das outras áreas de modo a haver o menor risco de contaminação quer do pessoal quer do

material. Entre esta área e as restantes encontra-se uma antecâmara destinada à organização e preparação do material, e higienização do material e pessoal, que vai entrar para a Sala Limpa, havendo aqui já necessidade de proteção do calçado com protetores adequados e utilização de bata branca ou vestuário limpo do hospital.[60] Nesta antecâmara preparam-se os chamados “tabuleiros”, feitos de material fácil de limpar e desinfetar, onde se coloca a prescrição juntamente com os rótulos onde estão descritos os constituintes e os respetivos volumes, os próprios constituintes, os reservatórios finais (bolsas, bombas infusoras ou seringas), as seringas para extração de volumes, de capacidade não inferior à medição do volume indicado, os “sistemas”, no caso de citotóxicos, que são o meio de ligação da preparação ao doente, sendo que podem ter ou não um filtro, com uma membrana de porosidade inferior a 0,22 µm, utilizado no caso dos medicamentos derivados dos Taxanos, por exemplo, e nunca no caso da existência de produtos biológicos como os Anticorpos Monoclonais. Este material é tratado com álcool 70º e transferido para a Sala Limpa através de uma janela denominada “transfer” com dupla porta.[62]

Os pontos principais do procedimento da Técnica Asséptica em meio hospitalar encontram-se no Anexo C.

A Sala Limpa é dotada de uma CFL Horizontal, no caso das nutrições parentéricas, ou uma CFL SB classe II tipo B, no caso dos citotóxicos.

Tanto a antecâmara e a Sala Limpa têm de cumprir requisitos rigorosos para a sua limpeza e controlo do AVAC.[60]

Em ambos os casos, entram no máximo duas pessoas para a manipulação, com vestuário limpo do hospital, proteção do calçado, touca e máscara cirúrgica.

Mas antes da entrada para a manipulação da preparação, tem de haver uma organização do trabalho que se vai realizar na Sala Limpa, na Área de Trabalho. É aqui que se fazem os registos e programações das prescrições, se validam estas de acordo com a bibliografia específica, se elaboram os mapas de produção onde constam os constituintes, doses e volumes, tudo com auxílio de meios informáticos sempre que possível de modo a poupar tempo e recursos.[61]

No entanto é na Área de Armazém onde se guardam os medicamentos e materiais necessários a esta produção, sendo que os medicamentos citotóxicos se encontram separados dos restantes. [61]

5.1 Preparações Citotóxicas

Entendem-se por preparações citotóxicas, formas farmacêuticas líquidas estéreis com propriedades citotóxicas ou citostáticas com administração IV, SC ou intravesical, por exemplo. Devem-se garantir as condições para minimizar o risco de exposição a estes medicamentos, por meio de geração de aerossóis e derramamentos. Podem causar irritação da pele, olhos e mucosas por contato direto, devido à atividade vesicante, de ulceração e necrose dos tecidos. Por isso, devem existir *Manuais de Procedimentos* para a preparação e manipulação, conhecidos pelo pessoal interveniente nestes processos, de modo a realizar as técnicas conforme o estipulado, as suas funções e as suas responsabilidades. Também deverão conhecer os riscos e precauções relativos ao manuseamento destes medicamentos e utilização do material de proteção. Outro manual fundamental nesta área de produção é o *Manual de Procedimentos* em caso de Derrame, juntamente com o Kit de Primeiros Socorros específicos para este tipo de medicamentos.[61] Na manipulação de medicamentos citotóxicos exige-se tanto a proteção do produto como do operador e do ambiente e para isso são referidos alguns procedimentos relativos às condições necessárias a uma boa manipulação destas preparações no Anexo D.

Por motivos de segurança, as mulheres grávidas ou que estejam a amamentar devem evitar a manipulação de citotóxicos.

5.2 Nutrição Parentérica

Relativamente às nutrições parentéricas, são preparações farmacêuticas estéreis que têm o objetivo de fornecer a alimentação, nutrientes, necessários ao doente por um período de 24 h, quando é impossível a alimentação por via oral ou entérica. Existem dois tipos gerais: as *Bolsas Standard* produzidas a nível industrial e as *Personalizadas* de acordo com uma prescrição médica detalhada com os vários constituintes, preparada nos Serviços Farmacêuticos Hospitalares. No entanto, há patologias/estados particulares da saúde do doente que condicionam a utilização das Nutrições Parentéricas, tais como: idade, existência de patologia que induza imunodeficiência, presença de infeção, entre outros.[61, 63, 64]

As *Bolsas Standard* são mais utilizadas em adultos fazendo-se referência à quantidade de azoto, osmolaridade e volume total da bolsa, sendo estes fatores que vão influenciar, por exemplo, se a via de administração vai ser periférica ou central. São bolsas com dois compartimentos, ou bolsas binárias, ou três compartimentos, ou

bolsas ternárias, ou seja, têm um compartimento para a glicose, outro para os aminoácidos e poderão eventualmente ter um compartimento para os lípidos. Esta organização tem o objetivo de aumentar o prazo de validade/estabilidade da nutrição parentérica. Comparando as bolsas binárias e ternárias, apesar de ser mais fácil a detecção de partículas nas bolsas binárias, uma vez que não têm o aspeto leitoso conferido pela presença de lípidos, constata-se que são as bolsas ternárias as mais utilizadas por serem mais completas e apresentarem menor custo.[65] Em ambas as bolsas, há uma posterior adição, pouco tempo antes de administração ao doente, com oligoelementos e vitaminas hidrossolúveis, uma vez que proporcionam uma estabilidade de 24 h à preparação.

