

**ELABORAÇÃO DE PROTOCOLO DE SANITIZAÇÃO PARA CONTROLE DE  
BIOCARGA EM EQUIPAMENTOS DA PRODUÇÃO DE IFA BACTERIANA**

**DEVELOPMENT OF A SANITIZATION PROTOCOL FOR BIOBURDEN  
CONTROL IN EQUIPMENT USED IN THE PRODUCTION OF BACTERIAL IPA**

**Ana Carolina Cunha Rodrigues\***

Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, RJ  
<https://orcid.org/0009-0004-9411-7548>  
[ana.cunha@bio.fiocruz.br](mailto:ana.cunha@bio.fiocruz.br)

**Gabrielle da Silva Farias**

Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, RJ  
<https://orcid.org/0009-0004-1895-9794>  
[gabrielle.farias@bio.fiocruz.br](mailto:gabrielle.farias@bio.fiocruz.br)

**Érika Souza de Lima Silva**

Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, RJ  
<https://orcid.org/0009-0009-2568-9688>  
[erika.souza@bio.fiocruz.br](mailto:erika.souza@bio.fiocruz.br)

**Debora Elias de Oliveira Rocha**

Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, RJ  
<https://orcid.org/0009-0008-1590-4578>  
[delias@bio.fiocruz.br](mailto:delias@bio.fiocruz.br)

**Isabelly Santos Pereira**

Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, RJ  
<https://orcid.org/0009-0006-4694-4869>  
[isabelly.santos@bio.fiocruz.br](mailto:isabelly.santos@bio.fiocruz.br)

**Ana Maria Pereira dos Santos**

Fundação Oswaldo Cruz, FIOCRUZ, RJ  
<https://orcid.org/0000-0003-2159-6168>  
[anamaria@bio.fiocruz.br](mailto:anamaria@bio.fiocruz.br)

**\*Autor por correspondência**

Artigo Científico  
Submetido em: 20.06.2026  
Aprovado em: 04.07.2026

## RESUMO

O controle dos níveis de biocarga é um pré-requisito para processos produtivos de insumos farmacêuticos ativos, pois a maioria dos produtos formulados são sensíveis e não podem ser esterilizados em seu frasco final. Nesse contexto, o presente trabalho aborda a elaboração de um protocolo de sanitização de equipamentos industriais em uma instalação produtiva brasileira de bioprodutos de origem bacteriana, a partir da constatação de perda do controle microbiológico em lotes experimentais, tendo como base requisitos regulatórios. O estudo mostrou que o ácido peracético 0,07% p/v (Divosan® 0,5%) apresentou melhor desempenho como agente saneante em casos de contaminação. Por sua vez, o sistema de filtração tangencial utilizando o reagente hidróxido de sódio (NaOH) 0,5 M foi utilizado como alternativa por particularidades do equipamento. Outras estratégias efetivas foram o ajuste da periodicidade entre limpezas em parada de produção, a cada 10 dias e aumento das concentrações de NaOH empregadas nas limpezas de rotina. Por fim, a simulação do processo para determinação da biocarga basal intrínseca demonstrou que as operações unitárias não agregaram contaminantes ao produto. Também foram elencadas ações mitigatórias gerais adotadas na estratégia de controle de contaminação, como o reforço das práticas de sanitização dos materiais, que contribuíram para os resultados alcançados. O monitoramento posterior nos lotes subsequentes revelou a eficácia das ações para o controle da biocarga, abaixo do limite de 10 UFC/100ml.

**Palavras-Chave:** Biocarga. Equipamentos industriais. IFA bacteriano. Produtos esterilizados por filtração.

## ABSTRACT

Controlling bioburden levels is a prerequisite to produce active pharmaceutical ingredients, as most formulated products are sensitive and cannot be sterilized in their final containers. In this context, this study addresses the development of a sanitation protocol for industrial equipment at a Brazilian production facility for bacterial bioproducts, based on the observation of loss of microbiological control in experimental batches, in accordance with regulatory requirements. The study showed that Divosan® 0.5% performed better as a sanitizing agent in cases of contamination. In turn, the tangential flow filtration system with 0.5 M sodium hydroxide (NaOH) was used as an alternative due to the specific characteristics of the equipment. Other effective strategies included adjusting the frequency of cleaning during production downtime to every 10 days and increasing the concentrations of NaOH used in routine cleanings. Finally, the simulation of the process to determine the intrinsic baseline bioburden demonstrated that unit operations did not introduce contaminants into the product. General mitigation measures adopted in the contamination control strategy, such as strengthening material sanitization practices, were also listed and contributed to the results achieved. Subsequent monitoring of subsequent batches revealed the effectiveness of the measures for controlling the bioburden, which remained below the limit of 10 CFU/100 ml.

