

Rede Pan-Americana da Harmonização de Regulamentação Farmacêutica

Grupo de Trabalho em Boas Práticas de Laboratório

Boas práticas da OMS para laboratórios de microbiologia farmacêutica

Traduzido de: World Health Organization. Annex 2: WHO good practices for pharmaceutical microbiology laboratories. En: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: forty-fifth report. Geneva: World Health Organization; 2011. (WHO technical report series; 961).



Rede PARF Documento Técnico Nº 11

Rede Pan-Americana de Harmonização de Regulamentação Farmacêutica

Grupo de Trabalho em Boas Práticas de Laboratório

Boas práticas da OMS para laboratórios de microbiologia farmacêutica

Traduzido de: World Health Organization. Annex 2: WHO good practices for pharmaceutical microbiology laboratories. En: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: forty-fifth report. Geneva: World Health Organization; 2011. (WHO technical report series; 961).

Washington, DC
Janeiro 2013



Edição original em inglês: Annex 2: WHO good practices for pharmaceutical microbiology laboratories. En: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: forty-fifth report. Geneva: World Health Organization; 2011. (WHO technical report series; 961). © World Health Organization, 2011

Organização Mundial da Saúde

Boas práticas da OMS para laboratórios de microbiologia farmacêutica. Washington, DC: OPS, 2012.
(Rede PARF Documento Técnico N° 11).

© Organização Mundial da Saúde, 2012. Todos os direitos reservados.

A edição em português foi realizada pela Organização Pan-Americana da Saúde, Área de Sistemas de Salud basados en Atención Primaria de Salud.

A Organização Pan-Americana da Saúde aceita pedidos de permissão para reprodução de suas publicações, parcial ou integralmente. Os pedidos e consultas devem ser enviados para Editorial Services, Area of Knowledge Management and Communications (KMC), Panamerican Health Organization, Washington, D.C., Estados Unidos (correio eletrônico: pubrights@paho.org).

As publicações da Organização Pan-Americana da Saúde contam com a proteção de direitos autorais segundo os dispositivos do Protocolo 2 da Convenção Universal de Direitos Autorais.

As designações empregadas e a apresentação do material na presente publicação não implicam a expressão de uma opinião por parte da Organização Pan-Americana da Saúde no que se refere à situação de um país, território, cidade ou área ou de suas autoridades ou no que se refere à delimitação de seus limites ou fronteiras.

A menção de companhias específicas ou dos produtos de determinados fabricantes não significa que sejam apoiados ou recomendados pela Organização Pan-Americana da Saúde em detrimento de outros de natureza semelhante que não tenham sido mencionados. Salvo erros e omissões, o nome dos produtos patenteados é distinguido pela inicial maiúscula.

Todas as precauções razoáveis foram tomadas pela Organização Pan-Americana da Saúde para confirmar as informações contidas na presente publicação. No entanto, o material publicado é distribuído sem garantias de qualquer tipo, sejam elas explícitas ou implícitas. A responsabilidade pela interpretação e uso do material cabe ao leitor. Em nenhuma hipótese a Organização Pan-Americana da Saúde deverá ser responsabilizada por danos resultantes do uso do referido material.

Sumário

Agradecimentos.....	v
Antecedentes	vi
Histórico.....	vii
Introdução e escopo do documento	viii
Glossário	ix
Boas práticas da OMS para laboratórios de microbiologia farmacêutica	1
1. Pessoal.....	1
2. Ambiente	1
3. Validação dos métodos	4
4. Equipamento.....	5
5. Reagentes e meios de cultura.....	7
6. Materiais de referência e culturas de referência	10
7. Amostragem	11
8. Manuseio e identificação das amostras.....	11
9. Descarte de resíduos contaminados	12
10. Garantia da qualidade dos resultados e controle da qualidade do desempenho.....	12
11. Procedimentos do teste.....	12
12. Relatórios de ensaio.....	12
Referências	13
Apêndice 1: Exemplos de áreas (ambientes) em que as atividades operacionais podem ser realizadas	15
Apêndice 2: Exemplos de manutenção dos equipamentos.....	17
Apêndice 3: Exemplo de intervalos de calibração para diferentes equipamentos	19
Apêndice 4: Exemplos de qualificação dos equipamentos e monitoramento	21
Apêndice 5: Uso geral das culturas de referência.....	23

Agradecimentos

A versão em Português do documento *WHO Technical Report Series, No. 961*, 2011, Anexo 2 foi realizada pelo grupo do Brasil ANVISA, INCQS, e FUNED:

- Maria do Ceu Borralho e Albuquerque - Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)
- Reginelena Ferreira da Silva - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS)
- Amália Soares Santana - Fundação Ezequiel Dias (FUNED)
- Roberta de Matos Caetano - Fundação Ezequiel Dias (FUNED)

Integrantes do Grupo de Trabalho de Boas Práticas de Laboratório (GT/BPL):

Membros titulares

- María Gloria Olate, LNC - ISP/Chile, Coordenadora
- Ofelia Villalba, CNCC - INS/Peru
- Nilka M. Guerrero, IEA/Panamá
- Lucette Cargill, CRDTL/Jamaica
- Sigrid Mathison, MSP/Uruguai
- Damian Cairatti, USP/United States Pharmacopeia
- Thomas Schultz, FIFARMA

Membros alternos

- Olga Gruc, INAME-ANMAT/Argentina
- Ana Lara Sterling, CECMED/Cuba

Observadores

- Rosalba Alzate, Univ. de Antioquia/Colômbia
- Ruben Szyszkowsky, Univ. de Buenos Aires/Argentina
- Carlos Saldarriaga Alzate, Univ. de Antioquia/Colômbia
- Milagros Real Pérez, Instituto Nacional de Salud/Peru
- Catalina Massa, Univ. de Córdoba/Argentina

Secretariado

- José M. Parisi OPS-OMS/Washington, DC

Antecedentes

O Grupo de Trabalho de Boas Práticas de Laboratório (GT/BPL) criado em junho de ano 2005 por recomendação da IV Conferência Pan-Americana para a Harmonização da Regulamentação Farmacêutica (Rede PARF), tem trabalhado desde então para o fortalecimento do desempenho dos laboratórios de controle, a fim de assegurar que os medicamentos cumpram as normas internacionais de qualidade e sejam seguros e eficazes. O cumprimento das recomendações providas pela OMS proporciona a harmonização das boas práticas, a cooperação entre laboratórios e o reconhecimento mútuo de resultado. Além disso, permite que os laboratórios alcancem a pré-qualificação OMS, pela qual passam a ser laboratórios de referência para as Agências das Nações Unidas que requeiram seus serviços.

Histórico

O Comitê de Especialistas da OMS sobre Especificações para Preparações Farmacêuticas adotou em 2009 uma versão revisada das *Good practices for pharmaceutical quality control laboratories* (1).

Durante as inspeções de pré-qualificação, os inspetores haviam notado que alguns dos textos precisavam de um guia adicional, especialmente com foco em microbiologia.

Em face ao disposto, o Comitê de Especialistas recomendou que a Secretaria da OMS elaborasse um novo texto sobre boas práticas farmacêuticas para os laboratórios de microbiologia.