Já as *Bolsas Personalizadas* são mais utilizadas para a unidade de neonatologia, isto porque as proporções dos vários constituintes são muito variadas e para o mesmo doente podem haver mudanças mínimas mas importantes de um dia para o outro. Assim era dispendioso e demorado a produção a nível industrial suportar a produção individualizada destas bolsas, não havendo vantagens nem para a indústria nem para o doente.

Como todas as preparações, as Nutrições parentéricas também poderão originar complicações, umas sem causa conhecida aparente e outras quando há erros tanto na produção, administração ou até mesmo na própria prescrição. Entre as complicações mais graves estão: embolia pulmonar [61, 65]; alterações metabólicas ou eletrolíticas, flebite [66]; infeção [61, 63]; finalmente, complicações relacionadas com ausência/excesso de algum componente, ou perda de estabilidade durante o período de conservação.

6 COMPARAÇÃO DOS ENSAIOS REQUERIDOS SEGUNDO A FP, USP E PH. EUR.

Comparação dos ensaios e requisitos presentes nas Farmacopeia Portuguesa, Americana e Europeia, segundo as formas farmacêuticas. [3, 29, 31, 36-38]

6.1.1 Formas Farmacêuticas de uso oftálmico

Tabela 21 - Teste para **Colírios e Soluções de lavagem.**

Testes	FP	USP	Ph. Eur.
Esterilidade	✓	✓	✓
Tamanho de partícula	✓	✓	✓
Isotonicidade	✓	✓	✓
Volume extraível	✓	X	✓
pH	✓	✓	✓

Tabela 22 - Testes para **Pós.**

Testes	FP	USP	Ph. Eur.
Esterilidade	✓	✓	✓
Isotonicidade	✓	✓	✓
pH (após reconstituição)	✓	✓	✓

FP, USP, Ph. Eur. - Após reconstituição, seguem os ensaios para os Colírios.

Tabela 23 - Testes para **Formulações semissólidas.**

Testes	FP	USP	Ph. Eur.
Esterilidade	✓	✓	✓
Tamanho de partícula	✓	X	✓
Isotonicidade	✓	✓	✓

Tabela 24 - Testes para **Implantes oftálmicos.**

Testes	FP	USP	Ph. Eur.
Esterilidade	✓	✓	✓
Isotonicidade	✓	✓	✓

6.1.2 Formas farmacêuticas de aplicação nasal

Tabela 25 - Testes para **Gotas e Spray.**

Testes	FP	USP	Ph. Eur.
Esterilidade	✓	✓	✓
Isotonicidade	X	✓	✓
Tamanho de partícula	✓	✓	✓
pH	✓	✓	✓

Tabela 26 - Testes para **Pós.**

Testes	FP	USP	Ph. Eur.
Esterilidade	✓	✓	✓
Isotonicidade	X	✓	✓
Tamanho de partícula	✓	✓	✓

Tabela 27 - Testes para **Formulações Semissólidas**

Testes	FP	USP	Ph. Eur.
Esterilidade	✓	✓	✓
Isotonicidade	X	✓	✓

Tabela 28 - Testes para **Soluções de lavagem.**

Testes	FP	USP	Ph. Eur.
Esterilidade	✓	✓	✓
Isotonicidade	✓	✓	✓
Volume extraível	✓	✓	✓
pH	✓	✓	✓

6.1.3 Formas farmacêuticas de aplicação auricular

Tabela 29 - Testes para **Gotas e Spray**.

Testes	FP	USP	Ph. Eur.
Esterilidade	✓	✓	✓
Isotonicidade	X	✓	✓
Tamanho de partícula	✓	✓	✓
pH	✓	✓	✓

Tabela 30 - Testes para **Pós**.

Testes	FP	USP	Ph. Eur.
Esterilidade	✓	✓	✓
Isotonicidade	X	✓	✓

Tabela 31 - Testes para **Formulações semissólidas**.

Testes	FP	USP	Ph. Eur.
Esterilidade	✓	X	✓
Isotonicidade	X	✓	✓

Tabela 32 - Testes para **Soluções de lavagem**.

Testes	FP	USP	Ph. Eur.
Esterilidade	✓	✓	✓
Isotonicidade	✓	✓	✓
Volume extraível	✓	X	✓
pH	✓	✓	✓

6.1.4 Formas farmacêuticas de uso parenteral

Tabela 33 - Testes para **Injeções**.

Teste	FP	USP	Ph. Eur.
Esterilidade	✓	✓	✓
Isotonicidade	✓	✓	✓
Tamanho de partículas	✓	✓	✓
Volume extraível	✓	✓	✓
Endotoxinas bacterianas	✓	✓	✓
Pirógenios	✓	✓	✓
pH	✓	✓	✓

Tabela 34 - Testes para **Pós para injeções**.

Teste	FP	USP	Ph. Eur.
Esterilidade	✓	✓	✓
Tamanho de partículas	✓	✓	✓
Endotoxinas bacterianas	✓	✓	✓
Pirógenios	✓	✓	✓

FP, USP, Ph. Eur. - Após reconstituição, seguem os ensaios para as Injeções.

Tabela 35 - Testes para **Infusões**.

Teste	FP	USP	Ph. Eur.
Esterilidade	✓	✓	✓
Isotonicidade	✓	✓	✓
Tamanho de partículas	✓	✓	✓
Volume extraível	✓	✓	✓
Endotoxinas bacterianas	✓	✓	✓
Pirógenios	✓	✓	✓
pH	✓	✓	✓

Tabela 36 - Testes para **Soluções de irrigação**.

