

# Introdução de uma de barreira para reduzir o risco de contaminação microbiológica de produtos estéreis durante o processo de enchimento

## Introduction of a barrier to reduce the microbiological risk in sterile products during the filling process

Guilherme Neves Ferreira<sup>1</sup> & Sergio Machado Corrêa<sup>2</sup>

**RESUMO** – Durante as etapas de fabricação de produtos farmacêuticos estéreis, vários cuidados devem ser tomados para evitar a contaminação dos mesmos. Este trabalho representa uma análise prática sobre a vantagem do uso de uma camiseta sob o uniforme de trabalho, para eliminar ou reduzir ocorrências de contaminação em placas de contato, utilizadas em monitoramento microbiológico na região abdominal de operadores de salas limpas. Para tanto, foram utilizados dados de monitoramento microbiológico dos anos de 2004, 2005 e 2006, de duas linhas de produção, e comparados com os dados do ano de 2007 quando então a mencionada barreira física foi utilizada. Analisando os resultados, pode-se concluir que o uso da camiseta não eliminou tais ocorrências de contaminação, mas as reduziu em cerca 50%, demonstrando desta forma sua contribuição para mitigação de riscos.

**PALAVRAS-CHAVE** – Barreira, contaminação microbiológica.

**SUMMARY** – During the manufacturing of sterile pharmaceutical products several cares must be taken in order to avoid their contamination. This study presents a practical analysis about the advantage of using an undershirt under the operational garment, to eliminate or reduce the contact plates contamination used in microbiological monitoring on the operators' abdominal area in clean rooms. For this proposal, there were used data from 2004, 2005 and 2006 monitoring controls and compared with 2007 when the physical barrier was used. Analyzing the results it can be concluded that the garment use did not eliminate totally the contamination occurrences but reduced in about 50%, showing its contribution for the risk mitigation.

**KEYWORDS** – Barrier, microbiological contamination.

### INTRODUÇÃO

A indústria farmacêutica ao longo dos últimos 50 anos teve um desenvolvimento muito grande não somente com relação aos fármacos descobertos para o tratamento de inúmeras doenças, mas também, pelo emprego de técnicas cada vez mais eficazes, que visam a qualidade do medicamento e a segurança no seu uso.

Os produtos farmacêuticos compreendem várias formulações que se classificam em diversas formas farmacêuticas de acordo com a via de administração. Todas as formas farmacêuticas requerem boas condições de limpeza do ambiente de manufatura e que são monitorados através de controles microbiológicos e verificação de parâmetros físicos, como temperatura, umidade, número de partículas no ambiente, etc. O ar que respiramos é repleto de partículas poluentes, principalmente nas grandes cidades, onde a poluição é maior, face ao grande número de fontes de poluição fixas e móveis. De uma forma geral, embora estejamos sujeitos a essa poluição, somen-

te vamos sentir seus efeitos na saúde ao longo do tempo. Porém, em alguns casos específicos, particularmente na indústria farmacêutica, o ar que entra em contato com os medicamentos, deve estar livre de determinados poluentes, em especial, as partículas, sejam elas orgânicas ou inorgânicas.

Os limites e parâmetros utilizados são distintos e seus critérios estão diretamente relacionados à forma farmacêutica em questão. Assim sendo, por exemplo, os limites aceitos para parâmetros microbiológicos em uma sala de fabricação de ampolas, são mais rígidos do que em uma sala de fabricação de supositórios.

Há alguns anos atrás, uma sala de enchimento de ampolas, embora limpa e bem organizada, era composta de materiais que hoje estão sendo substituídos por outros mais apropriados, sempre com o intuito de reduzir ao máximo a geração de partículas e o crescimento de microrganismos. No passado, o ar insuflado em uma sala de enchimento não era filtrado e nem existiam aparelhos para a contagem de partículas. Além disso, embora já houvesse o monitora-

Recebido em 22/12/2008

<sup>1</sup>Engenheiro químico, Farmacêutico industrial pela UFF e aluno do curso de mestrado em química da UERJ

<sup>2</sup>Químico, mestre e doutor em físico-química pela UFRJ e docente do curso de pós-graduação em química da UERJ

mento microbiológico do ambiente, os métodos não eram tão completos como os de hoje.