O texto a seguir se propõe a atender as especificações deste tipo de laboratório.

Introdução e escopo do documento

Os laboratórios de microbiologia farmacêutica podem estar envolvidos em:

- teste de esterilidade;
- detecção, isolamento, enumeração e identificação de micro-organismos (bactérias, leveduras e bolores), testes de endotoxinas bacterianas em diferentes materiais (por exemplo, matérias primas, água), produtos, superfícies, vestuário e ambiente, e
- ensaio utilizando micro-organismos como parte do sistema teste.

Essas diretrizes dizem respeito a todos os laboratórios de microbiologia envolvidos nas atividades mencionadas anteriormente, sejam elas independentes, um departamento ou unidade de uma instalação de fabricação de produtos farmacêuticos.

Essas diretrizes são baseadas e complementam os requisitos descritos nos documentos *Good practices for pharmaceutical quality control laboratories* (1); *General guidelines for the establishment, maintenance and distribution of chemical reference substances. Revision* (2); *The International Pharmacopoeia, Fourth Edition* (3); *First Supplement to The International Pharmacopoeia, Fourth Edition* (4); e *ISO/IEC 17025* (5).

Glossário

calibração

Conjunto de operações que estabelece, sob condições específicas, a relação entre os valores indicados por um instrumento ou sistema de medição (especialmente de pesagem), registro e controle ou os valores representados pela medida de um material, com os correspondentes valores conhecidos de um padrão de referência. Devem ser estabelecidos os limites de aceitação para os resultados da medição.

cepas de referência

Micro-organismos definidos pelo menos para o gênero e espécie, catalogadas e descritas de acordo com suas características e, de preferência que ateste a origem (6). Normalmente são obtidos a partir de uma coleção reconhecida nacional ou internacionalmente.

culturas de referência

Termo coletivo para as cepas de referência e os estoques de referência.

cultura de trabalho

Subcultura primária a partir de uma cultura estoque de referência (6).

especificidade (seletividade)

A capacidade do método para detectar o(s) micro-organismo(s) específico(s) que pode(m) estar presente(s) na amostra de teste.

estoque de referência

Um conjunto de culturas distintas idênticas obtidas por uma subcultura única a partir da cepa de referência (6).

limite de detecção

O menor número de micro-organismos que podem ser detectados, mas em números que não podem ser estimados com exatidão.

limite de quantificação

Aplicados a testes microbiológicos quantitativos. O menor número de micro-organismos dentro de uma variabilidade definida que pode ser determinada sob condições experimentais do método em avaliação.

material de referência

Material suficientemente homogêneo e estável com relação a uma ou mais propriedades específicas, as quais foram estabelecidas para uso definido em um processo de medição.

material de referência certificado

Material de referência, caracterizado por um procedimento metrologicamente válido para uma ou mais propriedades específicas acompanhado por um certificado que fornece o valor da(s) propriedade(s) específica(s), sua(s) incerteza(s) associada(s) e uma declaração da rastreabilidade metrológica. O limite de aceitação dos resultados deve ser estabelecido.

método de referência

Método que foi validado como sendo adequado ao uso e que pode ser comparado a um método alternativo.

precisão

O grau de concordância entre os resultados individuais.

repetitividade

Grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas da mesma medida e nas mesmas condições de medição (Adaptado da ISO).

reprodutibilidade

Reprodutibilidade expressa a precisão entre laboratórios.

robustez

Capacidade do processo para fornecer os resultados analíticos de aceitável exatidão e precisão sob uma variedade de condições.

sensibilidade

A fração do número total de culturas positivas ou colônias corretamente identificadas no ensaio presuntivo (7).

validação

Ação de provar, de acordo com os princípios dos guias de boas práticas da qualidade diretrizes e regulamentos (GxP - Boas Práticas), que qualquer procedimento, processo, equipamento (incluindo o software ou hardware utilizado), material, atividade ou sistema são adequados para um uso pretendido.

verificação

Aplicação de métodos, procedimentos, testes e outras avaliações, além do monitoramento para determinar a conformidade com os princípios de Boas Práticas de Laboratório (GxP).

Boas práticas da OMS para laboratórios de microbiologia farmacêutica

1. Pessoal

- 1.1 Os testes microbiológicos devem ser realizados e supervisionados por uma pessoa experiente, qualificada em microbiologia ou equivalente. O pessoal deve ter formação básica em microbiologia e experiência prática relevante antes de ser autorizado a executar o trabalho abrangido pelo escopo analítico microbiológico.
- 1.2 Descrições atualizadas do trabalho devem ser disponibilizadas para todo o pessoal envolvido nos testes ou calibrações, validações e verificações. O laboratório deve manter registros de todo o pessoal técnico, descrevendo as suas qualificações, treinamento e experiência.
- 1.3 Caso o laboratório inclua opiniões e interpretações dos resultados dos testes em relatórios, isso deve ser feito por pessoal autorizado, com experiência adequada e conhecimentos relevantes incluindo, por exemplo, conhecimento dos requisitos regulatórios, tecnológicos, critérios de aceitação e aplicação específica.
- 1.4 A gerência do laboratório deve garantir que todo o pessoal tenha recebido treinamento adequado para o desempenho competente de ensaios e operação de equipamentos. Isto inclui treinamento em técnicas básicas, por exemplo, técnica de plaqueamento, contagem de colônias, técnica asséptica, preparação de meios de cultura, diluições em série e técnicas básicas em identificação, com critério de aceitação se for o caso. O pessoal somente pode realizar ensaios se for reconhecidamente competente para fazê-lo ou se estiver sob supervisão adequada. A competência deve ser monitorada continuamente com previsão de reciclagem quando necessário. Quando um método ou técnica não for de uso constante, pode ser necessário a verificação do desempenho do pessoal previamente à realização dos ensaios. Em alguns casos, pode ser mais apropriado capacitar o analista para a realização de uma técnica ou para o uso de um instrumento específico, ao invés de capacitá-lo à execução de um método analítico completo. Em algumas situações é aceitável relatar a competência para a realização de uma técnica geral ou instrumento utilizado ao invés de métodos específicos.
- 1.5 O pessoal deve ser treinado em procedimentos necessários para a contenção de micro-organismos dentro das instalações do laboratório.
- 1.6 O pessoal deve ser treinado para manusear com segurança os micro-organismos.

2. Ambiente

- 2.1 Dependências
 - 2.1.1 O laboratório de microbiologia e certos equipamentos que dão suporte (por exemplo, autoclaves e vidrarias) devem ser de uso específico e separados das outras áreas, especialmente das áreas de produção.
 - 2.1.2 Laboratórios de Microbiologia devem ser projetados para atender às operações a serem realizadas nos mesmos. Devem ter espaço suficiente para todas as atividades a fim de prevenir contaminação e contaminação cruzada. Devem ter espaço adequado para guarda de amostras, micro-organismos de referência, meios de cultura

(se necessário, com refrigeração) , análises e registros. Devido à natureza de alguns materiais (por exemplo, meios estéreis, micro-organismos de referência ou culturas incubadas) é necessário separar os locais de armazenamento.