**Keywords:** Bioburden. Industrial equipment. Bacterial IFA. Filtration-sterilized products.

## 1 INTRODUÇÃO

A biocarga ou carga microbiana, por definição, consiste na população viável de micro-organismos em um produto antes da esterilização (EMA, 2019). Ela é considerada contaminação quando esta contagem excede a especificação em matérias-primas, meios,

substâncias biológicas, intermediários ou produtos (IN 36/2019). A origem desses micro-organismos viáveis está associada a diversos fatores, como o próprio produto, matérias-primas, pessoas, equipamentos, o ambiente fabril, embalagens e águas (PDA, Technical Report 69, 2015). A presença de biocarga no meio pode: degradar princípios ativos, alterar propriedades físico-químicas e representar risco significativos ao paciente, podendo acarretar desde infecções esporádicas até óbito (Tyski; Burza; Laudy; 2025).

O Guia PIC/S (*Pharmaceutical Inspection Cooperation Scheme* – Esquema de Cooperação em Inspeção Farmacêutica) é definido como um conjunto de diretrizes internacionais que tem por finalidade harmonizar padrões de inspeção de Boas Práticas de Fabricação (BPF) de medicamentos e insumos farmacêuticos. O Anexo 1 de 1971 – que aborda diretrizes para fabricação de produções estéreis – foi revisado em 2022, e entrou em vigor a partir de 25 de agosto de 2023. Este acontecimento representa, portanto, um marco regulatório brasileiro, uma vez que a Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) integra o Programa desde 2021 e encontra-se em processo de atualização da Instrução Normativa (IN) N° 35/2019 que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação complementares a Medicamentos Estéreis (Brasil, 2025).

Para produtos que não podem ser esterilizados em seu recipiente final, o Anexo 1 estabelece que o processamento do produto deve incluir uma etapa de filtração com filtro esterilizante com tamanho nominal de poro máximo de 0,22 µm seguida de envase em recipiente previamente esterilizado. Podem ser utilizadas diversas etapas de filtração ao longo do processo para garantir uma carga microbiana baixa e controlada do líquido antes do filtro esterilizante final, considerando-se um processo de CCS (*Contamination Control Strategy* - Estratégia de Controle de Contaminação) geral. Além disso, a biocarga do produto deve ser monitorada imediatamente após a filtração esterilizante e no produto a granel para assegurar confiabilidade – cabe ressaltar que as amostragens não devem agregar riscos de contaminação ao insumo farmacêutico ativo (IFA) (ANEXO 1 do Guia PIC/S, 2023).

A versão atual da IN N° 35/2019 define que a biocarga do produto deve ser monitorada previamente à esterilização, a qual deve estar dentro de limites estabelecidos, com base na eficiência do método de esterilização adotado. A instrução enfatiza a amostragem por lote, sendo considerada parte do controle em processo de produtos esterilizados terminalmente e/ou envasados assepticamente – esta frequência pode ser alterada após parametrização para momentos definidos e adequados (IN N°35/2029).

Portanto, a verificação da carga microbiana em produtos assépticos é imprescindível, e deve ser tratada como parte intrínseca da produção de insumos farmacêuticos estéreis. Trata-se

de um requisito para conformidade do produto, devendo ser implementada considerando os métodos de esterilização utilizados.

No âmbito das operações unitárias, a RDC N° 654/2022, que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Insumos Farmacêuticos Ativos, preconiza que, em processos de recuperação e purificação, os limites de biocarga devem ser estabelecidos e monitorados (RDC N° 654/2022). Durante a execução do estudo o limite estabelecido para biocarga antes da filtração esterilizante foi de 10 UFC/100 mL, isto é, 10 unidades formadoras de colônia para cada 100 mL de amostra.