Este trabalho trata do ambiente onde ocorre o enchimento de frascos ou ampolas para injeção em seres humanos. Esse ambiente possui uma série de requisitos para evitar a quebra de esterilidade ou a inclusão de partículas no mesmo. Para tal, o ar externo é captado e filtrado, através de filtros HEPA (*High Efficiency Particulate Air*) e somente então, é insuflado na sala de enchimento, denominada sala limpa. Além disso, é muito importante o controle microbiológico de superfícies dentro da sala, onde, entre elas estão portas, luvas, uniformes, etc.

Existem salas ou ambientes isolados onde o operador trabalha na máquina através de luvas, não sendo necessária a sua presença no ambiente onde ampolas e frascos são cheios e, conseqüentemente, onde há um menor risco de contaminação. Nas salas limpas onde é necessária a presença de um operador, este se torna o principal risco de contaminação, uma vez que a pele humana não é estéril e por este motivo é *habitat* natural de diversos microrganismos, sendo necessário o uso de vestimentas especiais que cubram toda a superfície do corpo. Porém, a vestimenta que funciona como uma barreira à exposição de microrganismos no ambiente da sala, não garante que não haverá passagem de organismos através do tecido, até mesmo por sudorese. A vestimenta possui as seguintes funções:

- proteger o ambiente das partículas geradas pelo operador,
- proteger o processo das partículas geradas pelo operador,
- proteger o operador das partículas geradas pelo ambiente e pelo processo, funcionando como um equipamento de proteção individual e
- ter baixa liberação de partículas, dissipação eletrostática e ser passível de esterilização.

Este trabalho teve a finalidade de propor mais uma barreira para minimizar os eventos de contaminação através do uso de placas de contato, especificamente nos testes realizados na região abdominal de operadores de salas limpas, onde, em geral, o número de testes nos quais ocorre a contaminação é maior do que nas demais áreas controladas como: maçanetas, antebraço do operador, superfícies da máquina, entre outras. Os experimentos foram realizados em duas salas limpas de uma indústria farmacêutica.

Para concluir sobre a eficiência da barreira proposta, utilizaram-se os resultados obtidos nos controles durante os anos de 2004, 2005 e 2006, quando a camiseta não foi empregada, comparando-os com os resultados obtidos em 2007, quando então a barreira foi utilizada.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Resumo da proposta

A idéia consiste na utilização de uma camiseta de polipropileno (Fig. 1) sob os uniformes utilizados nas salas limpas, de forma a possibilitar que partículas viáveis (microrganismos), provenientes dos corpos dos operadores, não os ultrapassem e possam ser detectadas nas análises de contato nos monitoramentos diários de rotina das duas salas limpas. Os uniformes para essas áreas são confeccionados de material apropriado para que partículas provenientes da pele não os ultrapassem; porém, a sudorese, por menor que seja, possibilita que microrganismos migrem do



Fig. 1

corpo do operador para a superfície externa dos uniformes, principalmente na região abdominal, onde são então detectados pelo método de plaqueamento por contato como será visto adiante.

### Preparação e uso da camiseta

A camiseta (Fig. 1) foi obtida da empresa COPEBRÁS Uniformes, previamente esterilizada em bolsas dupla face (papel e polietileno), por processo de autoclavagem (121°C-15min) sendo então enviada para a sala limpa onde foi vestida diretamente sobre a pele do operador e sob o uniforme (Fig. 2).



Fig. 2

### Preparação das placas de contato

O meio de cultura utilizado para os testes de contato foi o Agar Tripticaseína de soja da BBL™ (*Trypticase Soy Agar with Lecithin and Polysorbate 80 cat Nr 211764 dehydrated - 500g*). As placas de contato (Fig. 3), também denominadas em inglês de RODAC (*Replicate Organism Detection And Counting*), são preparadas da seguinte forma:

- suspensão de 45,7g de pó do meio de cultura Agar Tripticaseína de Soja com lecitina e polissorbato 80 em 1 litro de água purificada;



Fig. 3

- mistura intensa, até dissolução, completando esta etapa através de aquecimento e fervura do meio;
- autoclavação do meio preparado em balão apropriado por 15min à 121°C;
- enchimento das placas de contato sob fluxo laminar com o volume de 16,5 a 17,5ml por placa, e incubação por 5 dias a 30-35°C;
- após este período, utiliza-se no teste de contato, apenas as placas com ausência de crescimento microbiológico.

