

# Monitoramento de partículas em suspensão no ar: satisfazendo as mudanças de demandas nos regulamentos e métodos

**Autor:** Joe Gecsey, Hach Grants Pass, Oregon, USA

**Contato:** sbcc@sbcc.com.br

**Joe Gecsey**

## Resumo

Atualmente, quando o usuário precisa obter dados precisos sobre o número de partículas em suspensão no ar em vários ambientes controlados, depara-se com o desafio de ter que lidar com várias normas internacionais e guias das agências regulatórias, bem como ter que executar amostras de partículas em suspensão no ar de forma consistente e passível de reprodução. Embora haja discordâncias sobre a validade estatística na amostragem de pequenos números de eventos independentes - e essas discordâncias sejam discutidas dentro das normas internacionais de classificação - frequentemente surgem eventos nos quais as técnicas convencionais de amostragem podem ser empregadas segundo a metodologia convencional. Este artigo discute a revisão atual e mudanças propostas para a ISO 14644-1, norma para classificação de salas ou zonas limpas, e os guias para áreas assépticas das agências regulatórias EMEA (europeia) e FDA (americana) que sugerem vários métodos para a execução prática dos protocolos de amostragem em várias indústrias. É discutida a aceleração potencial da amostragem para classificação através do uso de AMOSTRAGEM SEQUENCIAL ( Anexo F, ISO 14644-1). Os desafios inerentes à amostragem sob altas vazões são examinados, focando a obtenção de consistência nos resultados, com vistas aos recentes documentos de calibração do ISO 21501-4 e do IEST RP-14 e através da aplicação prática de técnicas de amostragem no ponto de amostra.

## Monitoramento de partículas no ar

As normas internacionais para o monitoramento de partículas em suspensão no ar são usadas por todas as indústrias que utilizam salas limpas ou áreas limpas.

Algumas metodologias de amostragem de partículas em suspensão no ar são empregadas nestes ambientes controlados para assegurar a qualidade do produto manufaturado ou o sucesso do processo que está sendo conduzido neste ambiente crítico ou controlado.

Muitas variáveis podem afetar o sucesso das operações nessas áreas, mas as concentrações de partículas no ar são frequentemente um elemento significativo no controle de risco, ou, ao mesmo tempo, a razão do sucesso para a operação controlada.

A norma inicial para salas limpas nos Estados Unidos, conhecido como “Federal Standard 209E”, teve um impacto global por muitos anos, mas foi oficialmente substituído em 1999 por uma nova norma internacional, a ISO 14644-1. Entretanto, a Federal Standard 209E deixou um legado de técnicas de amostragem e de volume de amostras que perduram ainda hoje em muitas aplicações, tais como o foco nos volumes de amostras de 1 pé cúbico, tempos de amostra de 1 minuto de duração e a designação de áreas como “Classe 100”, “Classe 10000”, etc. Embora alguns desses métodos ainda sejam apropriados hoje, devemos levar em consideração algumas das mudanças em normas, guias regulatórias e práticas recomendadas que ocorreram desde 1999. Al-

gumas destas estão relacionadas a técnicas específicas utilizadas na classificação de uma sala [ISO 14644-1, EU GMP Anexo 1], enquanto outras buscam obter maior consistência nas amostragens obtidas em campo por vários contadores de partículas, através de técnicas de calibração “in loco” [ISO 21501-4, IEST RP-14].

## Classificação versus Monitoramento

Um dos principais fatores na escolha dos métodos corretos, norma ou guia para uma aplicação é a compreensão de que um método de amostragem é voltado tanto para

- proporcionar uma classificação formal de uma sala por um determinado tempo
- proporcionar o monitoramento contínuo de um processo ou procedimento para avaliação do risco de que os contaminantes aéreos possam provocar o fracasso ou adulteração daquele processo ou procedimento.

Classificações formais executadas de acordo com a antiga Federal Standard 209E ou com a atual ISO 14644-1 acontecem dentro de intervalos de 6 a 12 meses e proporcionam um retrato detalhado da área, baseado em métodos estatísticos, para certificar que a área atende aos requisitos iniciais necessários para que o processo aconteça na área ou zona. Os modelos estatísticos são utilizados aqui porque a amostragem de partículas do ar é efetuada segundo “uma metodologia de amostragem representativa” – ou seja, apenas uma pequena porção do volume total de ar circulado na sala ou zona é avaliada e a preocupação é que esta amostra represente a concentração total de potenciais partículas em suspensão no ar.