- 2.1.3 Os laboratórios devem ser adequadamente projetados e devem levar em conta a adequação dos materiais de construção para permitir limpeza adequada, desinfecção e minimizar os riscos de contaminação.
 - 2.1.4 Deve haver fornecimento de ar separado para laboratórios e para áreas de produção. Unidades de gerenciamento e tratamento de ar, incluindo controle de temperatura e umidade, quando necessários, devem ser instalados separadamente para os laboratórios de microbiologia. O ar fornecido ao laboratório deve ser de qualidade adequada e não deve ser uma fonte de contaminação.
 - 2.1.5 O acesso ao laboratório de microbiologia deve ser restrito ao pessoal autorizado. O pessoal deve ser informado quanto ao que segue:
 - procedimentos apropriados para entrada e saída, incluindo a vestimenta e entrada de materiais;
 - destinação de uso para áreas específicas;
 - restrições impostas ao trabalho dentro dessas áreas;
 - as razões para a existência de tais restrições, e
 - níveis de contenção adequados.
 - 2.1.6 Atividades do laboratório, tais como a preparação da amostra, preparação de meio de cultura, equipamentos e contagem de micro-organismos, devem ser realizadas em espaços ou pelo menos em tempos diferentes, de modo a minimizar os riscos de contaminação cruzada, resultados falso-positivos e falso-negativos. Onde são utilizadas áreas não exclusivas, os princípios de gestão de risco devem ser aplicados. Testes de esterilidade devem ser realizados sempre em uma área específica.
 - 2.1.7 Deve-se considerar a adequação da planta para a classificação das áreas e operações a serem desempenhadas dentro do laboratório de microbiologia. A classificação deve ser baseada na criticidade do produto e operações realizadas na área. Deve-se realizar o teste de esterilidade sob a mesma classe utilizada para operações estéril/asséptica de produção. O Apêndice 1 mostra as recomendações para as áreas de classificação.
 - 2.1.8 Em geral, equipamentos de laboratório não devem ser rotineiramente movidos entre áreas de diferentes classes de limpeza para evitar contaminação cruzada. Equipamento de laboratório de microbiologia não deve ser utilizado fora da área, a menos que haja precauções específicas para prevenir a contaminação cruzada.
- 2.2 Monitoramento ambiental do laboratório
- 2.2.1 Quando necessário (por exemplo, em áreas de teste de esterilidade) deve haver um programa de monitoramento ambiental apropriado que cubra, por exemplo, a utilização de monitoramento do ar ativo (impactação do ar), exposição de placas ou placas de contato, temperatura e diferencial de pressão. Devem ser definidos limites de alerta e ação. Deve-se identificar as tendências dos resultados do monitoramento ambiental.
- 2.3 Limpeza, Desinfecção e Higiene

- 2.3.1 Deve haver um programa de limpeza e desinfecção documentado. Os resultados do monitoramento ambiental devem ser considerados quando relevantes.
 - 2.3.2 Deve haver um procedimento para lidar com os derramamentos.
 - 2.3.3 Instalações adequadas para lavagem e desinfecção das mãos devem estar disponíveis.
- 2.4 Instalações do teste de esterilidade
- 2.4.1 Instalações utilizadas para a realização de testes de esterilidade devem atender a requisitos específicos a fim de garantir a integridade dos testes. *WHO good manufacturing practices (GMP) for sterile pharmaceutical products (8)* exige a realização de testes de esterilidade e traz requisitos específicos. Essa seção fornece detalhes dos requisitos de instalação da sala limpa para o teste de esterilidade.
 - 2.4.2 O teste de esterilidade deve ser realizado sob condições assépticas para o qual deve estabelecer padrões de qualidade do ar asséptico requerido para a fabricação de produtos farmacêuticos. As premissas, serviços e equipamentos devem estar sujeitos a processos de qualificações adequados.
 - 2.4.3 O teste de esterilidade deve ser efetuado dentro de uma zona de fluxo de ar unidirecional protegido de classe A ou cabine de segurança biológica (certificada), que deve estar localizada dentro da sala limpa circundada com classe B. Como alternativa, os testes podem ser efetuados dentro de um isolador de barreira. Deve-se tomar cuidado com o projeto do *layout* de instalações e padrões do fluxo de ar ambiente, para garantir que os padrões de fluxo de ar unidirecional não sejam interrompidos.
 - 2.4.4 A classificação de salas limpas e equipamentos de tratamento de ar das instalações do teste de esterilidade devem ser requalificados, pelo menos anualmente por pessoal competente do laboratório ou contratado. Deve-se respeitar os limites de partículas não-viáveis e viáveis do ambiente, executar a verificação da integridade do filtro de ar de alta eficiência de partículas (HEPA) e fluxos de ar ambiente. De qualquer modo uma frequência alternativa do monitoramento pode ser justificada com base no *Quality Risk Management (QRM)*. O mapeamento dos locais dos pontos de amostragem para monitoramento de rotina deve ser documentado, bem como a duração da exposição e a frequência de todos os tipos de monitoramento ambiental microbiológico devem ser especificados em procedimentos descritos.
 - 2.4.5 O ar para as instalações de classe A e B deve ser fornecido através de filtros terminais HEPA.
 - 2.4.6 Instrumentos indicadores, alarmes para fluxos de ar e diferenciais de pressão devem ser providenciados. (*GMP: Heating, ventilation and air-conditioning systems for non-sterile pharmaceutical dosage forms (8); and GMP for sterile pharmaceutical products (8)*).
 - 2.4.7 As leituras de pressão da sala devem ser realizadas e registradas através de equipamentos montados externamente, a menos que um sistema validado de monitoramento contínuo da pressão esteja instalado. Deve-se realizar e registrar as leituras, no mínimo, para as entradas do operador na sala de teste. Os equipamentos de pressão para as áreas devem ser identificados e suas especificações definidas.
 - 2.4.8 A entrada para a sala limpa deve ser através de sistema de antecâmaras e oferecer disponibilidade de ambiente para a troca, onde os operadores vistam roupas adequadas para a área limpa. A última antecâmara para troca da vestimenta deve ter quando em repouso, a mesma classe da sala de análise. O ambiente para troca da vestimenta

deve ser de tamanho adequado para facilitar a troca. Deve existir demarcação clara das diferentes áreas.

- 2.4.9 O vestuário dos operadores para o teste de esterilidade deve estar de acordo com os princípios da seção 10 do documento *WHO GMP for sterile pharmaceutical products (8)*. Os operadores devem ser treinados e certificados em procedimentos de paramentação e os registros de treinamento devem ser mantidos.
- 2.4.10 As conexões e acabamentos das instalações devem cumprir seção 11 da *WHO GMP for sterile pharmaceutical products (8)*.
- 2.4.11 O monitoramento ambiental microbiológico deve refletir a instalação utilizada (sala ou isolador) e incluir a combinação dos métodos de amostragem do ar e superfície como:
- amostragem ativa do ar;
 - exposição de placas;
 - superfície de contato;
 - replicata de placas para detecção e contagem de micro-organismos (RODAC), *swabs* ou filmes flexíveis;
 - luvas dos operadores.

O Monitoramento ambiental microbiológico da área de teste de esterilidade deve ser realizado durante cada sessão de trabalho nas condições de funcionamento (dinâmico).

