



**Uso de indicadores
biológicos para a
qualificação de
esterilizadores**

A qualificação de um esterilizador é o procedimento pelo qual se reúne e documenta evidência que confirme que um esterilizador, seja uma autoclave, uma câmara de óxido de etileno ou um estufa seco, é capaz de realizar ciclos de esterilização de forma reprodutível sob condições definidas.

A qualificação do esterilizador constitui uma parte crítica da garantia da qualidade na indústria farmacêutica, na área da saúde e em laboratórios, pois garante que os processos de esterilização sejam eficazes e atendam aos padrões regulatórios.

Passos a seguir para a qualificação de um esterilizador

Após a instalação de um novo esterilizador, recomenda-se realizar um processo de qualificação que confirme a correta configuração e a segurança operacional do equipamento.

1. Qualificação da instalação (IQ, sigla em inglês)

Esta etapa consiste em verificar a correta instalação do esterilizador e de todos os seus componentes. Os serviços críticos associados, tais como eletricidade, água e fornecimento de ar, juntamente com os elementos de segurança e demais componentes do sistema, devem cumprir as especificações do fabricante e os requisitos regulatórios aplicáveis.

Da mesma forma, deve-se verificar que o equipamento esteja acompanhado da documentação técnica correspondente e que esta esteja completa, precisa e correta.

2. Qualificação operacional (OQ, sigla em inglês)

Esta etapa tem como objetivo validar que o esterilizador funcione conforme aos parâmetros especificados, avaliando temperatura, pressão e tempos de ciclo. Também se verifica a exatidão dos sistemas de medição e dos diferentes pontos de controle, bem como a distribuição uniforme da temperatura dentro da câmara.

Trata-se de uma fase chave na qual o processo é otimizado e sua robustez e confiabilidade são avaliadas sob as condições mais exigentes.

3. Qualificação de desempenho (PQ, sigla em inglês)

A finalidade desta etapa é demonstrar que o esterilizador, quando utilizado conforme o previsto, é capaz de realizar ciclos de esterilização de forma consistente sob as condições operacionais de rotina.

Esta fase é fundamental para determinar se o processo é reprodutível de maneira confiável e se o operador está devidamente capacitado.

Nesta etapa, é fundamental realizar ensaios com diferentes configurações de carga, momento em que se torna relevante o monitoramento com indicadores biológicos e indicadores químicos.

Uso de indicadores biológicos na qualificação de desempenho (PQ)

Para avaliar a letalidade do processo de esterilização e demonstrar que ele elimina de forma consistente microrganismos de alta resistência sob condições reais ou simuladas, é essencial o uso de indicadores biológicos (IB).

Os IB são dispositivos de teste padronizados que contêm uma população conhecida de esporos bacterianos com alta resistência (também conhecida), geralmente *Geobacillus stearothermophilus* para processos a vapor, ou *Bacillus atrophaeus* para esterilização por calor seco e óxido de etileno (OE).

Os IB devem ser colocados nas áreas da câmara que representem o maior desafio à penetração do agente esterilizante, por exemplo, zonas frias ou com carga muito densa ou compacta.

Após a conclusão do ciclo de esterilização, os IB devem ser incubados em tempo e temperatura adequados para verificar se ocorre crescimento microbiano. A ausência de crescimento confirma um processo de esterilização bem-sucedido, enquanto a presença de crescimento indica uma falha no processo.

Não se observa crescimento	=	Resultado negativo	=	Esterilização bem-sucedida
Se observa crescimento	=	Resultado positivo	=	Falha na esterilização

Razões para evitar a leitura por fluorescência dos IB durante a PQ

Os IB autocontidos (SCBI, sigla em inglês) são projetados para oferecer tempos de leitura mais curtos, antecipando-se ao crescimento bacteriano, por exemplo, por meio de métodos de detecção por fluorescência. A leitura por fluorescência detecta atividade enzimática (por exemplo, α -glicosidase) ou marcadores proteicos, permitindo inferir indiretamente a viabilidade microbiana sem evidenciar o crescimento real de esporos.

No entanto, as leituras rápidas por fluorescência não são recomendadas para a PQ de esterilizadores, pois não atendem aos requisitos regulatórios nem ao nível de rigor de validação esperado para esses fins.

1. Marco regulatório

As agências regulatórias, como o FDA, e os organismos de padronização (USP, AAMI) estabelecem que a PQ deve ser realizada com métodos baseados na observação **direta** do crescimento. Para esses métodos, utilizam-se IB convencionais ou qualquer tipo de IB, desde que o resultado seja obtido após incubações tradicionais (7 dias) por meio da observação da formação de colônias.

As entidades mencionadas consideram que os métodos de detecção indireta, como as leituras precoces baseadas em fluorescência, carecem da robustez e da aceitação histórica que os métodos de validação baseados em crescimento oferecem.