### 1.1 DESCRIÇÃO DE CASO – VERIFICAÇÃO DE PERDA DO CONTROLE MICROBIOLÓGICO

O desenvolvimento do presente trabalho ocorreu no Departamento de Vacinas Bacterianas de uma indústria farmacêutica após constatação da perda de controle microbiológico na planta de produção, nos lotes de engenharia (lotes experimentais de parametrização de processo). Os resultados insatisfatórios de biocarga foram detectados em amostras de produtos antes da esterilização final por filtração e em amostras de água de rinsagem de equipamentos em diferentes etapas de *downstream* da produção de IFA esterilizado antes do processamento final. O fluxo do processo produtivo em questão está descrito no Quadro 1.

**Quadro 1:** Fluxograma de operações unitárias de *downstream* da fabricação do IFA bacteriano.



Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 ELABORAÇÃO DOS PROCEDIMENTOS

A estratégia experimental empregada para o controle da biocarga em equipamentos farmacêuticos está apresentada na

Fonte: Elaborado pelos autores (2026).

. O estudo foi conduzido utilizando o sistema cromatográfico industrial como modelo inicial para seleção do agente saneante, seguido da aplicação do protocolo otimizado em equipamentos produtivos com histórico de elevada carga microbiana – microfluidizador e sistema de ultrafiltração (*Tangential Flow Filtration* - TFF).

**Figura 11: Etapas da metodologia em ordem cronológica.**



**Fonte:** Elaborado pelos autores (2026).

Inicialmente, foi realizada a consulta técnica aos fabricantes dos equipamentos para avaliação da compatibilidade química dos materiais construtivos com diferentes agentes saneantes, visando garantir a proteção dos componentes críticos do equipamento. Essas informações subsidiaram a definição segura dos agentes candidatos à sanitização - ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) 1% p/v, Divosan® 0,5 % p/v e hidróxido de sódio (NaOH 0,5 M e NaOH 0,01 M).

Após a execução do procedimento de limpeza com os agentes saneantes, cada equipamento foi rinsado utilizando água para injetáveis (WFI - *Water For Injection*). Esta etapa teve como finalidade a remoção efetiva do agente para evitar qualquer interferência decorrente de resíduos remanescentes do produto nas amostras. A avaliação e o monitoramento ocorreram por meio da aferição do pH da WFI após sua passagem pelo equipamento. Em seguida, foram realizadas amostragens para determinação da biocarga, sendo analisada a água de rinsagem proveniente do processo.

Uma análise crítica foi conduzida com base nos resultados de redução microbiana obtidos após a sanitização com cada saneante utilizado. A partir dessa avaliação, foi definido o saneante mais eficaz, que passou a compor o protocolo de ação corretiva para casos de resultados insatisfatórios de biocarga.

Adicionalmente, foram realizados ajustes no procedimento de estocagem dos equipamentos. A adequação da concentração da solução de armazenamento foi contemplada, bem como a frequência de troca da solução durante as paradas de produção, procedimento utilizado quando o equipamento encontra-se aguardando cronograma produtivo, estocado em solução de hidróxido de sódio.

A verificação da efetividade do protocolo implementado foi realizada por meio do monitoramento contínuo da biocarga dos equipamentos após sanitização. Em paralelo, foi realizada a avaliação da presença de biocarga nos circuitos nas condições de processo com o objetivo de determinar a carga microbiana basal referente ao sistema produtivo e os equipamentos, independentemente da fabricação do produto. Para essa etapa, foi conduzida uma simulação de forma representativa das condições reais de processo, utilizando solução de cloreto de sódio (NaCl) 0,15 M.

A solução foi preparada e utilizada na reprodução das etapas de processo de purificação, simulando o produto. Amostras da solução de NaCl 0,15 M foram coletadas em três momentos distintos: (1) após o preparo da solução, (2) antes da sua utilização no processo e (3) após o contato e a transferência pelos sistemas avaliados. As amostras coletadas foram submetidas à determinação da biocarga, possibilitando a identificação de potenciais fontes de contaminação associadas às etapas operacionais, aos equipamentos e aos operadores durante o processo.