Teste	FP	USP	Ph. Eur.
Esterilidade	✓	✓	✓
Isotonicidade	✓	X	✓
Pirógenios	✓	✓	✓
Endotoxinas bacterianas	✓	✓	✓
Volume extraível	✓	✓	✓
Tamanho de partículas	✓	X	X
pH	✓	✓	✓

7 CONCLUSÃO

O fabrico de medicamentos designados estéreis é altamente e rigorosamente regulamentado, sempre em constante avaliação e adaptação. Com a evolução das tecnologias tem sido cada vez mais fácil proporcionar as melhores condições para a realização dos vários passos no processo de fabrico, como é o caso dos Isoladores. Este equipamento permite um menor contacto da principal fonte de contaminação do produto e ambiente envolvente, o pessoal, e assim são menores as probabilidades de erros e contaminações que acrescem os custos e tempo, diminuindo a rentabilidade do produto. O pessoal interveniente no processo deve ser instruído para melhor compreender e facilmente seguir os procedimentos como aqueles relativos ao vestuário e higiene. Mas também é necessário a existência de instalações físicas que facilitem a manutenção e controlo do ambiente envolvente, tendo especial atenção às várias zonas da indústria designadas por Salas Limpas que, conforme as tarefas ali realizadas, devem cumprir requisitos específicos de qualidade de ar, procedimentos de instalação de equipamentos como, por exemplo, a sua esterilização. Nas áreas de maior risco de contaminação, ou de classe A, existem as CFL destinadas à manipulação de produtos com possível escolha de proteção do produto, operador, e ambiente ou os três fatores em simultâneo, através do controlo de várias condicionantes como o circuito de ar.

Apesar de se utilizarem muitos produtos já finalizados, é nos Serviços Farmacêuticos hospitalares que se obtém, em alguns casos, o produto final a ser administrado ao doente. Neste caso, a manipulação é feita em Salas Limpas de classe A, seguindo as regras de vestuário e higienização, dentro de CFL para proporcionar um ambiente asséptico e evitar contaminações. Normalmente são manipuladas preparações extemporâneas de nutrição parentéricas personalizadas ou preparações citotóxicas, destinadas à administração imediata, uma vez que não é rentável economicamente para a indústria produzir medicamentos com doses ajustadas individuais e com validade de horas. Também nestes casos se fazem ensaios de controlo de qualidade, principalmente, os testes de esterilidade, com inoculação de uma alíquota da preparação em placa de petri, para deteção de bactérias e outra de fungos.

Os principais ensaios de controlo de qualidade destas formas farmacêuticas encontram-se descritos nas Farmacopeias, estando também neste documentos os ensaios a realizar para cada uma delas. Para cada requisito, esterilidade, pesquisa de

pirogénios, entre outros, podem existir mais do que um método, o que é uma vantagem uma vez que se pode escolher segundo os equipamentos existentes, por exemplo, ou rentabilidade de tempo. Como foi possível analisar, tanto os procedimentos como critérios de aceitação de resultados são idênticos, diferenciando no teste da Determinação da Temperatura dos Coelhos, na Pesquisa de Pirogénios, onde os critérios variavam segundo as Farmacopeias de vários países. Com o evoluir das tecnologias, desenvolveram-se novos métodos mais sensíveis e rápidos que tornam o processo de controlo de qualidade mais rentável a nível industrial.

Estão inseridos no grupo de formas farmacêuticas estéreis os produtos de uso oftálmico, de aplicação nasal, de aplicação auricular e de uso parenteral. Alguns deles como os de aplicação nasal e auricular requerem esterilidade não por estarem em contato direto com vasos sanguíneos mas pelo facto da sua zona de aplicação não se encontrar íntegra, e portanto não se pretende prejudicar o estado de saúde do doente. Os produtos de uso oftálmico requerem isenção total de partículas, apirogénicos e esterilidade. E o mesmo se passa com as preparações de uso parenteral.

Todo o processo envolvente ao fabrico de medicamentos, sejam eles estéreis ou não, deve ser realizado segundo os procedimentos controlados para obtenção do melhor produto, avaliando frequentemente esses mesmos procedimentos e comprovando todo o processo e o produto final através dos ensaios de controlo de qualidade, pode-se garantir que se está num bom caminho para a libertação de um medicamento de qualidade, seguro e eficaz.