#### **Monitoramento da superfície da área abdominal**

O monitoramento foi realizado com a utilização da camiseta, sempre que as linhas de fabricação se encontravam em operação e obedecendo a seqüência de uma determinação a cada turno de trabalho, uma vez que na mudança de turno ocorria também a substituição do operador da linha. Assim sendo, o número de determinações efetuadas estava diretamente relacionado aos períodos nos quais houve produção. Cada determinação seguiu as seguintes etapas:

1. antes da utilização, a placa foi pré-incubada e verificada quanto à ausência de contaminação do meio de cultura.
2. a placa foi identificada com data e hora da amostragem.
3. a placa foi aberta dentro da sala limpa pelo próprio operador e pressionada durante 10s contra o abdômen sobre o uniforme.
4. a placa foi então incubada por 5 dias entre 30 e 35°C
5. após este período, a placa foi inspecionada para verificação de ausência ou presença de crescimento microbiológico e descartada em seguida.

É importante ressaltar que, de acordo com o procedimento operacional padrão das linhas de produção analisadas, somente se buscou a identificação dos microrganismos quando o limite de alerta, com relação ao controle microbiológico, foi ultrapassado. Além disso, muitas investigações puderam chegar apenas ao tipo do microrganismo, bactérias e fungos ou leveduras, pois não houve resposta ao método de identificação com relação ao gênero e espécie. De acordo com o procedimento já mencionado, os limites de alerta e ação, quando ultrapassados, devem ser investigados e suas possíveis causas eliminadas, através de ações estabelecidas. Porém, essas análises e ações não fizeram parte do conteúdo deste trabalho, uma vez que o seu foco, foi o uso da camiseta como barreira.

O limite de alerta representa um valor máximo de colônias por placa e que indica ao operador e ao supervisor responsável pela área de produção que devem ter atenção e maior cuidado. Já o limite de ação, além das medidas adotadas em relação ao limite de alerta, origina também uma avaliação mais profunda das causas da contaminação, além de determinar uma maior quantidade de ampolas que são enviadas para análise. Ainda, de acordo com os procedimentos da empresa, a identificação de gênero e espécie dos microrganismos, apenas será necessária quando houver a ultrapassagem do limite de ação. Outro fato importante é que, mesmo nas análises de identificação, algumas vezes não foi possível se chegar à espécie, por não ter ocorrido desenvolvimento suficiente dos microrganismos, impossibilitando a identificação.

Deve-se ainda ressaltar que os limites de alerta e ação foram alterados durante o período de coleta de dados, da seguinte forma:

- Em outubro de 2004, o limite de alerta foi mantido em  $\geq 3$  unidades formadoras de colônias (UFC) por placa e o limite de ação passou de  $\geq 15$  UFC por placa para  $\geq 5$  UFC placa.

- Em agosto de 2005, o limite de alerta passou de  $\geq 3$  UFC por placa para  $\geq 1$  UFC por placa e o de ação passou de  $\geq 5$  UFC por placa para  $\geq 3$  UFC por placa.

Portanto, todo o trabalho de investigação da forma, gênero e espécie dos microrganismos foi norteado por esses critérios e por essas alterações ao longo do período estudado. Assim sendo, é possível que o tipo de colônia encontrado em determinado período não tenha sido identificado, pelo fato do limite de ação à época da contaminação, não ter sido atingido.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Para a análise dos resultados foram considerados três aspectos:

- Número total de testes onde houve crescimento,
- Microrganismos encontrados e
- Número total de unidades formadoras de colônias.

#### **Número total de testes onde houve crescimento**

Analisando a **Tabela I** pode-se observar que durante os anos de 2004, 2005 e 2006, quando a camiseta não foi utilizada, o percentual de placas nas quais ocorreu contaminação ficou entre 7 e 8%.