## 2.2 ANÁLISE DE IDENTIFICAÇÃO DE CONTAMINANTES

A execução dos testes de identificação de contaminantes foi realizada pela equipe de controle em processos do Departamento Controle de Qualidade, empregando-se todas as técnicas assépticas na execução do ensaio, em cabine de segurança biológica previamente sanitizada com solução de álcool 70% e submetida a irradiação ultravioleta (UV) por um tempo mínimo de 30 minutos. O horário de coleta até o início da análise, assim como o transporte e as condições de armazenamento foram monitorados.

Inicialmente, as amostras foram filtradas, por meio de bomba peristáltica, em membrana de porosidade 0,45 µm, previamente umedecida com tampão PBS (*Phosphate-Buffered Saline* ou Solução Salina Tampão Fosfato). Posteriormente, cada membrana foi lavada três vezes com 100 mL de PBS e incubada em placa de meio de cultura específico em incubadora bacteriológica, por no mínimo cinco dias, acompanhadas por leitura visual diariamente. Para cada lote, foi avaliada uma amostra do controle negativo no início e final da análise - a partir da filtração de 100 mL de PBS (Clontz, 2009).

As amostras foram filtradas de acordo com volume específico, conforme estabelecido em plano de amostragem, e subsequentemente incubadas a  $32,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$  em placas com meio de cultura triptona de soja (TSA) e a  $22,5^{\circ}\text{C} \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ , em meio de ágar dextrose Sabouraud (SDA). As amostras de IFA antes da filtração esterilizante de água de rinsagem dos sistemas cromatográficos e microfluidizadores tiveram filtração de 200 mL, enquanto amostras de intermediários após a filtração tangencial e água de rinsagem do sistema de filtração tangencial foram utilizados 10 mL. O critério para estabelecer os volumes de amostragem foi baseado no tamanho do lote de cada processo.

A leitura das placas foi realizada diariamente, com os resultados registrados em formulários específicos para fins de monitoramento e liberação do processo. Para as amostras analisadas, os resultados foram considerados satisfatórios quando a contagem de contaminantes foi  $\leq 10$  UFC/100 mL antes da etapa de filtração final. Resultados com contagem superior a 250 UFC por placa foram classificados como incontáveis.

Os resultados obtidos foram registrados no sistema eletrônico de Controle de Qualidade da empresa. Cabe ressaltar que as amostras analisadas fizeram parte de um plano de estudo, portanto, os resultados foram informativos.

### 2.3 ANÁLISE DE RISCO E ELABORAÇÃO DA ESTRATÉGIA DE CONTROLE DE CONTAMINAÇÃO

A Estratégia de controle de contaminação (CCS) foi elaborada com base na análise de risco de processo, feita com o emprego da ferramenta FMEA, conforme diretrizes da ABNT NBR ISO 31000 (2018) e diretrizes internacionais IEC 60812:2006. Cada etapa do processo foi avaliada, a fim de verificar possíveis falhas de processo e definições de ações mitigatórias.

A análise de risco subsidiou informações relevantes para a elaboração da estratégia de controle de contaminação, como planejamento para mitigações de contaminações futuras na área produtiva, identificação de melhorias quanto as matérias-primas, os equipamentos, as rotas de processo, a conduta dos operadores, os métodos e as técnicas operacionais.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados obtidos a partir da identificação microbiológica das amostras de água de rinsagem (WFI) demonstraram diferenças significativas na eficácia dos agentes saneantes avaliados. A sanitização realizada com ácido fosfórico a 1% (p/v) mostrou-se insuficiente para a redução da contaminação microbiológica previamente observada nos equipamentos. Após a aplicação do procedimento de limpeza, verificou-se a persistência dos micro-organismos:

*Stenotrophomonas maltophilia* e *Bacillus cereus*, anteriormente identificados nos resultados iniciais insatisfatórios de biocarga, conforme descrito na tabela 1. Desta forma, evidenciou-se baixa efetividade do saneante frente aos contaminantes presentes no sistema. Esse resultado sugere uma possível tolerância microbiana, proteção conferida por biofilmes ou limitação do mecanismo de ação do agente frente às bactérias existentes no equipamento.