BIBLIOGRAFIA

1. RILEY, B.S. and LI, X., *Quality by design and process analytical technology for sterile products—Where are we now?* AAPS PharmSciTech, 2010. **12**(1): p. 114-118.
2. SHINTANI, H., *Validation of sterilization procedures and usage of biological indicators in the manufacture of healthcare products*. Biocontrol Science, 2011. **16**(3): p. 85-94.
3. *Farmacopeia Portuguesa VIII*. Lisboa: Infarmed - Ministério da Saúde, 2005.
4. JIMENEZ, L., *Microbial contamination control in the pharmaceutical industry*. Drugs and the Pharmaceutical Sciences. Vol. 142. 2004. p.77-102, 147-182.
5. NOGUEIRA PRISTA, L., CORREIA ALVES, A., and MORGADO, R., *Tecnologia farmacêutica III*. Fundação Calouste Gulbenkian. Vol. 7ª edição. 2008. p.1596-1628, 1662-1664, 1671, 1680, 1685, 1807, 1905-1917, 1977-1986.
6. BEAUDET, J.M., WEYERS, A., SOLAKYILDIRIM, K., et al., *Impact of autoclave sterilization on the activity and structure of formulated heparin*. J Pharm Sci., 2011. **100**(8): p. 3396-3404.
7. FRIEDMAN, R.L., *Aseptic processing contamination case studies and the pharmaceutical quality system*. PDA J Pharm Sci Technol, 2005. **59**(2): p. 118-126.
8. *European Communities Commission - Directorate-General for Industry, "Eudralex, The rules governing medicinal products in the European Union, Volume 4 - EU Guideline to Good Manufacturing Practice medicinal products for human and veterinary use, Annex 1 - Manufacture of sterile medicinal products"*, 2008.
9. *ISO 14644-1:1999 - Cleanrooms and associated controlled environments — Part 1: Classification of air cleanliness*.
10. NAGEEN, L.A., GUPTA, N.V., NATASHA, N.S., et al., *Comparison of quality requirements for sterile product manufacture as per international regulatory agencies*. International Journal of Pharmaceutical and Phytopharmacological Research, 2012. **1**(4): p. 208-214.
11. GALVÃO, H., *Classificação, selecção e instalação de câmaras de fluxo laminar*. Direcção Geral das Instalações e Equipamentos da Saúde - Ministério da Saúde, 2005: p. 1-19.
12. Sanyo: *"Integrated cell processing workstation (CPWS) - Aseptic environment"*. Visualizado em 14.12.2012. Disponível em: <http://us.sanyo.com/Biomedical-Cell-Processing/Integrated-Cell-Processing-Workstation-CPWS->.
13. PERFETTO, S.P., AMBROZAK, D.R., KOUP, R.A., et al., *Measuring containment of viable infectious cell sorting in high-velocity cell sorters*. Cytometry Part A, 2003. **52A**(2): p. 122-130.
14. OMS, *Manual de segurança biológica em laboratório*. 3ª ed. 2004, Genebra.
15. *ISO 14644-2:2000 - Cleanrooms and associated controlled environments — Part 2: Specifications for testing and monitoring to prove continued compliance with ISO 14644-1*.
16. *Decreto-Lei n.º 84/97 de 16 de Abril, "D. R. Série A" nº89 (16-4-1997) 1702*.
17. LACHMAN, L., LIEBERMAN, H., and KANIG, J., *Teoria e prática na indústria farmacêutica*. Fundação Calouste Gulbenkian. 2001. p.1047-1049, 1077, 1081-1143.
18. BOUNOURE, F., FIQUET, H., and ARNAUD, P., *Comparison of hydrogen peroxide and peracetic acid as isolator sterilization agents in a hospital pharmacy*. Am J Health Syst Pharm., 2006. **63**(5): p. 451-455.
19. Bosch: *"A pioneer in isolation technology"*. Visualizado em 14.12.2012. Disponível em: <http://blog.boschpackaging.com/a-pioneer-in-isolation->

- [technology?lang=en.](#)
20. LIU, W., LAM, P., FAULHABER, S., et al., *Biopharmaceutical manufacturing using blow-fill-seal technology*. BioPharm International, 2011. **24**(7): p. 22-29.
 21. ISO 14644-5:2004 - *Cleanrooms and associated controlled environments — Part 5: Operations*.
 22. *Manual CE das Boas Práticas de Fabrico - Revisão do Anexo 1 - Fabrico de Medicamentos Estéreis, Comissão Europeia, 2003.*
 23. DOBROVOLSKAIA, M.A., NEUN, B.W., CLOGSTON, J.D., et al., *Ambiguities in applying traditional limulus amebocyte lysate tests to quantify endotoxin in nanoparticle formulations*. Nanomedicine, 2010. **5**(4): p. 555-562.
 24. ANDREW E. GELMAN, JIDONG ZHANG, YONGWON CHOI, et al., *Toll-Like receptor ligands directly promote activated CD4+ T cell survival* The Journal of Immunology, 2004. **172**(10): p. 6065-6073.
 25. NAKAGAWA, Y., MAEDA, H., and MURAI, T., *Evaluation of the in vitro pyrogen test system based on proinflammatory cytokine release from human monocytes: comparison with a human whole blood culture test system and with the rabbit pyrogen test*. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 2002. **9**(3): p. 588–597.
 26. MOENIRALAM, H.S., BEMELMAN, W.A., ROMIJN, J.A., et al., *Origin of endotoxemia influences the metabolic response to endotoxin in dogs*. Journal of Surgical Research, 1997. **73**(JR975190): p. 47-53.
 27. *International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Bacterial Endotoxins test general chapter - Q4B Annex 14, ICH, 2010.*
 28. *British Pharmacopoeia, Published on behalf of "Medicines and Health Care Products Regulatory Agency; the "Department of Health, Social Services and Public Safety", Great Britain, 6th ed., 2010.*
 29. *European Pharmacopoeia. Prepared under Council of Europe and European Pharmacopoeial Commission, 5th ed., 2005.*
 30. *Japanese Pharmacopoeia. The Ministry of Health, Labour and Welfare Ministerial Notification No. 285, 14th ed., 2001.*
 31. *United States Pharmacopoeia and National Formulary (USP 30- NF 25), 2007.*
 32. PINTO, A.M., *Fisiopatologia - Fundamentos e aplicações*. 2009: Lidel. p.220-221, 234-236.
 33. TAVARES, E., MIÑANO, F.J., MALDONADO, R., et al., *Endotoxin fever in granulocytopenic rats: evidence that brain cyclooxygenase-2 is more important than circulating prostaglandin E2*. Journal of Leukocyte Biology, 2006. **80**(6): p. 1375-1387.
 34. JACK T., BRENT B. E., BOEHNE M., et al., *Analysis of particulate contaminations of infusion solutions in a pediatric intensive care unit*. Intensive Care Medicine, 2010. **36**(4): p. 707-711.
 35. J. W. L. PUNTIS, K. M. WILKINS, P. A. BALL, et al., *Hazards of parenteral treatment: do particles count?* Archives of Disease in Childhood, 1992. **67**(12): p. 1475-1477.
 36. BALAMURALIDHAR V., S.N., PILLAI ANOOP, VALLURU RAVI, KUMAR T. M. P., *A comparative study of quality control tests for in-process and finished pharmaceutical irrigation products according to IP, BP, USP, JP and European Pharmacopoeia*. Pharma Times, 2012. **44**(5): p. 19-24.
 37. N. SRUJANA, VENKATA NITIN CHILUKURI, VALLURU RAVI, et al., *Comparative study of in-process and finished product quality control test's of IP, BP, USP, EP, JP for parenterals*. American Journal of Pharmtech Research, 2012. **2**(3): p. 305-325.
 38. N. SRUJANA, M., P., BALACHANDRA, et al., *A comparative study of in-process and finished products quality control tests for ophthalmic products in different pharmacopoeias*. International Journal of Pharmacy Teaching &