2. Atividade enzimática residual e seu papel nos sinais de fluorescência

Os SCBI com leitura por fluorescência são projetados com o que se conhece como margem de segurança, a qual se baseia na detecção de atividade enzimática residual que pode persistir mesmo após a perda de viabilidade dos esporos. Isso melhora a sensibilidade do sistema e reduz o risco de resultados falso-negativos em leituras rápidas.

No entanto, essa mesma sensibilidade pode levar à obtenção de resultados falso-positivos, o que é contraproducente em procedimentos como a PQ de um esterilizador. Considerando que a PQ tem como objetivo confirmar a inativação completa de uma população microbiana de 10^6 UFC, um sinal de fluorescência positivo, ainda que não represente uma falha no processo de esterilização, pode introduzir incerteza na interpretação dos resultados.

Além disso, diferentemente das leituras por fluorescência, a incubação convencional permite detectar esporos de crescimento lento ou de viabilidade marginal provenientes de casos limite

ou ciclos marginais, o que constitui um fator crítico para garantir uma PQ precisa.

Compreender a natureza e a correta interpretação dos resultados por fluorescência é indispensável para alcançar uma PQ adequada.

3. Dados quantitativos limitados

A PQ geralmente requer dados quantitativos, tais como valor D, reduções logarítmicas em diferentes pontos da carga e o impacto de dispositivos de desafio do processo (PCD, sigla em inglês) sobre a inativação microbiana.

As leituras por fluorescência inferem a viabilidade microbiana de forma indireta e precoce, mas não fornecem evidência direta do crescimento real de esporos. Por outro lado, as leituras convencionais permitem a observação direta da germinação e do crescimento de esporos, possibilitando a obtenção de dados quantitativos.

4. A leitura por fluorescência é projetada para a rapidez, não para a profundidade

A leitura por fluorescência foi desenvolvida para acelerar a obtenção de resultados e facilitar uma tomada de decisão mais rápida, otimizando assim o processo de monitoramento da esterilização. Os tempos de resposta foram significativamente reduzidos para 4 horas, 1 hora, 20 minutos e até mesmo apenas 5 minutos ou 7 segundos.

Por essa razão, as leituras por fluorescência são adequadas para o monitoramento rotineiro de cargas e a avaliação da compatibilidade do ciclo com os materiais da carga. No entanto, embora a leitura por fluorescência represente um avanço importante no monitoramento da esterilização, a PQ é um processo formal e documentado que exige mais do que um resultado rápido: requer dados robustos e verificáveis que demonstrem a eficácia do processo.

Comparação entre os métodos de leitura convencionais e as leituras por fluorescência para PQ

Aspecto	Resultado convencional	Resultado de fluorescência
Método de detecção	Direto: baseado no crescimento	Indireto: atividade enzimática, composição proteica
Aceitação regulatória	Aceito para PQ (USP, ISO, FDA)	Não aceite para PQ, a menos que seja validado em comparação com um IB convencional nas mesmas condições de carregamento.
Tempo de obtenção do resultado	24 horas - 7 dias	7 segundos - 4 horas
Uso ideal	PQ, validação, conformidade regulatória	Monitorização de rotina, verificação de ciclo rápido

Referências

•Association for the Advancement of Medical Instrumentation. (2017). *Guia abrangente para a esterilização por vapor e garantia de esterilidade em instalações de assistência à saúde* (ANSI/AAMI ST79:2017 e A1-A4). AAMI. (Reconhecimento FDA: 14-562)

•Association for the Advancement of Medical Instrumentation. (2020). *Projeto, teste e rotulagem de dispositivos médicos reutilizáveis para seu reprocessamento em instalações de saúde: Guia para fabricantes de dispositivos* (AAMI TIR12:2020). AAMI. (Reconhecimento U.S. Food and Drug Administration: 14-602)

•International Organization for Standardization. (2019). *Indicadores biológicos — Parte 7: Guia para a seleção, uso e interpretação de resultados* (ISO 11138-7:2019). ISO. (Número de reconhecimento U.S. Food and Drug Administration: 14-610)

•U.S. Food and Drug Administration. (2008). *Guia para a indústria: Apresentação e revisão das informações de esterilidade nas notificações pré-comercialização (510(k)) para dispositivos rotulados como estéreis*. <https://www.fda.gov/media/70865/download>

•U.S. Pharmacopeial Convention. (2024). <1229.5> *Indicadores biológicos para esterilização*. Em *Farmacopeia dos Estados Unidos e Formulário Nacional* (USP 47-NF 42). <https://www.uspnf.com>

•World Health Organization & Pan American Health Organization. (2016). *Descontaminação e reprocessamento de dispositivos médicos para estabelecimentos de saúde*. World Health Organization.

TerraGente