As especificações frente a contaminação microbiana devem estar descritas, incluindo os limites apropriados de alerta e ação. Os limites microbiológicos para o monitoramento ambiental são dadas no *WHO GMP for sterile pharmaceutical products (8)*.

3. Validação dos métodos

- 3.1 Os testes farmacopéicos normalizados são considerados validados. No entanto, o método específico a ser utilizado pelo laboratório precisa ser demonstrado como adequado ao uso pela recuperação de bactérias, leveduras e bolores na presença do produto específico. O laboratório deve demonstrar que o critério de desempenho do método normalizado é atendido, antes de introduzi-lo na rotina (método de verificação) e que a especificação do método é adequada para o produto (a demonstração da adequação do método inclui o uso de controles positivos e negativos).
- 3.2 Os métodos de ensaio não baseados em compêndios ou outras referências reconhecidas devem ser validados antes da utilização. A validação deve incluir, quando apropriado, determinação da exatidão, precisão, especificidade, limite de detecção, limite de quantificação, linearidade e robustez. Efeitos potencialmente inibitórios a partir da amostra deve ser levado em conta quando testar diferentes tipos de amostras.

Os resultados devem ser avaliados com métodos estatísticos adequados, por exemplo, conforme descritos em farmacopéias nacionais, regionais ou internacionais.

4. Equipamento

Cada item de equipamento, instrumento ou outro dispositivo utilizado para testes, verificação e calibração deve ser univocamente identificado.

Como parte do sistema da qualidade, o laboratório deve ter documentado um programa de qualificação, calibração, verificação do desempenho, manutenção e um sistema de monitoramento de uso dos equipamentos.

4.1 Manutenção do equipamento

- 4.1.1 A manutenção de equipamentos essenciais devem ser realizadas em intervalos pré-determinados de acordo com um procedimento documentado. Registros detalhados devem ser mantidos. (Para exemplos de manutenção de equipamentos e intervalos ver Apêndice 2).

4.2 Qualificação

- 4.2.1 Para qualificação dos equipamentos ver seção 8 e 12 em *Good practices for pharmaceutical quality control laboratories (1)*.

4.3 Calibração, verificação do desempenho e monitoramento de uso

- 4.3.1 A data de calibração e manutenção e a data em que a recalibração é realizada deve ser claramente indicada na etiqueta anexada ao instrumento.
- 4.3.2 A frequência das calibrações e as verificações de desempenho devem ser determinadas pelo histórico documentado do equipamento e baseadas na necessidade, tipo e desempenho anterior do equipamento.

Os intervalos entre calibração e verificação devem ser menores quando o equipamento mostrar tendência para sair do limite de aceitação (para exemplos de intervalos para verificação da calibração para diferentes equipamentos do laboratório, ver Apêndice 3; e para qualificação e monitoramento de equipamentos, ver Apêndice 4).

O desempenho dos equipamentos deve estar conforme critérios de aceitação pré-definidos.

4.3.3 Dispositivos para medição de temperatura

- 4.3.3.1 Quando a temperatura possuir efeito direto sobre o resultado de uma análise, ou for crítica para o desempenho correto do equipamento, os dispositivos medidores de temperatura, devem ser de qualidade adequada para alcançar a exatidão necessária (e.x termômetros líquido de vidro, termopares e termômetros com resistência de platina, usados em incubadoras e autoclaves).

- 4.3.3.2 A calibração dos dispositivos deve ser rastreável a padrões nacionais e internacionais de temperatura.

4.3.4 Incubadoras, banhos de água (banhos-maria) e fornos

A estabilidade da temperatura, a uniformidade de distribuição da temperatura e o tempo necessário para atingir condições de equilíbrio em incubadoras, banhos de água, fornos e salas com temperaturas controladas devem ser inicialmente estabelecidos e documentados, principalmente em relação ao uso normal do equipamento (por exemplo: posição, espaço, e altura das pilhas das placas de petri). A manu-

tenção das características registradas durante a validação inicial dos equipamentos deve ser verificada e registrada após cada reparo ou modificação significativa.

As temperaturas de operação de cada equipamento devem ser monitoradas e os registros armazenados. A utilização do equipamento deve ser considerada ao determinar quais controles de temperatura são necessários.

4.3.5 Autoclaves, incluindo preparadores de meios

4.3.5.1 Autoclaves devem ser capazes de atender o tempo e a temperatura especificados no procedimento; o monitoramento da pressão por si só não é aceitável. Sensores utilizados para controle ou monitoramento do ciclo de operação necessitam de calibração e o desempenho dos cronômetros deve ser verificado.

4.3.5.2 A validação inicial deve incluir estudos sobre o desempenho (pesquisas de distribuição espacial da temperatura) para cada ciclo de operação e cada configuração de carga usada na prática. Esse processo precisa ser repetido após reparo ou modificação significativa (e.x mudança do programador, sonda do termorregulador, mudança de carga ou ciclo de operação) ou quando indicado pelos resultados das verificações do controle de qualidade do meio de cultura ou gerenciamento de risco.

Sensores de temperatura devem ser posicionados em número suficiente dentro da carga (e.x recipientes cheios com líquido/meios) de tal forma que as diferentes localizações possam ser demonstradas. No caso de preparadores de meios, em que o aquecimento uniforme não pode ser demonstrado de outra forma, o uso de dois sensores, um adjacente a sonda de controle e o outro afastado desta, pode ser considerado apropriado.

Para a validação e a revalidação deve-se considerar os tempos de elevação e decréscimo da temperatura bem como o tempo efetivo da temperatura de esterilização.

4.3.5.3 Devem-se fornecer instruções operacionais claras, com base nos perfis de aquecimento determinados para usos específicos durante a validação/revalidação. Devem ser estabelecidos critérios de aceitação/rejeição e registros de operação de autoclaves incluindo temperatura e tempo mantidos em cada ciclo.

4.3.5.4 O monitoramento pode ser realizado de uma das seguintes formas:

- utilização de um termopar e de um registrador para produzir um gráfico ou relatório impresso;
- observação direta e registro da temperatura máxima alcançada e tempo nessa temperatura.

Além do monitoramento direto da temperatura de uma autoclave, a eficiência de sua operação durante cada ciclo pode ser verificada pelo uso de indicadores químicos ou biológicos para fins de esterilização ou descontaminação. Tiras indicadoras ou fitas de controle de esterilização para autoclaves devem ser utilizadas somente para indicar que uma carga foi processada e não são suficientes para demonstrar a conclusão de um ciclo aceitável.

Os laboratórios devem ter uma autoclave de descontaminação separada.

No entanto, em casos excepcionais uma única autoclave pode ser aceitável desde que precauções sejam tomadas para separar cargas de descontaminação e esterilização, e um programa documentado de limpeza no local para lidar com o ambiente interno e externo da autoclave.

4.3.6 Pesos e balanças

Pesos e balanças devem ser calibrados de forma rastreável em intervalos regulares (de acordo com seu uso pretendido) utilizando peso padrão apropriados rastreáveis e pesos padrão certificados.