- Practices, 2012. **3**(2): p. 216-265.
39. Protein Simple: "MFI™ Technology". Visualizado em 14/01/2013. Disponível em: http://www.proteinsimple.com/mfi_technology.html.
 40. Laboratory News: "Simple Liquid Viewer". Visualizado em 05.12.2012. Disponível em: <http://www.labnews.co.uk/products/category/simple-liquid-viewer/>.
 41. GRATTONI, A., CANAVESE, G., MONTEVECCHI, F.M., et al., *Fast membrane osmometer as alternative to freezing point and vapor pressure osmometry*. Anal Chem., 2008. **80**(7): p. 2617-2622.
 42. HEUBUSCH, P., JUNG, C.Y., and GREEN, F.A., *The osmotic response of human erythrocytes and the membrane cytoskeleton*. J Cell Physiol., 1985. **122**(2): p. 266-272.
 43. YILDIZ, E., FAN, V., BANDAY, H., et al., *Evaluation of a new tear osmometer for repeatability and accuracy, using 0.5-microL (500-Nanoliter) samples*. Cornea, 2009. **28**(6): p. 677-680.
 44. BRANGE, J. and LANGKJAER, L., *Chemical stability of insulin. 3. Influence of excipients, formulation, and pH*. Acta Pharm Nord. , 1992. **4**(3): p. 149-158.
 45. ROBINSON, J., FERNANDO, R., SUN WAI, W.Y., et al., *Chemical stability of bupivacaine, lidocaine and epinephrine in pH-adjusted solutions*. Anaesthesia., 2000. **55**(9): p. 853-858.
 46. REIS, C.P., RAMALHETE, N., BARBOSA, A., et al., *Microbiological control of parenteral dosage forms*. Biomedical and Biopharmaceutical Research, 2012. **9**(1): p. 95-101.
 47. HOGAN, M.J., *The preparation and sterilization of ophtalmic solutions*. M.D. San Francisco, 1949. **71**(6): p. 3.
 48. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE, I.P., *Vademecum - DCI em português*.
 49. DIVYA DEWANGAN, P.K.S., *Nanosized emulsions as a drug carrier for ocular drug delivery: a review*. Journal of Innovative trends in Pharmaceutical Sciences, 2001. **2**(2): p. 59-75.
 50. ABURAHMA, M.H. and MAHMOUD, A.A., *Biodegradable ocular inserts for sustained delivery of brimonidine tartarate: preparation and in vitro/in vivo evaluation*. AAPS PharmSciTech, 2011. **12**(4): p. 1335-1347.
 51. CLOUZEAU, C., GODEFROY, D., RIANCHO, L., et al., *Hyperosmolarity potentiates toxic effects of benzalkonium chloride on conjunctival epithelial cells in vitro*. Molecular Vision, 2012. **18**: p. 851-863.
 52. RUSSEL GONNERING, H.F.E., DIANE L. VAN HORN, WILLIAM DURANT, *The pH tolerance of rabbit and human corneal endothelium*. Investigative Ophthalmology and Visual Science 1978. **18**(4): p. 373-390.
 53. NOGUEIRA PRISTA, L., CORREIA ALVES, A., and MORGADO, R., *Tecnologia farmacêutica I*. Fundação Calouste Gulbenkian. Vol. 7ªEdição. 2008. p.150-152.
 54. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE, I.P., *Prontuário terapêutico - 10*. Infarmed - Autoridade Nacional do Medicamento e Produtos de Saúde, I.P., 2011.
 55. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE, I.P., *Formulário hospitalar nacional de medicamentos, 9ªEdição*.
 56. WALKER, S.E., CHARBONNEAU, L.F., LAW, S., et al., *Stability of azacitidine in sterile water for injection*. Can J Hosp Pharm., 2012. **65**(5): p. 352-359.
 57. BRIME, B., FRUTOS, P., BRINGAS, P., et al., *Comparative pharmacokinetics and safety of a novel lyophilized amphotericin B lecithin-based oil–water microemulsion and amphotericin B deoxycholate in animal models*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2003. **52**(1): p. 103–109.
 58. EMA - European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, "Note for Guidance on Quality of Water for Pharmaceutical Use", 2002.