A sanitização utilizando Divosan® a 0,5% (p/v) promoveu redução significativa da carga microbiana, evidenciada pela ausência de crescimento, bem como crescimento abaixo de 3 unidades formadoras de colônia - UFC/100 mL na água de rinsagem (Tabela 1). Os resultados indicaram desempenho superior deste saneante se comparado ao ácido fosfórico, demonstrando elevada eficácia na inativação dos micro-organismos presentes nos sistemas avaliados.

A maior eficiência observada pode ser atribuída ao mecanismo de ação oxidativa do Divosan® (KIM e HUANG, 2020), capaz de promover a destruição de micro-organismos associados à formação de biofilmes, frequentemente relacionados à persistência de contaminações em equipamentos farmacêuticos. Conforme relatado na literatura o desinfetante apresenta eficiência contra biofilmes compostos por multiespécies de micro-organismos (Bachlechner, 2026).

Com base nos resultados demonstrados na Tabela 1, o Divosan® 0,5% foi definido como agente saneante para aplicação em protocolos de limpeza de equipamentos para casos especiais, como resultados insatisfatórios de biocarga, contribuindo para o fortalecimento da estratégia de controle microbiológico dos equipamentos produtivos. Há exceção do TFF, pois este se trata de um caso à parte devido à incompatibilidade do equipamento com os ácidos, o qual seguiu com sanitização alternativa com NaOH 0,5 M, conforme recomendado pelo fabricante.

**Tabela 1. Resultados de monitoramento de carga microbiana por equipamento ao longo das etapas de resolução da contaminação inicial.**

| Equipamento             | Micro-organismos identificados em águas de rinsagem                                                               |                                     |                                   |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|
|                         | Antes da sanitização com os saneantes selecionados                                                                | Após Sanitização com $H_3PO_4$ 1%   | Após Sanitização com Divosan 0,5% |
| Sistema Cromatográfico  | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>                                                                               | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | Ausência de crescimento           |
| Coluna cromatográfica B | <i>Paenibacillus amylolyticus/lautus</i><br><i>Ochrobacterium anthropi</i><br><i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | <i>Cytobacillus solani/paedi</i>    | Ausência de crescimento           |
| Coluna cromatográfica C | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i><br><i>Bacillus cereus group</i>                                               | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | 2 UFC não identificados           |

|                                       |                                                                     | <i>Bacillus cereus group</i>                |                         |
|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------|
| Coluna cromatográfica D               | <i>Brevibacillus choshinensis</i><br><i>Pseudomonas fluorescens</i> | <i>Paenibacillus sp</i>                     | 3 UFC não identificados |
| Coluna cromatográfica E               | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>                                 | <i>Cytobacillus solani</i>                  | Ausência de crescimento |
| Equipamento                           | Antes da sanitização com os saneantes selecionados                  | Após Sanitização com NaOH 0,5M              |                         |
| Sistema de Filtração Tangencial (TFF) | <i>Ralstonia mannitolilytica</i>                                    | <i>Ralstonia mannitolilytica/ insidiosa</i> |                         |
|                                       | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>                                 | <i>Lysinibacillus sphaericus/fusiformis</i> |                         |

**Legenda:** UFC – Unidades formadoras de colônias.

**Fonte:** Autores, 2026.

É importante destacar que durante o período de condução deste estudo, na unidade fabril avaliada, amostras com resultados de UFC abaixo do limite de especificação não eram submetidas à identificação de contaminantes. Desta forma, a identificação dos micro-organismos foi realizada somente devido aos eventos de contaminação microbiana.

Paralelamente, visando mitigar a reincidência de resultados fora da especificação, foram implementados ajustes nas concentrações de NaOH empregadas nas sanitizações de rotina dos equipamentos. De acordo com Bechtold-Peters *et al.* (2024), um protocolo de controle de biocarga deve considerar a utilização da ferramenta de análise de risco para a otimização das condições de processo como melhoria da capacitação e paramentação dos operadores, controle das matérias primas e utilidades, otimizações em tempo e temperaturas de estocagem, validação dos procedimentos de limpeza dos equipamentos, considerando neste aspecto o tempo da contato de solução saneante no equipamento, concentração da solução e a frequência das sanitizações. Portanto, foi realizada a redução do tempo entre sanitizações de rotina dos equipamentos, sendo definido um intervalo de 10 dias como estratégia preventiva para manutenção de um ambiente microbiológico controlado durante períodos operacionais e de paradas de produção (estocagem). Adicionalmente, a concentração de NaOH das sanitizações de rotina foi aumentada em cinco vezes – de 0,01 M para 0,05 M e de 0,1 M para 0,5 M, a depender do equipamento.