4.3.7 Equipamentos volumétricos

4.3.7.1 Os laboratórios de microbiologia devem realizar a verificação inicial dos equipamentos volumétricos (dispensadores automáticos, dispensadores/diluidores, pipetas manuais mecânicas e pipetas descartáveis) e devem realizar verificações regulares para garantir que os equipamentos estejam operando dentro da especificação requerida. A verificação inicial pode não ser necessária para vidraria que for certificada para uma tolerância específica. Os equipamentos devem ser verificados quanto à exatidão do volume dispensado, em comparação com o volume pré estabelecido (para diversos ajustes diferentes, no caso de instrumentos com volume variável). A precisão dos volumes dispensados deve ser avaliada.

4.3.7.2 Para dispositivos volumétricos descartáveis os laboratórios devem adquirir os suprimentos de empresas com um sistema de qualidade reconhecido. Após a validação inicial da adequação do dispositivo, recomenda-se a execução de verificações aleatórias de exatidão. Se o fornecedor não tiver um sistema de qualidade reconhecido, os laboratórios devem verificar a adequação de cada lote do dispositivo.

4.3.8 Outros equipamentos

Medidores de condutividade, medidores de oxigênio, medidores de pH e outros instrumentos similares devem ser verificados regularmente ou antes de cada uso. As soluções-tampão usadas para fins de verificação devem ser guardadas em condições apropriadas e devem ser identificadas com uma data de validade.

Quando a umidade for importante para o resultado do ensaio, higrômetros devem ser calibrados, sendo a calibração rastreável a padrões nacionais ou internacionais.

Cronômetros, incluindo o cronômetro da autoclave, devem ser verificados, usando-se um cronômetro calibrado ou o sinal de tempo nacional (Hora do Observatório Nacional) como referência.

Quando centrífugas forem utilizadas em procedimentos de ensaio, a verificação das rotações por minuto (RPM) deve ser feita e os registros mantidos. Quando for crítico para o ensaio, a centrífuga deve ser calibrada.

5. Reagentes e meios de cultura

Os laboratórios devem assegurar que a qualidade dos reagentes e meios de cultura utilizados estejam apropriados para o ensaio em questão.

5.1 Reagentes

- 5.1.1 Os laboratórios devem verificar a adequação de cada lote de reagentes críticos para o ensaio, inicialmente e durante sua validade.

5.2 Meios de cultura

- 5.2.1 Meios de cultura podem ser preparados internamente ou comprados parcialmente ou totalmente preparados. Fornecedores de meios prontos para o uso devem ser aprovados e qualificados. O fornecedor qualificado pode certificar alguns dos parâmetros de qualidade listados abaixo.

A promoção do crescimento e, se apropriado, outros testes de desempenho (ver seção 5.2.2) devem ser realizados em todos os meios preparados em cada lote e em cada remessa. Quando o fornecedor de meio totalmente preparado estiver qualificado e oferecer certificação de promoção do crescimento por lote de meio, e as condições de transporte tiverem sido qualificadas, o usuário poderá utilizar o certificado do fabricante como verificação periódica dos seus resultados.

- 5.2.2 O desempenho apropriado dos meios de cultura, diluentes e outras soluções devem ser verificados, quando relevante com relação:

- recuperação ou a manutenção dos micror-organismos-alvo. Recuperação de 50-200% que deve ser demonstrada após a inoculação de não mais que 100 unidades formadoras de colônia (UFC);
- inibição ou supressão de micro-organismos não-alvo;
- propriedades bioquímicas (diferenciais e diagnósticas), e
- propriedades adequadas (por exemplo: pH, volume e esterilidade).

Para avaliação da recuperação ou manutenção de micro-organismos deve ser dada preferência a procedimentos quantitativos.

- 5.2.3 Matérias-primas, (tanto formulações comerciais desidratadas como constituintes individuais), e meios de cultura devem ser armazenados sob condições apropriadas recomendadas pelo fabricante, como, por exemplo, em ambiente frio, seco e protegido da luz. Todos os recipientes, especialmente aqueles com meios desidratados devem ser hermeticamente fechados. Meios desidratados que se apresentem endurecidos, empedrados ou com mudança de coloração, não devem ser utilizados.

- 5.2.4 Água com qualidade microbiológica adequada livre de substâncias bactericidas, inibidoras ou interferentes, deve ser utilizada na preparação, a não ser que o método de teste especifique de outra forma.

- 5.2.5 Os meios contendo antimetabólitos ou inibidores devem ser preparados utilizando vidrarias separadas para essa finalidade, sendo que esses agentes presentes dentro de outros meios podem inibir o crescimento e a detecção de micro-organismos presentes na amostra sob teste.

Se a vidraria utilizada na preparação de meios contendo antimetabólitos ou inibidores for utilizada para outras finalidades os procedimentos de lavagem devem ser validados.

- 5.2.6 A distribuição do meio após a esterilização deve ser realizada sob fluxo de ar unidirecional para minimizar a potencial contaminação pelo ambiente. Isto deve ser considerado como requisito mínimo para meios utilizados em testes de produtos estéreis.

A etapa deve incluir o resfriamento do meio, assim como a remoção das tampas dos recipientes para evitar a acumulação da água de condensação durante o resfriamento.

- 5.2.7 Os meios plaqueados que são irradiados podem exigir a adição de um antioxidante e varredura de radicais livres para oferecer proteção contra os efeitos do processo de irradiação. Os meios irradiados e não irradiados devem ser validados através da realização de testes quantitativos de promoção de crescimento.
 - 5.2.8 A validade dos meios preparados deve ser definida, conferida quanto a sua adequação e sob as condições determinadas de armazenamento.
 - 5.2.9 Os lotes de meios devem ser identificados e verificados quanto a sua adequação ao uso conforme documento específico da qualidade. Para meio comprado pronto o laboratório usuário deve garantir que será notificado pelo fabricante de quaisquer alterações à especificação da qualidade.
 - 5.2.10 Os meios de cultura devem ser preparados de acordo com as instruções do fabricante, tomando cuidado com as especificações do tempo e temperatura para a esterilização.
 - 5.2.11 Equipamento de micro-ondas não deve ser utilizado para a fusão de meios de cultura devido à distribuição inconsistente do processo de aquecimento.
- 5.3 Rotulagem
- 5.3.1 Os laboratórios devem assegurar que todos os reagentes (incluindo soluções estoque), meios de cultura, diluentes e outras soluções devem estar devidamente rotulados para indicar, conforme o caso, a identificação, concentração, condições de armazenamento, data de preparação, data de validade e períodos de armazenamento recomendados. O responsável pela preparação do meio de cultura deve ser identificado pelos registros.
- 5.4 Recuperação de micro-organismos
- 5.4.1 A recuperação dos micro-organismos é necessária quando as metodologias utilizadas nos testes produzirem efeitos subletais e ocasionar injúrias nas células. Por exemplo, exposição a:
 - injúrias pelo processamento, por exemplo, uso de calor;
 - agentes antimicrobianos;
 - conservantes;
 - extremos de pressão osmótica, e
 - extremos de pH.
 - 5.4.2 A recuperação de micro-organismo pode ser obtida por:
 - exposição a meio líquido, como por exemplo, solução salina à temperatura ambiente por 2 horas, e
 - exposição a meio sólido de recuperação por 4-6 horas.