Já, durante ano de 2007, quando a camiseta foi utilizada durante todo o período, o percentual de placas contaminadas ficou entre 3 e 4%.

É importante observar que o número de amostragens varia de acordo com o número de vezes em que as linhas estudadas encontravam-se em operação. E, neste caso, pode-se observar que, embora o número de amostragens durante 2007 tenha sido menor que nos demais anos, ele representa muito bem a tendência de redução do número de placas contaminadas com o uso da camiseta.

No **Gráfico 1** pode ser observado de forma mais clara, a tendência de queda do número de testes com contaminação durante o ano de 2007 em comparação com os demais anos.

#### **Microrganismos encontrados**

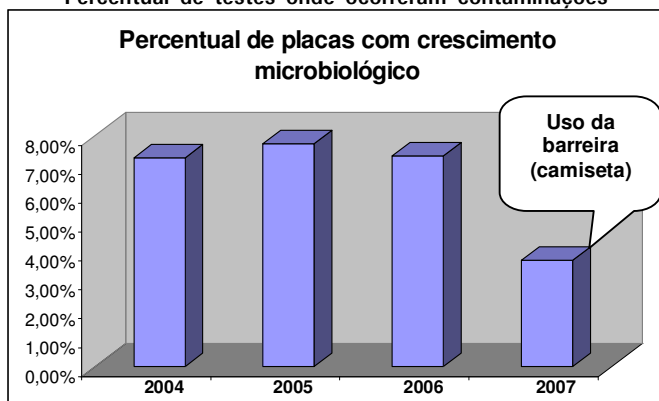
Conforme já mencionado anteriormente, as bactérias Gram positivas, são os principais habitantes da superfície da pele humana. E, neste caso, embora sejam os cocos, a forma mais

**TABELA I**  
Número total de testes onde houve crescimento

Mês	2004		2005		2006		2007	
	Amostras	Placas contamin.	Amostras	Placas contamin.	Amostras	Placas contamin.	Amostras	Placas contamin.
J	29	5	37	0	36	7	34	1
F	51	7	6	0	64	4	36	2
M	64	8	85	12	60	7	8	2
A	45	3	49	6	38	3	45	4
M	75	4	62	4	77	2	35	1
J	56	0	63	3	58	4	31	1
J	35	4	54	5	39	1	31	1
A	62	3	36	0	26	3	29	0
S	63	5	68	7	59	3	44	0
O	53	3	50	4	66	4	89	1
N	65	3	48	4	43	3	66	5
D	39	1	38	1	10	1	74	1
Total	637	46	596	46	576	42	522	19
%		(7,2%)		(7,7%)		(7,3%)		(3,7%)

Legenda: % - percentual de placas contaminadas

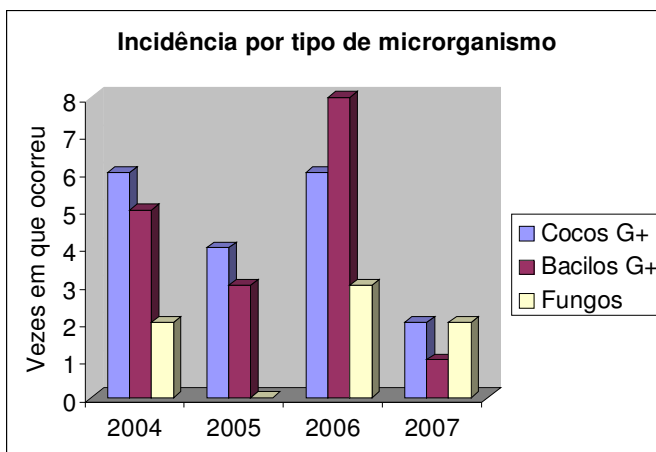
**GRÁFICO 1**  
Percentual de testes onde ocorreram contaminações



comumente encontrada, pode ocorrer também na forma de bacilos. Na Tabela II observa-se que a maioria dos microrganismos identificados é a mais comumente encontrada na pele humana, como cocos e bacilos Gram positivos.