Entretanto, é comum haver a necessidade de se verificar continuamente se a área ou zona está sob controle ao longo de todo o processo. Esta necessidade frequentemente exige diferentes métodos e níveis de alarme para que se entenda e se controlem os riscos de uma operação.

As indústrias farmacêuticas e biotecnológicas têm um interesse único e importante em controlar o risco durante os processos assépticos usados no processamento de produtos estéreis, devido aos riscos à saúde (e os

conseqüentes riscos financeiros), pois um medicamento injetável pode atingir níveis inaceitáveis de contaminantes devido à exposição aos contaminantes do ar durante seu processamento.

Normalmente, o envase representa a etapa mais crítica durante o processo asséptico e conseqüentemente, os maiores desafios de classificação e monitoramento de partículas em suspensão no ar; este artigo cobrirá a discussão sobre classificação e monitoramento em geral e proporcionará também uma discussão mais detalhada das exigências atuais de amostragem em envase asséptico.

## Classificação – ISO 14644-1,-2

A classificação é baseada nos seguintes pontos chave:

- Frequência: se a área ou zona tiver que ser classificada como Classe ISO de 1 a 5, então a classificação deve ser repetida num intervalo de 6 meses. Se for da Classe ISO de 6 a 9, então a frequência é a cada 12 meses.
- Área física em metros quadrados: A área da superfície deve ser determinada para que se calcule o número mínimo de pontos de amostra.



- Distribuição de pontos de amostragem: Preferencialmente, os pontos de amostragem são espalhados pela sala de forma regular, mas pode ter que ser alterada de acordo com o desenho da sala e posicionamento de equipamentos.
- Volume mínimo e tempo de amostragem: Com a intenção de fazer cada amostra do ar ser estatisticamente representativa da qualidade do ar naquele ponto, há uma exigência de um tempo mínimo de amostragem

de um minuto em cada ponto e a exigência de que o volume mínimo de amostragem calculada deva ser obtido. Usualmente, amostras colhidas em função do período mínimo de 1 minuto também atendem ao critério de volume mínimo, mas isto também depende da vazão do instrumento e da Classe ISO almejada pelo exercício de classificação.

Cabe observar que a ISO 14644-1 não define nenhuma vazão específica, mínima ou máxima do próprio instrumento.

| Grau | Em Repouso  |        | Em Operação  |              |
|------|---|--------|--------------|--------------|
|      | Número máximo permitido de partículas por m <sup>3</sup> igual a ou maior que |        |              |              |
|      | 0.5 µm  | 0.5 µm | 0.5 µm       | 0.5 µm       |
| A    | 3 520   | 20     | 3 520        | 20           |
| B    | 3 520   | 29     | 352 000      | 2 900        |
| C    | 352 000   | 2 900  | 3 520 000    | 29 000       |
| D    | 3 520 000   | 29 000 | não definido | não definido |

Tabela de Limites de Contagem de Partículas por metro cúbico  
[Anexo 1 GMP EU]

## Guias de classificação e monitoramento do FDA e EMEA

Para aplicação específica em áreas assépticas de processamento, as agências regulatórias oferecem documentos como guias. Esses documentos focam vários aspectos do esforço de processamento, incluindo contagens específicas de partículas em áreas chave de manufatura e em áreas de suporte.

O guia do FDA atrela à área “crítica” a classificação ISO classe 5 e à área “controlada” a classificação ISO Classe 7 ou 8. A contagem de partículas com tamanhos de 0,5 micrometros ou maiores durante os processos é requerida pelo FDA. Entretanto, nenhum método de monitoramento específico, vazão do amostrador ou o método de classificação é especificado pelo FDA, somente se refere ao uso da metodologia da ISO 14644-1 no seu texto de designações de Classe ISO.

O Anexo 1 europeu indica limites mais específicos para a contagem de partículas nas áreas “críticas” e



“controladas”, designadas como Graus A, B, C e D e também exige a contagem de partículas com tamanhos de 0,5 micrometros ou maiores e de 5,0 micrometros ou maiores. Particularmente, o Anexo 1 indica uma classificação para essas áreas baseado na ISO 14644-1, exceto para as áreas de Grau A.