59. PENNE, E.L., VISSER, L., DORPEL, M.A.V.D., et al., *Microbiological quality and quality control of purified water and ultrapure dialysis fluids for online hemodiafiltration in routine clinical practice*. *Kidney International*, 2009. **76**(6): p. 665-672.
60. Conselho Executivo do Plano de Reestruturação da Farmácia Hospitalar, *"Manual da Farmácia Hospitalar"*, Ministério da Saúde, Portugal, 2005.
61. INARAJA, M.T., CASTRO, I., and MARTÍNEZ, M.J., *Formas farmacéuticas estériles: mezclas intravenosas, citostáticos, nutrición parenteral*. Farmacia Hospitalaria - SEFH, 2002.
62. INFARMED - AUTORIDADE NACIONAL DO MEDICAMENTO E PRODUTOS DE SAÚDE, I.P., RCM - Paclitaxel Teva 6 mg/ml concentrado para solução para perfusão. 2010.
63. FERRARESI, E.M., *Complicaciones infecciosas en la nutrición parenteral*. Instituto Tecnico para la Acreditacion de Establecimientos de Salud, Argentina.
64. SALIH, M.R.M., BAHARI, M., and ABD, A.Y., *Selected pharmacokinetic issues of the use of antiepileptic drugs and parenteral nutrition in critically ill patients*. *Nutrition Journal*, 2010. **9**(1): p. 71.
65. MARTÍNEZ-TUTOR, M.J., *Estabilidad y preparacion de mezclas totales para nutrición parenteral*. Farmacia Hospitalaria - SEFH, 1995. **19**(4): p. 229-232.
66. KUWAHARA, T., ASANAMI, S., TAMURA, T., et al., *Effects of pH and osmolality on phlebotic of infusion for peripheral parenteral nutrition*. *The Journal of Toxicology Sciences*, 1998. **23**(1): p. 77-85.
67. Connecticut clean room corporation: "Fluid resistant shoe covers". Visualizado em 27.11.2012. Disponível em: <http://www.ctcleanroom.com/product.html?seourl=fluid-resistant-shoe-covers.html>.
68. Moural pás: "Luvas nitrilo sem pó". Visualizado em: 27.11.2012. Disponível em: <http://www.mouraplas.com/loja/proteccao-e-seguranca/luvas-1/33103-luvas-nitrilo-azuis-sem-po-ambidextros.html>.
69. Oasipor: Dossier do produto "Bata de proteção impermeável". Visualizado em 10.12.2012. Disponível em: <http://www.oasipor.pt/interface/imgs/pdfs/603141.pdf>.
70. Cleanroom Shop: "Mop cap blue". Visualizado em: 27.11.2012. Disponível em: <http://www.cleanroomshop.com/category/91-cleanroom-clothing-iso-class-8.aspx>.
71. VWR International: "Cleanroom hoods, BioClean-D™, Clean-Tough™". Visualizado em 11.12.2012. Disponível em: https://pt.vwr.com/app/catalog/Product?article_number=113-0799.
72. VWR: "Semimáscaras respiratórias com filtração de partículas, série K100". Visualizado em 27.11.2012. Disponível em: https://pt.vwr.com/app/catalog/Product?article_number=MMMAK102.
73. Bastos Viegas: Máscara bico de pato. Visualizado em 27.11.2012. Disponível em: <http://www.bastosviegas.com/material-proteccao/mascara-bico-de-pato>.
74. Bastos Viegas: "Máscara cirúrgica". Visualizado em 27.11.2012. Disponível em: <http://www.bastosviegas.com/material-proteccao/mascaras-cirurgicas-1>.
75. VWR: "Face shields". Visualizado em 27.11.2012. Disponível em: https://pt.vwr.com/app/catalog/Product?article_number=111-0221.
76. VWR: "Óculos para salas brancas, Blast Clean ". Visualizado em 27.11.2012. Disponível em: https://pt.vwr.com/app/catalog/Product?article_number=111-0091.
77. VWR: "Cleanroom overalls, BioClean-D™ Clean-Tough™, disposable". Visualizado em 11.12.2012. Disponível em: https://pt.vwr.com/app/catalog/Product?article_number=113-2262.
78. PAIVA, M., *Serviços Farmacêuticos do Hospital S. João EPE, "Implementação de uma unidade centralizada de preparação de citotóxicos num hospital*

- central universitário" 2008.
79. B. Braun: "Filtro retentor de aerossóis". Visualizado em 23.11.2012. Disponível em: http://www.bbraun.com.br/cps/rde/xchg/cw-bbraun-pt-br/hs.xsl/8897_8907.html.
 80. German Society of Oncology Pharmacy, "QuapoS 4 - Quality Standard for the Oncology Pharmacy Service with Commentary", European Society of Oncology Pharmacy, 2009.
 81. Agência Portuguesa do Ambiente, Plano estratégico dos resíduos hospitalares 2010-2016", Ministério da Saúde, Portugal, 2010.

ANEXOS

Anexo A - Propriedades do vestuário nas Salas Limpas.



Figura 16 - Proteção de calçado.[67]

Protetores de calçado [67]

- Cobrir todo o pé;
- Impermeáveis;
- Repelentes de líquido;
- Colocados antes de entrar na câmara e no final colocados em contentor próprio para incineração.



Figura 17 - Luva de nitrilo.[68]

Luvas [8, 68]

- Protege a parte do corpo que mais próxima está da área crítica;
- Materiais: Látex, vinil, poliuretano ou nitrilo;
- Pode-se usar um segundo par de luvas para melhor conforto e proteção;
- Sem pó.