Observa-se ainda que, eventualmente, ocorreu o crescimento de fungos na forma de leveduras, que também são comuns na pele. Analisando ainda os resultados da tabela, não se pode afirmar que a barreira foi seletiva a ponto de reduzir a incidência de uma determinada forma de microrganismo, uma vez que as principais formas, cocos e bacilos Gram positivos, se desenvolveram tanto em amostras de 2004, 2005 e 2006, quanto em amostras de 2007, embora com uma menor incidência. No Gráfico 2 pode-se ter uma idéia mais clara da ocorrência dos microrganismos.

**GRÁFICO 2**



A superfície da pele apresenta diversos tipos de microambientes, em áreas mais secas ou úmidas e que apresentam populações bacterianas mais esparsas ou densas, respectivamente. Nas regiões mais úmidas, como axilas, virilhas, espaço entre os dedos dos pés, genitália e períneo, predominam organismos Gram positivos como *Staphylococcus aureus* e *Corynebacterium* sp, além de fungos. Nessas áreas, condições como umidade, maior temperatura corporal e maior concentração de lipídios cutâneos de superfície, favorecem o crescimento bacteriano. Nas áreas secas predominam as bactéri-

**TABELA II**  
Microrganismos encontrados

Mês	2004	2005	2006	2007
Janeiro			Leveduras <i>Cryptococcus laurentii</i>	Cocos G+ ( <i>S. auricularis</i> )
Fevereiro				
Março	Bacilos G+ Penicillium Cocos G+ Bacilos G+ Bacilos G+	Bacilos G+ Cocos G+	Bacilos G+ Cocos G+ ( <i>S. sciuri</i> ) Cocos G+ Bacilos G+ Cocos G+	Levedura <i>Cândida famata</i>
Abril			Cocos G+ Bacilos G+	
Mai	Bacilos G+ Cocos G+			Cocos G+
Junho		Cocos G+ Cocos G+	Cocos G+ ( <i>S. haemolyticus</i> ) Bacilos G+ Bacilos G-	
Julho			Micrococos	Bacilos G+ ( <i>S. maltophilia</i> )
Agosto	Cocos G+ ( <i>S. auricularis</i> ) Leveduras Cocos G+ ( <i>S. capitis</i> ) Bacilos G+ Cocos G+ ( <i>S. epidermidis</i> )			
Setembro	Cocos G+ ( <i>S. auricularis</i> ) Leveduras Cocos G+ ( <i>S. capitis</i> ) Bacilos G+ Cocos+ ( <i>S. epidermidis</i> )		Bacilos G+	
Outubro	Cocos G+ ( <i>S. haemolyticus</i> )		Bacilos G+ ( <i>B. megaterium</i> )	
Novembro		Bacilos G+ ( <i>B. megaterium</i> ) Bacilos G+ Cocos G+	Cocos G+ ( <i>S. epidermidis</i> ) <i>Candida famata</i> Bacilos G+ ( <i>B. megaterium</i> )	
Dezembro				

as *Staphylococcus epidermidis* e *Propionibacterium acnes*.

De modo geral, organismos Gram positivos são os membros predominantes da superfície corporal e, sendo assim, esta afirmação explica a maior incidência desses microrganismos nos testes realizados. A bactéria *S. epidermidis* é o habitante mais numeroso da pele, correspondendo a cerca de 90% da microbiota residente em algumas áreas. A quantidade de microrganismos vivos existentes na pele de um indivíduo é relativamente constante. A extensão das áreas colonizadas depende da exposição da pele a condições particulares e da atividade bactericida da própria pele. Um alto grau de especificidade está envolvido na aderência das bactérias nas superfícies epiteliais. Nem todas são capazes de aderirem à pele.

A sudorese profunda, a lavagem e o banho não conseguem eliminar ou modificar significativamente a flora residente normal.

Os folículos pilosos da pele são colonizados por bactérias não virulentas, que impedem a implantação de microrganismos patogênicos, constituindo a microbiota resistente. Já a microbiota transitória compreende microrganismos que não colonizam, sendo assim, de fácil remoção.