A classificação das áreas de Grau A segue a ISO 14644-1 para estabelecer o número mínimo de pontos, mas exige um volume mínimo de amostragem mais extenso, com 1 metro cúbico em cada ponto de amostragem. Embora o propósito para esse volume maior não seja explicitamente declarado, pode-se entender que as autoridades da EU sentiram que um volume maior nessas áreas chave para produtos estéreis, daria suporte estatístico mais convincente na determinação da qualidade do ar, principalmente pela quantidade extremamente baixa de partículas com dimensão de 5,0 micrometros ou maiores.

Não há especificação dentro do Anexo 1 [Seções 8 a 20] à respeito do volume de amostragem ou das vazões exigidas durante o processo de monitoramento; apenas que o monitoramento contínuo de partículas do ar deve ser aplicado durante o ajuste dos equipamentos (setup) e o envase de produtos estéreis.

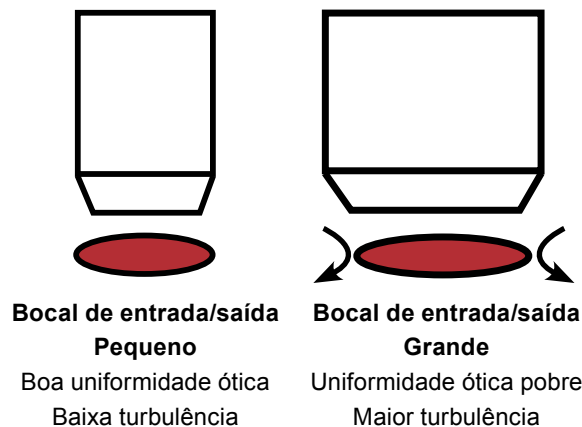
Embora as empresas sejam livres para estabelecer esquemas de classificação mais rigorosos, a atual ISO 14644-1 requer que as áreas de ISO Classe 5 sejam reclassificadas a cada 6 meses. Essa frequência tende a ser reajustada para 12 meses para todas as classes na próxima versão da ISO 14644-1 com provável lançamento em meados ou fim de 2010.

## O impacto dos métodos ISO e RP para a calibração de instrumentos

Também na próxima revisão da ISO 14644-1, a nova norma ISO 21501-4 para calibração dos contadores de partículas em suspensão no ar deverá ser mencionada. Esta nova norma de calibração de instrumentos é baseada na antiga norma japonesa JIS 9921 que foi frequentemente aplicada para controlar o desempenho de um instrumento durante o processo de manufatura; a ISO 21501-4, torna mais rigorosos os métodos de calibração que ocorrem ao longo da vida útil do instrumento. A in-

tenção é a de proporcionar maior consistência entre os dados de um grupo de instrumentos em uma área, além da consistência no desempenho de um único instrumento ano após ano.

Os ensaios podem evidenciar algumas deficiências no desempenho de projeto do instrumento, devido ao envelhecimento ou a degradação de seus componentes.



Especificamente, alguns modelos mais recentes, com vazões mais altas, podem ser pouco eficazes devido à utilização de bombas de baixa capacidade de sucção que não toleram muita restrição na passagem de fluxo. A diminuição do diâmetro do bico de entrada para reduzir a demanda na bomba, pode resultar em desempenho deficiente em termos de resolução devido ao aumento de turbulência ou de fortes variações na intensidade da luz na zona de detecção. Este campo de iluminação deveria ser perfeitamente uniforme, mas uma pequena variação ocorre normalmente nos projetos atuais de laser diódico. O problema com a uniformidade ótica pode ser agravado pela ampliação do bocal de entrada com objetivo de obter uma redução na perda de carga, de maneira a se ajustar a vazão desejada a um determinado tipo/modelo de bomba de vácuo.

Modelos de contadores de partículas podem ter vazões maiores e ainda assim estar de acordo com os ensaios do ISO 21501-4 quando bem desenvolvidos, embora alguns fornecedores escolham não fazer todos os ensaios – especialmente resolução de campo, para evitar expor as fraquezas de seu desenho. Em muitos casos, um modelo de menor vazão: de 28.3 lpm [1cfm] ou 50 lpm [1.77cfm] pode proporcionar uma solução mais robusta para os desafios das contagens de partículas atuais enquanto assegura a adequação à nova norma de

calibração ISO 21501-4.