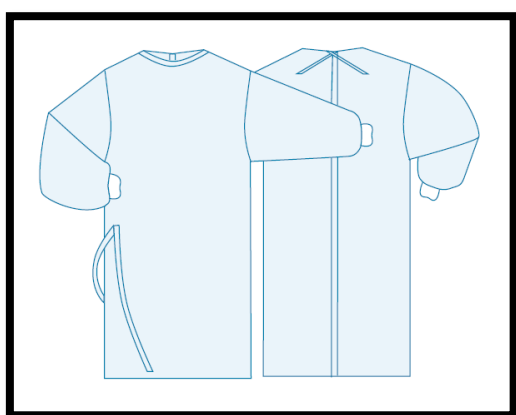


Figura 18 - Ilustração do modelo da bata. [69]

Bata [69]

- Estéril;
- Em tecido não tecido, polipropileno com polietileno laminado que confere impermeabilidade;
- Costuras a “corte e coze”, punhos em malha e atilhos na nuca e cintura.



Figura 19 - Touca.[70]



Figura 20 - Touca /capuz de proteção nas áreas de maior risco.[71]

Touca [70, 71]

- Protege contra a contaminação por queda de algum cabelo;
- Existem vários modelos, diferenciando consoante a área de trabalho do operador. Nas zonas de menor risco utilizam-se as toucas idênticas às da Figura 19, e nas de maior risco a proteção prolonga-se pelo pescoço, como mostrado na Figura 20;
- A touca/capuz é estéril.



Figura 21 - Máscara FFP2.[72]



Figura 22 - Máscara FFP3, com válvula para conferir maior conforto ao operador.[72]

Máscara [72, 73]

- Máscara de filtro de partículas segundo a norma EN149;
- Compostas por diferentes não-tecidos em camadas;
- A camada de filtração é composta por diferentes elementos de forma a conferir a eficiência de filtração definida para as diferentes classificações de máscaras: FFP1, FFP2 e FFP3;
- Quanto maior o número FFP, ou Fator de Proteção Fixo, menor o número de partículas que deixa passar. Por isso, recomenda-se o uso de um maior FFP durante a realização de procedimentos de maior risco.



Figura 23 - Máscara com viseira integrada.[74]



Figura 24 -Viseira.[75]



Figura 25 - Proteção ocular.[76]



Figura 26 - "Fato-macaco" estéril.[77]

Proteção facial [74, 75]

- Opção de máscara com viseira, como demonstra a Figura 23. Tem capacidade de impedir a passagem de líquidos, mas permite a passagem de ar e a respiração sem perder o poder de filtração, conferindo também proteção ocular;
- Outra opção está representada na Figura 24, uma viseira anti-riscos e anti-embaciamento, que confere proteção facial total.

Proteção ocular [76]

- Podem ser usados sobre óculos graduados e com semi-máscaras respiratórias;
- Possibilidade de esterilização por calor húmido em autoclave.

Roupa limpa esterilizada na indústria –

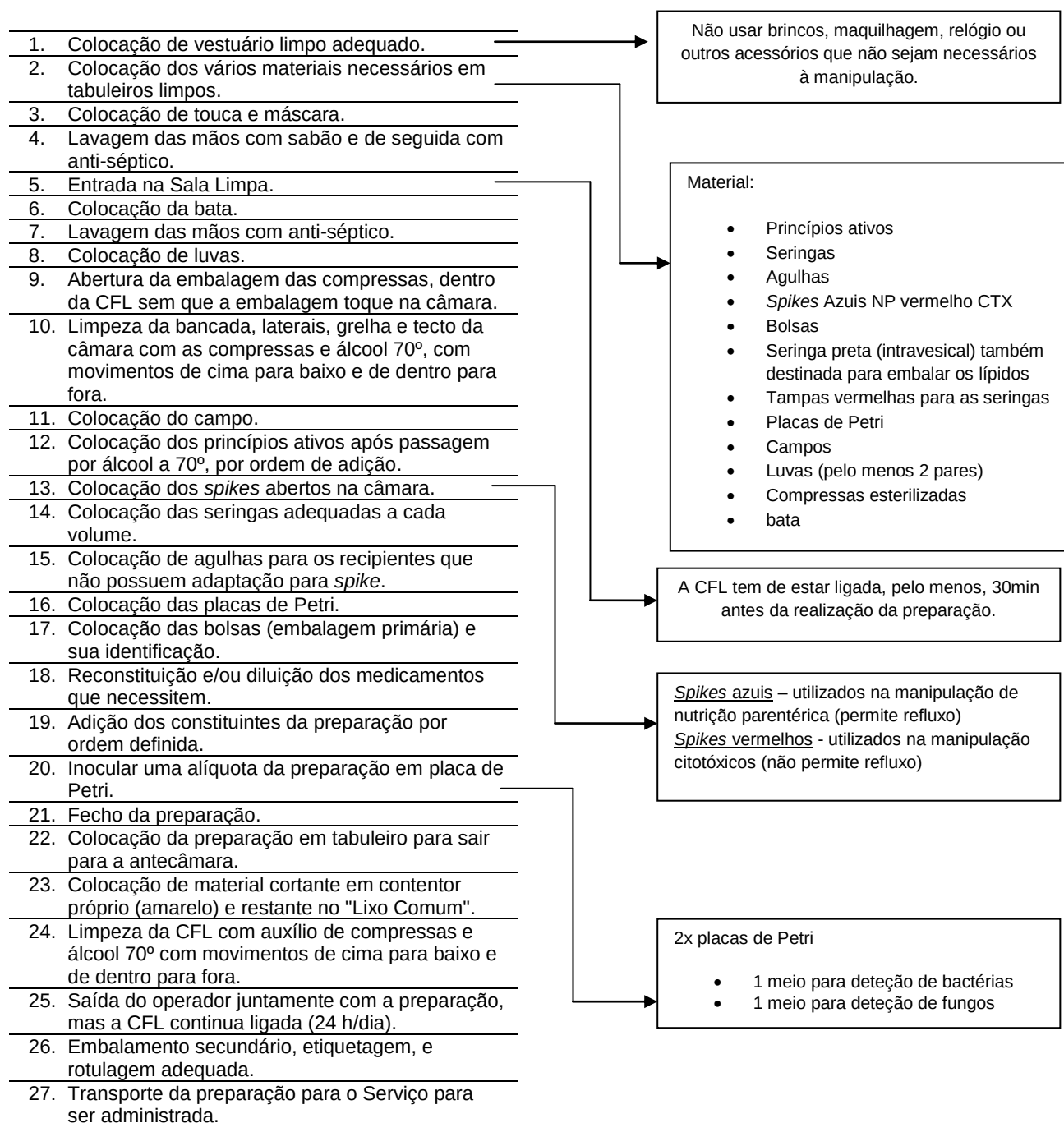
Fato-macaco[77]