A análise da microbiota da pele e mucosa deveria ser feita periodicamente nos indivíduos que lidam com os medicamentos, pois estes podem colonizar na microbiota residente, bactérias patogênicas como *Pseudomonas* e o *Staphylococcus aureus*, o que representa um grande risco de contaminação. O controle de infecção e a biossegurança são de grande importância para a prática dos manipuladores de medicamentos; a preocupação quanto à contaminação é um tema bem discutido no meio da saúde, existindo então, vários estudos em desenvolvimento.

A conduta dos profissionais que trabalham em estabelecimentos que fabricam ou comercializam produtos médicos e farmacêuticos, interfere diretamente na qualidade final dos produtos. As pessoas são consideradas a maior fonte de contaminação nesses ambientes, pois, possuem na microbiota, condições capazes de gerar inúmeros contaminantes.

#### Número total de unidades formadoras de colônias

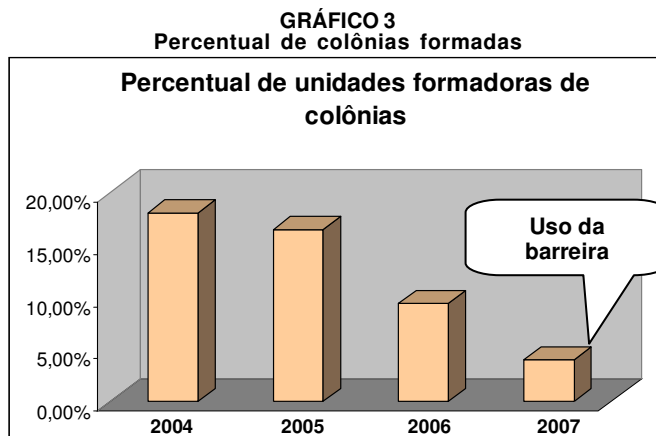
Nesta análise, houve maior preocupação em avaliar o número total de colônias formadas durante as amostragens, independentemente do número de placas com crescimento. Este dado é muito importante, na medida em que se pode observar que o número de unidades formadoras de colônias foi nitidamente reduzido com o uso da barreira (camiseta) durante as operações. (Tabela III).

TABELA III  
Número total de unidades formadoras de colônias (UFC)

Mês	2004		2005		2006		2007	
	Amostras	UFC	Amostras	UFC	Amostras	UFC	Amostras	UFC
J	29	7	37	0	36	7	34	0
F	51	12	6	0	64	4	36	2
M	64	27	85	34	60	12	8	3
A	45	4	49	7	38	6	45	3
M	75	12	62	7	77	2	35	3
J	56	0	63	15	58	2	31	1
J	35	6	54	5	39	1	31	2
A	62	4	36	15	26	3	29	0
S	63	26	68	2	59	3	44	0
O	53	12	50	5	66	7	89	1
N	65	4	48	6	43	6	66	5
D	39	1	38	2	10	1	74	1
Total	637	115	596	98	576	54	522	21
% (*)		18,0%		16,4%		9,4%		4,0%

(\*) percentual de unidades formadoras de colônias

A tendência de queda do número total de unidades formadoras de colônias, com relação ao total de testes efetuados, pode ser facilmente identificada no Gráfico 3.



Embora o número total de colônias tenha se reduzido no ano de 2007, é interessante observar que no ano de 2006, mesmo sem o uso da barreira, o número percentual de colônias formadas foi significativamente menor quando comparado aos anos de 2004 e 2005. Esta diferença pode ser atribuída às possíveis variações do sistema, uma vez que diversos foram os operadores testados ao longo dos anos estudados. Antes de ingressar nas salas limpas, os operadores são obrigados por norma interna, a fazer uma limpeza em todo o corpo, através de um banho com sabonete antisséptico, que reduz a quantidade de microrganismos.

Porém, não se pode afirmar que todos os operadores conseguem a mesma redução com essa medida, pois, além do ato de tomar banho ser um processo impossível de ser validado, a quantidade de microrganismos nos corpos dos operadores varia de um para outro e até mesmo, de um dia para outro, quando se trata do mesmo operador. De qualquer forma, e com todas essas variáveis, pode-se observar uma tendência de redução do número de colônias formadas com o uso da camiseta.