Com base no conjunto de melhorias adotadas na planta industrial, dentre as quais está a elaboração do protocolo de sanitização otimizada para controle microbiológico de equipamentos, foi possível a obtenção do produto dentro dos limites de especificação de biocarga antes da etapa de filtração esterilizante, atendendo ao critério microbiológico

estabelecido no PIC/S Anexo I ( $\leq 10$  UFC/100 mL antes da filtração final). Além disso, foi possível controlar os níveis de biocarga nos equipamentos, conforme apresentado na Tabela 2.

**Tabela 2: Quantificação de biocarga antes dos equipamentos e do produto antes da filtração esterilizante expressos em (UFC/100 mL).**

| Amostra          | Equipamento/<br>Etapa            | Antes da otimização das limpezas |        |        | Depois da otimização das limpezas |        |        |
|------------------|----------------------------------|----------------------------------|--------|--------|-----------------------------------|--------|--------|
|                  |                                  | Lote 1                           | Lote 2 | Lote 3 | Lote 1                            | Lote 2 | Lote 3 |
| Água de rinsagem | Sistema de Ultrafiltração (TFF)  | 16                               | 25     | 10     | 0                                 | 2      | 0      |
| Água de rinsagem | Microfluidizador                 | 8                                | 1      | 1      | 0                                 | 0      | 0      |
| Água de rinsagem | Sistema Cromatográfico           | INC                              | INC    | INC    | 13                                | 44     | 90     |
| Produto          | Antes da Filtração Esterilizante | INC                              | INC    | INC    | 5                                 | 2      | 9      |

**Legenda:** INC: incontáveis.

**Fonte:** Autores, 2026.

Os resultados demonstraram que o controle efetivo da biocarga não depende exclusivamente da escolha do agente saneante, mas da combinação de parâmetros operacionais, incluindo o tempo de contato da solução sanitizante com as superfícies internas do equipamento, a concentração empregada e a frequência de execução. Esses fatores atuam de forma integrada na prevenção da formação e persistência de biofilmes, frequentemente associados à recorrência de contaminações microbiológicas em sistemas farmacêuticos.

Na simulação de processo, todos os pontos de amostragem avaliados demonstraram resultados satisfatórios  $< 10$  UFC/100 mL. Isto sugere que não há presença significativa de carga microbiana basal associada às atividades - operações unitárias, montagens e manipulação. Dessa forma, os resultados reforçam que as ocorrências prévias de biocarga elevada não estavam relacionadas a uma contaminação intrínseca do sistema produtivo, mas possivelmente às condições específicas de sanitização, armazenamento ou frequência inadequada das rotinas de limpeza previamente adotadas.

A ausência de biocarga basal confirma a eficácia das práticas de manipulação, das condições ambientais e do estado de controle microbiológico dos equipamentos, evidenciando que o processo, quando operado sob parâmetros sanitários adequados e controlados, apresenta baixo risco de introdução de contaminação microbiológica. Considerando que o produto biofarmacêutico é exposto, ao longo do processo produtivo, a diversas fontes potenciais de contaminação - incluindo matérias-primas, equipamentos, operadores e métodos operacionais, os resultados obtidos neste estudo permitiram identificar e avaliar essas fontes ao longo das etapas produtivas. Com isso, foi possível o desenvolvimento de ações mitigatórias dos pontos

de controle críticos e dos riscos associados à contaminação, identificados na CCS, capazes de reduzir o potencial de contaminação nos processos produtivos (Tabela 3), contemplando detecção, investigação e mitigação das fontes potenciais de contaminação ao longo das operações unitárias.