6. Materiais de referência e culturas de referência

6.1. Padrões internacionais e substâncias de referência farmacopeicas

6.1.1 Materiais de referência e materiais de referência certificados são utilizados de forma geral, no laboratório de microbiologia, para qualificar, verificar e calibrar equipamentos.

Sempre que possível os materiais de referência devem ser utilizados nas matrizes apropriadas.

Padrões internacionais e substâncias de referência são empregados, por exemplo, para:

- determinar a potência ou teor;
- validar métodos;
- comparar métodos;
- controles positivos, e
- testes de promoção de crescimento.

Se possível, materiais de referência devem ser usados nas matrizes utilizadas nos ensaios.

6.2 Culturas de referência

6.2.1 O uso de culturas de referência é necessário para o estabelecimento do desempenho aceitável dos meios de cultura (incluindo kits de ensaio), para validação de métodos, para verificação da adequação do método de ensaio e para avaliar o seu desempenho.

A rastreabilidade é necessária, por exemplo, quando estabelecemos o desempenho de meios, kits para testes e validação de métodos de ensaio.

Para demonstrar a rastreabilidade, os laboratórios devem usar cepas de micro-organismos de referência obtidas diretamente a partir de coleções reconhecidas nacional ou internacionalmente, caso existam.

Como alternativa, podem ser utilizadas culturas comerciais que o laboratório tenha comprovado ter propriedades equivalentes.

6.2.2 As cepas de referência devem ser sub-cultivadas uma única vez, para fornecer estoques de referência. Verificações bioquímicas e de pureza devem ser feitas em paralelo, conforme apropriado. Recomenda-se guardar estoques de referência em alíquotas congeladas ou liofilizadas. Culturas de trabalho, para uso de rotina, devem ser sub-culturas primárias do estoque de referência (ver Apêndice 5 - Uso geral das culturas de referência). Uma vez descongelados, os estoques de referência não devem ser recongelados e reutilizados.

6.2.3 As cepas de trabalho não devem normalmente ser subcultivadas .

Geralmente não mais do que cinco gerações (ou passagens) da cepa de referência original podem ser subcultivadas, se for definido por um método padrão ou os laboratórios comprovarem por evidências documentais que não houve nenhuma alteração em qualquer propriedade relevante.

Derivados comerciais de cepas de referência só podem ser utilizados como culturas de trabalho.

7. Amostragem

Os princípios gerais são referidos em *Good practices for pharmaceutical quality control laboratories* (1).

- 7.1 Onde laboratórios de ensaio são responsáveis pela amostragem inicial para a obtenção dos itens de ensaio, recomenda-se fortemente que o procedimento de amostragem seja coberto por um sistema de garantia da qualidade e submetido a auditorias regularmente.
- 7.2 Qualquer processo de desinfecção utilizado para obter a amostra (ex. desinfecção em alguns pontos da embalagem da amostra) não deve comprometer o nível microbiológico interno da amostra.
- 7.3 O transporte e o armazenamento das amostras devem ser realizados em condições que mantenham a integridade das mesmas (por exemplo: resfriada ou congelada quando apropriado). Os ensaios devem ser realizados o mais rápido possível após a amostragem.

Para as amostras onde for possível o crescimento da população microbiana durante o transporte e o armazenamento, deve ser demonstrado que as condições de armazenamento, tempo e de temperatura, não afetam a exatidão dos resultados dos testes. As condições de armazenamento devem ser monitoradas e os registros mantidos. A responsabilidade pelo transporte, armazenamento entre a amostragem e chegada ao laboratório do teste deve estar claramente documentado.

- 7.4 A amostragem deve ser executada somente por pessoal treinado. Deve ser realizada de forma asséptica utilizando material estéril. Precauções apropriadas devem ser tomadas para garantir que a integridade das amostras é mantida por meio do uso de recipientes estéreis selados, onde apropriado. Pode ser necessário monitorar as condições ambientais, por exemplo, contaminação do ar e temperatura, no local de amostragem. A hora da amostragem deve ser registrada, se apropriado.

8. Manuseio e identificação das amostras

- 8.1 O laboratório deve ter procedimentos que cubram a entrega, o recebimento e a identificação da amostra. Se houver amostra insuficiente, ou em condições inadequadas devido à deterioração física, temperatura incorreta, embalagem danificada ou rotulagem deficiente, o laboratório deve entrar em contato com o cliente, antes de decidir testar ou recusar a amostra.
- 8.2 O laboratório deve registrar todas as informações relevantes exemplo:
 - data e, quando relevante, horário de recebimento;
 - condições da amostra no recebimento e quando necessário temperatura, e
 - características do procedimento de amostragem (incluindo data e condições da amostragem);
- 8.3 As amostras que serão analisadas posteriormente devem ser armazenadas sob condições adequadas para minimizar as variações na população microbiana presente. As condições de armazenamento devem ser validadas, definidas e registradas.

- 8.4 As embalagens e rótulos das amostras podem estar altamente contaminados e devem ser manipulados e estocados com cuidado, a fim de evitar qualquer disseminação de contaminação. Os processos de desinfecção aplicados nos recipientes não devem afetar a integridade da amostra. Deve-se saber que o álcool não é esporicida.
- 8.5 A subamostragem feita no laboratório imediatamente antes dos ensaios é considerada como parte do método de ensaio. Deve ser feita de acordo com os padrões nacionais ou internacionais, caso existam, ou por métodos internos validados. Procedimentos de subamostragem devem ser projetados para coletar uma amostra representativa.
- 8.6 Deve haver um procedimento escrito para a retenção e descarte de amostras. Se a integridade das amostras puder ser mantida é apropriado que as mesmas sejam estocadas até que os resultados do ensaio estejam disponíveis, ou por um tempo maior, se necessário. As amostras sabidamente contaminadas devem ser descontaminadas antes de serem descartadas (ver seção 11.1).

9. Descarte de resíduos contaminados

- 9.1 Os procedimentos de descarte dos materiais contaminados devem ser projetados para minimizar a possibilidade de contaminação do ambiente do teste ou dos materiais. Isto é uma questão de boas práticas de laboratório, devendo obedecer a regulamentos nacionais ou internacionais ou regulamentos ambientais de saúde e segurança.

10. Garantia da qualidade dos resultados e controle da qualidade do desempenho

10.1 Controle interno da qualidade

- 10.1.1 O laboratório deve ter um sistema de garantia da qualidade interna ou controle de qualidade (por exemplo: monitoramento dos desvios, uso de amostras fortificadas, testes replicados e participação em testes de proficiência, se for o caso) para garantir a consistência dos resultados do dia a dia e sua conformidade com os critérios definidos.

11. Procedimentos do teste

- 11.1 Os testes normalmente devem ser feitos de acordo com procedimentos descritos em farmacopéias nacionais, regionais ou internacionais.
- 11.2 Procedimentos alternativos para testes podem ser utilizados, desde que adequadamente validados e seja demonstrado a sua equivalência aos métodos oficiais.