Embora o que se pretende é que todos os resultados sejam sempre negativos com relação aos monitoramentos microbiológicos, não se conseguiu eliminar totalmente essas ocorrências, porém, o risco de contaminação dos produtos fabricados nas salas analisadas é praticamente nulo, uma vez que de uma forma geral, os produtos contêm conservantes impossibilitando o crescimento de microrganismos e, além disso, a grande maioria sofre um processo de esterilização final por autoclavagem após o enchimento.

Outro aspecto importante, é que os operadores são treinados sobre como devem se comportar na sala com o objetivo de reduzir ao máximo o risco de que uma ou mais partículas viáveis contaminem o produto. Eles devem fazer movimentos leves ao trabalhar na sala, evitando turbulências no ambiente e sabem que não devem manipular ou se movimentar próximos à zona de enchimento onde as ampolas estão abertas. Dessa maneira, mesmo que eventualmente ocorra migração de partículas do corpo para a superfície externa, é muito pouco provável a ocorrência de uma contaminação do produto.

Mesmo com o baixo risco de contaminação já mencio-

nado nas salas estudadas, toda vez que ocorre uma contaminação acima do limite de alerta, em qualquer monitoramento e não apenas no controle de superfícies, como é o caso da região abdominal, o lote produzido no momento da amostragem tem sua análise aumentada com relação ao número de ampolas amostradas.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em uma sala limpa existem duas grandes preocupações com relação à contaminação por partículas. A primeira, diz respeito à pureza do ar que entra na sala e quanto à quantidade e tamanho de possíveis partículas que devem ser encontradas em um ambiente como este. A segunda também está relacionada às partículas, porém, àquelas provenientes do corpo do operador, que por este motivo tem de utilizar vestimentas especiais de forma a evitar que tais partículas corporais, em sua grande maioria, microrganismos, sejam expostas na sala de enchimento pela passagem de suor através da vestimenta, estabelecendo riscos de contaminação para os produtos.

Este trabalho teve como foco, acrescentar mais uma barreira (uma camiseta), de forma a reduzir ou impedir a migração de microrganismos através do uniforme de trabalho e, conseqüentemente, sua exposição, próximos à área de risco, ou seja, região onde os produtos estéreis são cheios.

Os resultados demonstraram que o uso da camiseta sob o uniforme, não é uma barreira totalmente eficaz, porém, houve redução significativa da incidência de resultados positivos com relação à contaminação das placas de monitoramento.

Pode-se observar que os números totais de placas de contato onde houve crescimento nos anos de 2004, 2005 e 2006, foram percentualmente maiores que os valores do ano de 2007, passando de 7-8% para cerca de 3-4%, significando portanto, uma redução de cerca de 50%. Com relação ao número total de colônias formadas, a redução foi de 75% na comparação com os anos de 2004 e 2005 e de 50% com relação ao ano de 2006. Outro aspecto importante é que o uso da barreira, como proposto, não reduz seletivamente a incidência de uma ou outra forma de microrganismos.

Pode-se dizer que o uso da camiseta sob o uniforme de trabalho em salas limpas, reduz a probabilidade de ocorrência de contaminação em placas de contato utilizadas para o monitoramento microbiológico de salas limpas, especificamente, na região abdominal dos operadores, reduzindo também o risco de contaminação dos produtos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABREU, TATIANE SILVA; ARAÚJO, MARIA REJANE BORGES; OLIVEIRA & RITA DE CÁSSIA BOTELHO WEIKERT. *Avaliação da eficiência de antissépticos na microbiota transitória e residente das mãos de manipuladores de medicamentos*. <http://www.fevale.edu.br/seminario/cd/files/pdf/1637.pdf>