**Tabela 3: Estratégia de Controle de Contaminação Microbiológica do processo farmacêutico avaliado.**

| <b>Fonte de Contaminação</b>           | <b>Possíveis causas de contaminação</b>                                                                                                                                                                                                                        | <b>Avaliação realizada</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | <b>Estratégia de Mitigação Implementada</b>                                                                                                                                           |
|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Matérias-primas</b>                 | - Contaminantes durante o processo de produção da solução.<br><br>- Nível de biocarga nos recipientes utilizados para o preparo das soluções.                                                                                                                  | - Limpeza dos recipientes de preparo de soluções.<br><br>- Revisão do preparo de soluções.<br><br>- Análise de biocarga após o preparo das soluções.                                                                                                                                                                                                                               | - Reforço das práticas de sanitização dos materiais utilizados no preparo de materiais.                                                                                               |
| <b>Equipamentos</b>                    | - Superfícies não sanitizadas completamente.<br><br>- Frequência de sanitização inadequada, com longos períodos de estocagem dos equipamentos em paradas de produção.<br><br>- Solução de estocagem com concentração baixa.<br><br>- Agente saneante ineficaz. | - Estrutura do equipamento e possíveis compatibilidades de saneantes com o fornecedor.<br><br>- Agentes saneantes compatíveis (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 1% e Divosan® 0,5%).<br><br>- Histórico dos resultados de biocarga e dos contaminantes existentes nos equipamentos.<br><br>- Biocarga da água de rinsagem (WFI), após sanitizações.<br><br>-Eficácia de sanitização. | - Implementação do Divosan® 0,5% para limpezas especiais.<br><br>- Ajuste da concentração de NaOH de 0,1M para 0,5M.<br><br>- Aumento da frequência de sanitização para cada 10 dias. |
| <b>Rotas de processo</b>               | - Carga microbiana basal atrelada ao processo.                                                                                                                                                                                                                 | -Concentração da solução de armazenamento de NaOH.<br>- Simulação do processo de purificação com solução de NaCl 0,15 M.<br><br>-Análise de biocarga da solução em amostras retiradas no preparo, pré-uso e pós-contato com equipamentos.                                                                                                                                          | - Confirmação da ausência de contaminação associada ao processo produtivo de purificação.                                                                                             |
| <b>Operadores</b>                      | - Técnica asséptica inadequada                                                                                                                                                                                                                                 | - Condutas dos operadores durante simulação do processo.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | - Reforço do uso de luvas e máscaras.<br><br>- Treinamento dos operadores nas etapas do processo.                                                                                     |
| <b>Métodos e técnicas operacionais</b> | - Processo parcialmente aberto em determinadas etapas.                                                                                                                                                                                                         | - Elaboração de estratégia de controle de contaminação para o processo.                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | - Implementação do protocolo otimizado de controle de biocarga.                                                                                                                       |

**Fonte:** Autores, 2026.

### 3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A produção biofarmacêutica da Substância Ativa (IFA) envolve equipamentos complexos operados antes da filtração esterilizante sob condições assépticas. Conforme o PIC/S Anexo I, o monitoramento de biocarga deve atender ao limite  $\leq 10$  UFC/100 mL antes da filtração final. Entretanto, geometrias complexas podem comprometer a eficácia da limpeza, exigindo o desenvolvimento de estratégias de sanitização otimizadas para garantir o controle microbiológico e a qualidade do produto estéril.

Este trabalho demonstrou que a ocorrência de resultados elevados de biocarga em equipamentos farmacêuticos pode estar diretamente associada à eficácia dos procedimentos de sanitização e às condições operacionais adotadas durante períodos produtivos e de estocagem.

A implementação de um Protocolo Otimizado de Controle de Biocarga em Equipamentos Farmacêuticos, contemplando a seleção do saneante mais eficaz, o ajuste das concentrações de NaOH utilizadas nas sanitizações de rotina e a definição da frequência adequada de sanitização, contribuiu para o restabelecimento do controle microbiológico dos equipamentos produtivos.

Acrescenta-se que a avaliação da biocarga basal das rotas do processo de purificação, demonstrou ausência de crescimento microbiológico, indicando que o sistema produtivo não apresentava contaminação própria do processo.