Pode ser desafiador encontrar suporte global de campo para a ISO 21501-4 de todos os fornecedores mas, quando está disponível, a exatidão e a repetibilidade da amostragem do ar de um instrumento calibrado de acordo com o ISO 21501-4 dará segurança de que o controle da concentração de partículas em suspensão no ar de seu ambiente é realmente conhecido.

Suporte adicional para essa nova e mais abrangente norma de calibração em campo vem da organização do IEST nos USA, onde a recomendação RP-14 será disponibilizada em breve como apoio à norma ISO 21501-4. A RP-14 fornece informações adicionais e instruções aos técnicos que precisarão executar uma calibração do contador de partículas de acordo com o ISO 21501-4.

## Uso do método sequencial de amostragem do ISO 14644-1 Anexo F

Ao invés de adotar um volume mínimo de amostragem para conferir um nível de confiança adequado aos seus resultados, os usuários que efetuam contagens para partículas de 5 micrometros para certificar sua sala limpa, podem usar o método de Amostragem Sequencial para limitar o intervalo de tempo para o processo de amostragem.

Ao ler 14644-1, Apêndice F, há uma tabela de intervalos de tempo (Tabela F. 1) que estabelece que se as contagens observadas (C) são inferiores a um limite dentro de certas frações de tempo do período da amostragem, então o ponto da amostra pode ser considerado como tendo encontrado os limites da Classe. Por exemplo, se as contagens observadas ainda forem “0” após passar a Fração de Tempo “t” de 0,1922, então o ponto da amostragem “estará em conformidade”. O tempo “t” é baseado no tempo necessário para a contagem das 20 partículas, se houver precisamente aquele número de partículas daquele tamanho na área de amostra para chegar ao limite de classe.

Se o desejo for o de classificar uma área em repouso de Grau B (ISO Classe 5), o limite será 29 partículas de 5 micrometros em um metro cúbico. Para reunir 20 partículas seriam necessários 0,69 metros cúbicos ou 24,3 pés cúbicos. Para um contador de partículas rodando à

1 cfm, isto significaria um tempo mínimo de amostra (t) de 24,3 minutos.

Usando a Tabela F.1 e  $t = 24,3$ :

| Contagem Observada | Fração de Tempo | Tempo (em minutos) | Tempo (em minutos) |
|--------------------|-----------------|--------------------|--------------------|
| 0                  | 0,1922          | 4,68               | 4 min, 41 sec      |
| 1                  | 0,2407          | 5,85               | 5 min, 51 sec      |
| 2                  | 0,2893          | 7,03               | 7 min, 2 sec       |
| 3                  | etc.            |                    |                    |

Desta forma, se nenhuma contagem foi observada no canal de 5 micrometros após 4 minutos e 41 segundos, o processo de amostragem poderia ser interrompido e o ponto da amostra declarado como tendo passado pelo limite de 5 micrometros da ISO Classe 5.

Ou se a contagem (1) foi gravada, e então mais nenhuma contagem foi gravada dentro de 5,85 minutos, novamente você pode gravar uma PASSAGEM. Para uma vazão de 1,77 cfm [50 lpm], o quadro mostraria estes tempos para  $t = 24.3 / 1,77 = 13,73$  minutos:

| Contagem Observada | Fração de Tempo | Tempo (em minutos) | Tempo (em minutos) |
|--------------------|-----------------|--------------------|--------------------|
| 0                  | 0,1922          | 2,64               | 2 min, 38 seg      |
| 1                  | 0,2407          | 3,31               | 3 min, 18 seg      |
| 2                  | 0,2893          | 3,97               | 3 min, 58 seg      |
| 3                  | etc.            |                    |                    |

No entanto, de forma alguma o período de amostra de um local pode ser de menos de 1 minuto. [ISO 14644-1, Anexo B 4.2.2]

## Métodos de amostragem

É um bom começo conhecer os regulamentos que afetam a amostragem e também saber que o instrumento aplicado pode estar de acordo com as normas internacionais de calibração. Mas também é útil se dar conta de que há alguns métodos práticos na montagem e no uso dos instrumentos que podem ter um efeito positivo na qualidade e consistência de dados obtidos de contagem de partícula.