12. Relatórios de ensaio

- 12.1 Se o resultado da contagem for negativo, este deve ser relatado como “não detectado para uma unidade definida” ou “menor que o limite de detecção para uma unidade definida”. O resultado não deve ser apresentado como “zero para uma unidade definida”, a não ser que ele seja uma exigência regulatória. Os resultados de ensaios qualitativos devem ser registrados como “detectado/não detectado numa quantidade ou volume definido”. Também podem ser expressos como “menor que um número especificado de micro-organismos para uma unidade definida”, quando o número de micro-organismo especificado exceder o limite de detecção do

método e isto tiver sido acordado com o cliente. Nos dados brutos “o resultado não deve ser dado como zero para uma unidade definida” a não ser que seja uma exigência regulatória. Um valor reportado de “0” pode ser utilizado para entrada de dados e cálculos ou análise de tendências em bases de dados eletrônicos.

- 12.2 Quando uma estimativa da incerteza do resultado do ensaio for expressa no relatório de ensaio, quaisquer limitações (particularmente se a estimativa não incluir a contribuição do componente da distribuição dos micro-organismos dentro da amostra) precisam ser esclarecidas com o cliente.

Referências

1. Good Practices for pharmaceutical quality control laboratories. In: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Forty-fourth report. Geneva, World Health Organization. WHO Technical Report Series, No. 957, 2010, Annex 1.
2. General guidelines for the establishment, maintenance and distribution of chemical reference substances. Revision. In: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Forty-first report. Geneva, World Health Organization. WHO Technical Report Series, No. 943, 2007, Annex 3.
3. The International Pharmacopoeia, Fourth Edition. Geneva, World Health Organization, 2006. Also available on CD-ROM.
4. The International Pharmacopoeia, Fourth Edition, First Supplement. Geneva, World Health Organization, 2008. Also available on CD-ROM.
5. ISO/IEC 17025 (2005) General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
6. ISO 11133-1 (2000) Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines on preparation and production of culture media — Part 1: General guidelines on quality assurance for the preparation of culture media in the laboratory.
7. ISO 13843 (2000) Water quality — Guidance on validation of microbiological methods.
8. WHO good manufacturing practices: main principles for pharmaceutical products. In: Quality assurance of pharmaceuticals. A compendium of guidelines and related materials. Volume 2, 2nd updated edition. Good manufacturing practices (GMP) and inspection. Geneva, World Health Organization, 2007, and subsequent updates, including WHO GMP for sterile pharmaceutical products. In: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Forty-fifth report. Geneva, World Health Organization. WHO Technical Report Series, No. 961, Annex 6, 2011; and GMP: Heating, ventilation and air-conditioning systems for non-sterile pharmaceutical dosage forms. In: WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Forty-fifth report. Geneva, World Health Organization. WHO Technical Report Series, No. 961, 2011, Annex 5.

Leitura complementar

- ISO 7218 (2007) Microbiology of food and animal feeding stuffs — General requirements and guidance for microbiological examinations.
- ISO 6887-1 (1999) Microbiology of food and animal feeding stuffs — Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination — Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilutions.
- ISO Guide 30 (1992) Terms and definitions used in connection with reference materials.

ISO 9000 (2008) Quality management systems — fundamentals and vocabulary.

ISO Guide 99 (1993) International vocabulary of basic and general terms in metrology (VIM).

ISO (CIPM):1995. Guide to the expression of uncertainty in measurements.

Draft ISO/DIS 16140. (1999) Food microbiology. Protocol for the validation of alternative methods.

Draft ISO/FDIS (2003) 11133-2. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Guidelines on preparation and production of culture media. Part 2 — Practical guidelines on performance testing on culture media.

EN 12741 (1999). Biotechnology — Laboratories for research, development and analysis — Guidance for biotechnology laboratory operations.

Draft Quality Risk Management. Disponível em: <http://www.who.int/medicines/services/expertcommittees/pharmprep/QualityRiskManagement-QAS10-376_18082010.pdf>. Acesso em 07/03/2012.

Apêndice 1:

Exemplos de áreas (ambientes) em que as atividades operacionais podem ser realizadas

As áreas são projetadas e classificadas durante a instalação, conforme categorias abaixo, e monitoradas, por exemplo, através de abastecimento adequado de ar.

Área	Classe de instalação	Proposto
Recebimento de amostra	Sem classificação	Sem classificação
Preparo de Meios	Sem classificação	Sem classificação
Autoclave	Sem classificação	Sem classificação
Autoclave dentro da área de teste de esterilidade	Classe B	ISO 5 (turbulência) < 10 UFC/ m ³
Unidade de Fluxo de Ar Unidirecional – UDAF (cabine de segurança biológica)	Classe A	ISO 5 (UDAF) e < 1 UFC/ m ³
Local onde está instalado a Unidade de Fluxo de Ar Unidirecional - UDAF	Classe B	ISO 5 (turbulência) < 10 UFC/ m ³
Isolador onde será realizado o teste de esterilidade	Classe A (Número de partículas viáveis - NVP somente Microbiologia)	ISO 5 (UDAF) e < 1 UFC/ m ³
Local onde está instalado o isolador	Sem classificação	Sem classificação
Incubadora	Sem classificação	Sem classificação
Contagem	Sem classificação	Sem classificação
Descontaminação	Sem classificação	Sem classificação

UFC – unidade formadora de colônia.

Apêndice 2: Exemplos de manutenção dos equipamentos

Estas informações são fornecidas como exemplo e a frequência será baseada na necessidade, tipo e desempenho prévio do equipamento e das recomendações do manual do fornecedor.

Tipo de equipamento	Exigência	Frequência sugerida
Incubadora	<ul style="list-style-type: none"> Limpar e desinfetar a superfícies internas 	<ul style="list-style-type: none"> Mensalmente
Refrigeradores		<ul style="list-style-type: none"> Quando necessário (e.x a cada 3 mês)
Freezers, Fornos		<ul style="list-style-type: none"> Quando necessário (e.x anualmente)
Banho Maria	<ul style="list-style-type: none"> Esvaziar, limpar desinfetar e repor a água 	<ul style="list-style-type: none"> Mensalmente ou a cada 6 meses se usado biocida
Centrífuga	<ul style="list-style-type: none"> Revisar 	<ul style="list-style-type: none"> Anualmente
	<ul style="list-style-type: none"> Limpar e desinfetar 	<ul style="list-style-type: none"> A cada uso
Autoclave	<ul style="list-style-type: none"> Fazer inspeção visual do cesto, limpar e drenar a câmara 	<ul style="list-style-type: none"> Regularmente, ou conforme recomendado pelo fabricante
	<ul style="list-style-type: none"> Revisão completa 	<ul style="list-style-type: none"> Anualmente ou conforme recomendado pelo fabricante
	<ul style="list-style-type: none"> Verificar a segurança da válvula de pressão 	<ul style="list-style-type: none"> Anualmente
Cabine de Segurança Biológica, Cabine unidirecional	<ul style="list-style-type: none"> Revisão completa e verificação mecânica 	<ul style="list-style-type: none"> Anualmente ou conforme recomendado pelo fabricante
Microscópio	<ul style="list-style-type: none"> Serviço completo de manutenção 	<ul style="list-style-type: none"> Anualmente ou conforme recomendado pelo fabricante
pHmetro	<ul style="list-style-type: none"> Limpar eletrodo 	<ul style="list-style-type: none"> A cada uso
Balanças, diluentes gravimétricos	<ul style="list-style-type: none"> Limpar 	<ul style="list-style-type: none"> A cada uso
	<ul style="list-style-type: none"> Revisar 	<ul style="list-style-type: none"> Anualmente
Destilador	<ul style="list-style-type: none"> Limpeza e remover crosta 	<ul style="list-style-type: none"> Conforme necessário (e.x a cada 3 meses)
Deionizador e unidade de osmose reversa	<ul style="list-style-type: none"> Trocar cartucho/ membrana 	<ul style="list-style-type: none"> Conforme recomendado pelo fabricante
Jarra de anaerobiose	<ul style="list-style-type: none"> Limpar/desinfetar 	<ul style="list-style-type: none"> Após cada uso
Distribuidores de meios, equipamentos volumétricos, pipetas e equipamentos para serviços gerais	<ul style="list-style-type: none"> Descontaminar, limpar e esterilizar conforme apropriado 	<ul style="list-style-type: none"> A cada uso
Semeadores em espiral	<ul style="list-style-type: none"> Revisar 	<ul style="list-style-type: none"> Anualmente
	<ul style="list-style-type: none"> Descontaminar, limpar e esterilizar 	<ul style="list-style-type: none"> A cada uso
Laboratório	<ul style="list-style-type: none"> Limpar e desinfetar a superfície de trabalho 	<ul style="list-style-type: none"> Diariamente e durante o uso
	<ul style="list-style-type: none"> Limpar pisos, desinfetar tanques e pias 	<ul style="list-style-type: none"> Diariamente
	<ul style="list-style-type: none"> Limpar e desinfetar outras superfícies 	<ul style="list-style-type: none"> A cada 3 meses