2. AIDOS, GUSTAVO DOS SANTOS. *Análise de Salas Limpas*. [http://143.54.70.55/pss/diplot/Gustavo\\_Aidos\\_B.pdf](http://143.54.70.55/pss/diplot/Gustavo_Aidos_B.pdf). 24.11.06
3. BILL BELEW. *Particle Measuring Systems Semiconductor International*. 19.12.2004.  
<http://www.reed-electronics.com/semiconductor/article/CA6292906> - 24.11.06
4. BOOTH, ANNE. *Environmental Monitoring Practices and Regulations for the Sterile Manufacturer*.  
<http://www.samedanltd.com/members/archives/PMP5/Autumn2003/AnneB.htm>- 11.11.06
5. Controlled Environmental Magazine. <http://www.cemag.us/articles.asp?pid=493>. 12.11.06.
6. Controlled Environmental Magazine. <http://www.cemag.us/articles.asp?pid=537>. 09.11.06.
7. EC Guide to good manufacturing practice - revision to annex 1.  
[http://ec.europa.eu/enterprise/pharmaceuticals/eudralex/vol-4/pdfs/en/revan1vol4\\_3.pdf](http://ec.europa.eu/enterprise/pharmaceuticals/eudralex/vol-4/pdfs/en/revan1vol4_3.pdf). 22.11.06
8. Guidance for Industry. *Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing. Current Good Manufacturing Practice*. <http://www.fda.gov/cder/guidance/5882fnl.htm>. Setembro 2004
9. Guidance for Industry. *Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing. Current Good Manufacturing Practice*. <http://www.fda.gov/CBER/gdlns/steraseptic.pdf>. 24.11.06
10. Guidelines on test methods for environmental monitoring for aseptic dispensing facilities. 2<sup>nd</sup> edition. February, 2004. <http://www.astcp.scot.nhs.uk/assign/testmethod2nded.PDF>. 11.11.06.  
Internet.  
[http://www.fam.br/microrganismos/bacteriologia\\_microbiota\\_humana\\_pele\\_e\\_conjuntiva.htm](http://www.fam.br/microrganismos/bacteriologia_microbiota_humana_pele_e_conjuntiva.htm). 21.08.2007  
<http://news.thomasnet.com/fullstory/480817/2697>. 25.11.06  
<http://www.newwayz.co.nz/refmaterial/airclasses.pdf>. 25.11.06  
[http://en.wikipedia.org/wiki/Particle\\_counter](http://en.wikipedia.org/wiki/Particle_counter). 11.11.06
11. JAISINGHAM, RAJAN A. *Bactericidal Technology for Clean Rooms and Indoor Air Quality Applications*. 07.04.98. [http://www.cleanroomsys.com/downloads/docs/A2C2%20\\_98biocidal.pdf](http://www.cleanroomsys.com/downloads/docs/A2C2%20_98biocidal.pdf). 25.11.06
12. JURGEN, HORN. Biotest magazine. *Newsletter*. Nr. 65. 2005. December. <http://www.biotestuk.com/newsletter65UK.pdf>. 11.11.06
13. McDONNELL, GERALD. <http://www.cleanroom-technology.co.uk/story.asp?storyCode=26721>. 10.11.06
14. Resolução RDC 210, de 4 de agosto de 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
15. Sequential sampling of air borne organisms. *Clean room Technology*. <http://www.s-membran.hu/legter1.pdf>. 25.11.06
16. Particle Measuring Systems, Inc. *Semiconductor International*. Publicado em 1/11/2005.  
<http://www.pmeasuring.com/support/papers/particlemonitoring/pharmaceutical/basicguide/appFile/basicguide.pdf>. 10.11.06
17. SARTAIN, ELAINE KOPIS. *Controlled Environments Magazine*. Regulatory Focus. Junho, 2004. <http://www.cemag.us/articles.asp?pid=450>. 10.11.06
18. SHEARER, GRETCHEN L. *Contaminant Identification in Pharmaceutical Products*. <http://www.modernmicroscopy.com/main.asp?article=18&page=2>. 25.11.06
19. WINTER, BENEDIKTE ROSLING & HOLMGREN, HANNNE. A filter guide for clean rooms in the pharmaceutical industry. Bulletin N° 75. *Nordic R3 Association*.
20. WORLD HEALTH ORGANIZATION. *Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations*.  
[http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_937\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_937_eng.pdf). 09.11.06
21. ZHANG, JOHN. Understanding pharmaceutical clean room design. *American Society of Heating, Refrigerating and Air-conditioning Engineers, Inc.*