Um ponto de frequente confusão é a orientação para sondas em forma de funil que são fornecidas juntamente



com a maioria das unidades. É preciso colocar a sonda de forma que a abertura intercepte as linhas de fluxo na área da amostragem. Isto significa que uma amostragem da sonda que fique numa corrente de fluxo vertical deverá ter essa abertura para cima; uma amostragem da sonda em corrente de fluxo horizontal será posicionada paralelamente com a superfície da terra para receber melhor qualquer partícula do ar que possa ser encontrada na amostra do ar.

Uma outra preocupação constante, especialmente nas Indústrias Farmacêuticas e Veterinárias, é quanto à extensão exigida ou preferida do tubo de entrada. Embora não haja nenhuma regra estabelecida nas normas ou nos guias, a “melhor conduta” industrial é manter a extensão do tubo a mais curta possível; geralmente admite-se um limite máximo de 3 metros (aproximadamente 10 pés) quando há uma preocupação significativa para a medição de partículas maiores [tais como 5 micrometros ou maiores] tanto quanto para a faixa de medição mais comum de “0,5 micrometros ou maiores”.

Principalmente quando se usa uma unidade de vazão alta, uma grande preocupação é que a exaustão promovida pela coleta da amostra do ar poderá distorcer o padrão de fluxo encontrado nos casos de áreas de ISO Classe 5.

A amostra de ar deverá ser expelida em algum lugar – 75 litros succionados devem significar 75 litros descarregados – e se os padrões de fluxo de ar captados não forem considerados, correntes em redemoinho podem surgir dentro e ao redor de áreas chave de alto risco.

Quanto mais alta a vazão empregada, maior o efeito



causado pela amostra de ar descarregada a ser considerado.

Estudos dinâmicos de fumaça (veja figuras adjacentes) podem ajudar a revelar mudanças nos padrões de fluxo desejados e instruir os operadores quanto ao posicionamento ideal e o uso de contador de partícula para prevenir escoamentos indesejados. À medida que a velocidade de captação (vazão) das amostras de ar aumenta, o risco de alteração não desejada dos padrões de fluxo em áreas críticas aumenta e talvez essa alteração possa não ser aceitável. Paralelamente a isso, surge a necessidade de assegurar que o ar captado seja filtrado a pelo menos 0,2 micrometros, preferencialmente na mesma velocidade de captura de 100% para a faixa de 0,2 micrometros ou mais.

Alguns modelos mais novos de alta vazão não admitem a restrição de fluxo causada pelos filtros absolutos e adotam a filtragem com os filtros de 95% de eficiência para partículas de 0,3 micrometros. Em algumas áreas críticas esta característica de filtragem com 95% de eficiência pode acabar sendo inaceitável.

## Conclusões

Os ambientes atuais - especialmente as operações de envase asséptico, mas também mini-ambientes e



outros processos especializados de eletrônica e aeroespacial – exigem resultados consistentes e passíveis de reprodução. As novas normas de calibração e as práticas recomendadas ajudam a garantir a funcionalidade do contador de partículas, mas é preciso haver um foco significativo nos métodos e práticas de amostragem, de forma a se obter a mais alta qualidade de dados, e também assegurar que a própria obtenção da amostra não comprometa o processo ou produto nas áreas chave.

Estudos dinâmicos de fumaça podem ser muito valiosos para determinar se a combinação do fluxo de ar e atividade resulta em padrões de risco de fluxo que poderia carregar contaminação para as áreas críticas. O valor potencial dos contadores de partículas de alto fluxo precisa ser cuidadosamente pesado em contrapartida ao alto risco de influenciar os padrões de fluxo de ar. Talvez novos procedimentos devam ser idealizados e implementados em suas instalações após a revisão dos estudos de fumaça, para se manter a qualidade e consistência do ambiente do ar durante a atividade. ●

---

## Referências

1. Federal Standard 209E
2. ISO 14644-1
3. EU GMP Annex 1
4. FDA Guidance for the manufacture of Sterile Products by Aseptic Processes
5. IEST RP-14
6. ISO 21501-4
7. JIS 9921
8. Whyte, Bill, editor, Cleanroom Design, 2nd Edition,

---

## Agradecimento

1. Uso de “gerador de fumaça” à base de água DI para visualização de fluxo: Dr. Jack Menear, Jack Menear Associates, Santa Cruz, CA [www.jackmenear.com](http://www.jackmenear.com)