Apêndice 3: Exemplo de intervalos de calibração para diferentes equipamentos

Esta informação é fornecida como um exemplo e a frequência será baseada sobre a necessidade, o tipo de desempenho, anterior e criticidade dos equipamentos.

Tipo de equipamento	Exigência	Frequência sugerida
Termômetros de referência (líquido em vidro)	▪ Recalibração inteiramente rastreável	▪ A cada 3 anos
	▪ Um único ponto (p.e.x: verificação do ponto de congelamento)	▪ Anualmente
Termopares de referência	▪ Recalibração inteiramente rastreável	▪ A cada 3 anos
	▪ Verificação com termômetro de referência	▪ Anualmente
Termômetros de trabalho e Termopares de Trabalho	▪ Verificação com termômetro de referência no ponto de congelamento e/ou faixa de temperaturas operacionais	▪ Anualmente
Balanças	▪ Calibração inteiramente rastreável	▪ Anualmente
Pesos de calibração	▪ Calibração inteiramente rastreável	▪ Anualmente
Peso(s) aferidor(es)	▪ Verificação com peso calibrado ou verificação na balança imediatamente após calibração rastreável	▪ Anualmente
Vidrarias volumétricas	▪ Calibração gravimétrica na tolerância exigida	▪ Anualmente
Microscópios	▪ Calibração rastreável por estágio do micrômetro de mesa (onde apropriado)	▪ Inicialmente
Higrômetros	▪ Calibração rastreável	▪ Anualmente
Centrífugas	▪ Calibração rastreável ou verificação com um tacômetro independente, conforme apropriado	▪ Anualmente

Apêndice 4: Exemplos de qualificação dos equipamentos e monitoramento

Esta informação é fornecida como um exemplo e a frequência será baseada na necessidade, o tipo de desempenho, anterior e criticidade dos equipamentos.

Tipo de equipamento	Requisito	Frequência sugerida
Equipamento com temperatura controlada (incubadoras, banhos, geladeiras, freezers)	▪ Estabelecer estabilidade e uniformidade de temperatura	▪ Inicialmente, a cada 2 anos e após reparo/modificação
	▪ Monitorar a temperatura	▪ Diariamente/a cada uso
Estufas de esterilização	▪ Estabelecer estabilidade e uniformidade de temperatura	▪ Inicialmente a cada 2 anos e após reparo/modificação
	▪ Monitorar a temperatura	▪ A cada uso
Autoclaves	▪ Estabelecer características para cargas/ciclos	▪ Inicialmente a cada 2 anos e após reparo/modificação
	▪ Monitorar a temperatura/pressão tempo	▪ A cada uso
Áreas classe A utilizadas para o teste de esterilidade ▪ Cabine de segurança unidirecional ▪ Isolador	▪ Estabelecer desempenho	▪ Inicialmente a cada ano e após reparo/modificação
	▪ Monitoramento microbiológico	▪ Cada uso
	▪ Monitoramento do fluxo de ar	▪ 6 meses
	▪ Teste de integridade do filtro HEPA	▪ 6 meses
Cabine unidirecional	▪ Estabelecer desempenho	▪ Inicialmente e após reparo/modificação
	▪ Monitoramento microbiológico	▪ Cada uso
	▪ Monitoramento do fluxo de ar	▪ 6 meses
	▪ Teste de integridade do filtro HEPA	▪ 6 meses
Cronômetro	▪ Verificar com sinal de tempo nacional	▪ Anualmente
Microscópio	▪ Verificar alinhamento	▪ Diariamente/a cada uso
pHmetro	▪ Ajustar utilizando, pelo menos soluções tampão de qualidade adequada	▪ Diariamente/a cada uso
Balanças	▪ Verificar o zero e a leitura com peso aferidor	▪ Diariamente/a cada uso
Deionizadores e unidades de osmose reversa	▪ Verificar condutividade	▪ Semanalmente
	▪ Verificar contaminação microbiana	▪ Mensalmente
Diluentes gravimétricos	▪ Verificar peso de volume dispensado	▪ Diária
	▪ Verificar relação de diluição	▪ Diária
Dispensadores de meios	▪ Verificar volume dispensado	▪ A cada ajuste de troca
Pipetadores / Pipetas	▪ Verificar exatidão e precisão do volume dispensado	▪ Regularmente (a ser definido, levando em conta a frequência e a natureza de uso)
Semeadores em espiral	▪ Estabelecer desempenho com método convencional	▪ Inicialmente e anualmente
	▪ Verificar estado da cânula e os pontos iniciais e finais	▪ Diariamente/a cada uso
	▪ Verificar volume dispensado	▪ Mensalmente

Continua...

...Continuação Apêndice 4

Tipo de equipamento	Requisito	Frequência sugerida
Contador de colônias	▪ Verificar com número contado manualmente	▪ Anualmente
Centrífuga	▪ Verificar velocidade com um tacômetro calibrado e independente	▪ Anualmente
Incubadoras e jarras de anaerobiose	▪ Verificar com indicador anaeróbico	▪ A cada uso
Ambiente de laboratório	▪ Monitorar quanto à contaminação microbiana do ar e das superfícies, utilizando, por exemplo, amostradores de ar, exposição de placas, placas de contato ou <i>swabs</i>	▪ Com base na avaliação de risco, e um programa de monitoramento ambiental estabelecido

Apêndice 5:

Uso geral das culturas de referência



Todas as partes do processo devem ser devidamente documentadas, mantendo-se registros detalhados de todas as etapas. Verificações de pureza e testes bioquímicos devem ser realizadas conforme o caso.