- Estéril;
- Tecido "Clean-Tough";
- Possibilidade de ter colarinho ou capuz incorporado.

Anexo B - Propriedades da Água para Injetáveis, segundo a Farmacopeia Portuguesa.

Composto	A granel	Monodoses
Carbono Orgânico Total	Máximo 0,5 mg/L	---
Condutividade	1,3 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, a 25°C	Máximo: 25 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, para recipientes de volume nominal igual ou inferior a 10 mL; 5 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, para recipientes de volume nominal superior a 10 mL.
Aspeto	Líquido límpido e incolor	
Nitratos	Máximo 0,2 ppm	
Alumínio	Máximo 10 ppb	
Metais pesados	Máximo 0,1 ppm	
Endotoxinas	Máximo 0,25 U.I./mL	
pH	Próximo da neutralidade ≈ 7	
Cloretos	---	Máximo 0,5 ppm,
Amónio	---	Máximo 0,2 ppm.
Resíduo por evaporação:	---	Máximo 4 mg (0,004 por cento), para recipientes de volume nominal igual ou inferior a 10 mL Máximo 3 mg (0,003 por cento), para recipientes de volume nominal superior a 10 mL.
Esterilidade	Isenta de microrganismos. Satisfaz teste de esterilidade.	

Anexo C - Preparação asséptica nos Serviços Farmacêuticos Hospitalares.



Anexo D - Condições necessárias para uma boa manipulação de citotóxicos.

- Tem de haver dupla validação ou mais, em caso de necessidade. A recolha dos medicamentos do armário tem de ser cuidadosa para evitar trocas de princípios ativos. Por exemplo, a Figura 27 apresenta dois exemplos de princípios ativos distintos e com uma embalagem muito idêntica.

Figura 27 - Comparação de rótulos de medicamentos citotóxicos.
[78]



- Preparação realizada em CFL SB de Classe II tipo B em ambiente controlado, que deverá estar ligada 24h/dia, como prevenção de aparecimento de aerossóis em circulação seguida de deposição na bancada da câmara quando se liga/desliga.
- Presença de um pano estéril absorvente com cobertura de plástico, como campo onde se realiza a manipulação, substituído em caso de derrame e sempre no final de cada sessão de trabalho.
- Adequar a técnica de modo a manter a esterilidade do medicamento e prevenir a formação de contaminantes.
- O operador/pessoal interveniente deve ter conhecimento e experiência das técnicas de manipulação, condições e cálculos de doses.
- Todos os medicamentos a ser manipulados, para uma dada preparação devem estar por cima do pano absorvente na CFL, juntamente com um contentor especial para recolha de seringas, *vials*, ampolas e material que esteja em contacto com os medicamentos.
- As seringas e equipamento de infusão/sistemas devem ter conexões *Luer-Lock* seguras.
- As seringas devem ter capacidade para o volume pretendido, para que o êmbolo não se separe da seringa ou coloque o operador, ambiente e preparação em risco.
- As ampolas devem ser abertas com auxílio de uma compressa de gaze esterilizada e assim evitar dispersões de partículas de medicamento.
- Deve evitar-se a presença de pressão positiva ou negativa nos *vials*, pois pode provocar expulsão de medicamento ou até mesmo da seringa. Pode-se contornar a

pressão positiva adicionando um volume de ar, correspondente ao do *vial*, à seringa compensando essa pressão.

- Utilização de *spike* vermelho estéril com filtro de 0,22 μm , que evita a formação de aerossóis e refluxo.



Figura 28 - Filtro retentor de aerossóis.[79]

- Uma vez finalizada a preparação, identifica-se com o seu rótulo, protegida da luz com papel de alumínio quando necessitar; coloca-se etiqueta de frio, quando necessário e, finalmente, assinalar que se trata de uma preparação citotóxica.
- Deve-se assegurar novamente que a embalagem primária está bem fechada, sem que haja probabilidade de derramar sendo colocada dentro de um saco próprio; a embalagem secundária, tem um fecho que impede a passagem de possível extravasamento da preparação para o exterior, e tem etiqueta que informe a presença de um medicamento citotóxico. [80]
- Após a finalização do trabalho, todo o vestuário utilizado deverá ser colocado num saco plástico de cor vermelha de acordo com o Despacho n.º 242/96, de 13 de Agosto, com a indicação de “material contaminado”, destinado à incineração à temperatura de 1000°C.[81]