Como consequência das melhorias implementadas, foi possível obter um produto intermediário dentro dos limites microbiológicos especificados antes da etapa de filtração esterilizante, reduzindo o risco de falha do processo e fortalecendo a garantia da qualidade do produto. Além de atender ao processo estudado, a metodologia empregada serve como base de avaliação em outros processos farmacêuticos.

Desta forma, os resultados apresentados neste trabalho permitiram identificar, avaliar e compreender as principais fontes potenciais de contaminação ao longo do processo produtivo biofarmacêutico, possibilitando o desenvolvimento de uma Estratégia de Controle de Contaminação. Além disto, demonstraram que a construção adequada dos procedimentos de sanitização realizados contribui para o controle de contaminação do produto, garantindo a qualidade e a conformidade com o Anexo I para controle de biocarga na produção da substância ativa (IFA).

## REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Anvisa passa a integrar Comitê Executivo do PIC/S**. Brasília, DF: ANVISA, 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2025/anvisa-passa-a-integrar-comite-executivo-do-pic-s>. Acesso em: 29 abr. 2026.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Medicamentos estéreis: Anvisa realiza evento sobre revisão da IN 35/2019**. Brasília, DF: ANVISA, 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2025/medicamentos-estereis-anvisa-realiza-evento-sobre-revisao-da-in-35-2019>. Acesso em: 29 abr. 2026.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **ABNT NBR ISO 31000: gestão de riscos - Diretrizes**. Rio de Janeiro: ABNT, 2018.
- BACHLECHNER, Caroline *et al.* Biofilm properties and their implications for cleaning processes in the food industry—a review. **Journal of Food Protection**, p. 100695, 2026.
- BECHTOLD-PETERS, Karoline *et al.* Risk-based approach to setting sterile filtration microbial bioburden limits – Focus on biotech-derived products. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [S. l.], v. 198, 114151, maio 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2023.11.016>. Acesso em: 28 maio 2026.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 654, de 24 de março de 2022**. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Insumos Farmacêuticos Ativos e dá outras providências. Brasília, DF: ANVISA, 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). **Instrução Normativa nº 35, de 21 de agosto de 2019**. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação complementares a Medicamentos Estéreis. Brasília, DF: ANVISA, 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). **Instrução Normativa nº 36, de 22 de agosto de 2019**. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação complementares a Medicamentos Biológicos. Brasília, DF: ANVISA, 2019.
- CLONTZ, L. **Microbial Limit and Bioburden Tests: validation, verification, and implementation**. [S. l.]: CRC Press, 2008. *E-book*. Disponível em: [https://api.pageplace.de/preview/DT0400.9781420053494\\_A24697489/preview-9781420053494\\_A24697489.pdf](https://api.pageplace.de/preview/DT0400.9781420053494_A24697489/preview-9781420053494_A24697489.pdf). Acesso em: 28 maio 2026.
- EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA). **Guideline on the sterilization of the medicinal product, active substance, excipient and primary container**. Amsterdam: EMA, 2019. Disponível em: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-sterilization-medicinal-product-active-substance-excipient-primary-container\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-sterilization-medicinal-product-active-substance-excipient-primary-container_en.pdf). Acesso em: 28 maio 2026.
- IEC 60812:2006. **Analysis techniques for system reliability** – Procedure for failure mode and effects analysis (FMEA); International Electrotechnical Commission – second edition.

KIM, Juhee; HUANG, Ching-Hua. Reactivity of peracetic acid with organic compounds: a critical review. **Acs Es&T Water**, v. 1, n. 1, p. 15-33, 2020.

PARENTERAL DRUG ASSOCIATION (PDA). **Bioburden and biofilm management in pharmaceutical manufacturing operations**: Technical Report nº 69. Bethesda: PDA, 2015. Pharmaceutical Inspection Co-Operation Scheme (PIC/S). Guide to Good Manufacturing Practice for Medicinal Products Annexes: PE 009-17: **Annex 1**: Manufacture of Sterile Medicinal Products. Geneva: PIC/S Secretariat, 2023.

TYSKI, Stefan; BURZA, M.; LAUDY, Agnieszka Ewa. Microbiological Contamination of Medicinal Products — Is It a Significant Problem? **Pharmaceuticals**, Basel, v. 18, n. 7, 946, jun. 2025. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ph18070946>. Acesso em: 29 abr. 2026.