



# F0

## Nota técnica

- O que significa
- Como calculá-lo
- Como usá-lo para ajuste, controle e validação do processo de esterilização por calor úmido

**Título original:**

**F<sub>0</sub> A technical note**

What it means

How to calculate it

How to use it for adjustment, control and validation of moist-heat sterilization processes

**Autores:** D. Pistolesi, V. Mascherpa

**1º Edição:** 1988

**2º Edição:** 2014

**Publicado por** Fedegari Group, Departamento P&D, Italia.

TN 170977-v3 / VIM - F.R.TN.00001.D.1.E.06.14

**Traduzido por:** Gustavo Dellagiustina, 2018.

**Revisado por:** César Thomaz Marchini Rinaldi, 2018.

**Páginas:** 33

Este documento é disponível para download no site de Fedegari Group:

[www.fedegari.com](http://www.fedegari.com)



O algoritmo  $F_0$  foi introduzido em 1968 na prática internacional da indústria de alimentos e proposto pela FDA em 1976 para a esterilização farmacêutica de Parentais de Grande Volume: agora está oficialmente incluído na maioria das Farmacopeias.

No entanto,  $F_0$  ainda é considerado com alguma suspeita do ponto de vista conceitual e frequentemente mal interpretado. É sempre necessário lembrar que a  $F_0$  foi inventada no campo industrial dos processos de esterilização por calor de produtos contendo água.

O objetivo desta Nota Técnica da Fedegari, primeiramente distribuída em 1988 e perseverantemente revisada, é esclarecer a natureza de  $F_0$  e seus parâmetros relacionados ( $D$ ,  $z$ , PNSU / SAL), e explicar seu uso e limites para o ajuste, controle e validação de processos de esterilização por calor úmido.

OS AUTORES



# CONTEÚDO

---

<b>1. FUNDAMENTOS DA CINÉTICA DE ESTERILIZAÇÃO POR CALOR ÚMIDO</b>	<b>5</b>
1.1. D-VALOR OU TEMPO DE DETERIORAÇÃO DECIMAL	7
1.2. ESTERILIDADE COMO "EFEITO PROVÁVEL" DO TEMPO DE EXPOSIÇÃO	7
1.3. VALOR DE Z OU COEFICIENTE DE TEMPERATURA	9
1.4. $F_0$ OU TEMPO DE EXPOSIÇÃO EQUIVALENTE A 121 °C	11
1.5. TAXAS LETAIS	14
1.6. EXEMPLO DE "PÓS-CÁLCULO" DE $F_0$	17
1.7. SÍMBOLOS E DEFINIÇÕES UTILIZADOS EM TECNOLOGIA DE ESTERILIZAÇÃO	18

---

<b>2. DEFINIÇÃO DE "ESTÉRIL" E "ESTERILIZAÇÃO"</b>	<b>19</b>
--	-----------

---

<b>3. CÁLCULO EM TEMPO REAL DE <math>F_0</math> COM AUTOCLAVE COMPUTADORIZADA</b>	<b>20</b>
3.1. CONTROLE "TRADICIONAL" COM BASE NO TEMPO DE EXPOSIÇÃO	20
3.2. CONTROLE BASEADO EM $F_0$	22
3.3. CONTROLE DE ESTERILIZAÇÃO BASEADO NO TEMPO COM CÁLCULO / IMPRESSÃO DE VALORES $F_0$	26

---

<b>4. RESUMO DO PRECEDENTE</b>	
<b>CONCEITOS EM TERMOS DE LAYMAN</b>	<b>27</b>

---

<b>5. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>33</b>
5.1. LITERATURA CITADA	33
5.2. REFERÊNCIAS SIGNIFICATIVAS	33

---

# 1. FUNDAMENTOS DA CINÉTICA DE ESTERILIZAÇÃO POR CALOR ÚMIDO

Suponhamos imergir em vapor saturado (isto é, condensação), a temperatura constante, um sistema contaminado por uma espécie microbiológica (que assumimos, por uma questão de simplicidade, ser puro e homogêneo): por exemplo, um frasco contendo uma suspensão aquosa de um determinado microrganismo esporogênico.

Foi demonstrado experimentalmente que, sob as condições acima, a reação de degradação térmica do microrganismo em questão obedece às leis das reações químicas. Usando  $N$  para indicar o número de microrganismos presentes no sistema em um dado momento, a variação deste número como a função de um tempo escolhido de exposição à temperatura de esterilização selecionada pode ser escrita como:

$$\frac{dN}{dt} = -KN$$

onde  $K$  é uma constante típica das espécies e condições do microrganismo escolhido.

A reação de degradação, ou seja, a reação de esterilização, desenvolve-se como uma reação química de primeira ordem (como uma reação de decomposição química) na qual a taxa de reação é proporcional, em cada momento, apenas à quantidade de produto ainda degradada (ou decomposta).

Isso parece ser óbvio para a esterilização a seco, mas menos rigorosa para a esterilização a vapor, na qual as moléculas de vapor de água também parecem participar da reação. Na verdade, essa reação biomolecular é de primeira ordem, uma vez que o vapor está presente em grande excesso durante toda a reação e sua concentração pode ser considerada constante.

A expressão acima pode ser desenvolvida da seguinte forma:

$$\frac{dN}{N} = -Kdt \quad (1)$$

$$\frac{dN}{N} = -K \quad dt$$

e, convertendo de logaritmos base  $e$  ou Neperiano, que são menos práticos neste caso específico, para basear 10 logaritmos, obtém-se o seguinte:

$$\log N = -kt + \text{constante}$$

Onde  $k = \frac{K}{2,303}$  devido à mudança de base e logaritmos para base 10.

No tempo zero, o seguinte é verdadeiro:

$$t = 0$$

$$N = N_0$$

Assim sendo

$$\log N_0 = \text{constante}$$

Do qual

$$\log N = -kt + \log N_0 \quad (2)$$

O que leva a

$$\log \frac{N}{N_0} = -kt$$

E, portanto,

$$\frac{N}{N_0} = 10^{-kt} \quad (3)$$

Onde:

$N_0$  = número inicial de microrganismos

$t$  = tempo de exposição decorrido (= esterilização)

$N$  = número de microrganismos após o tempo de exposição  $t$

$k$  = constante da velocidade de reação que depende das espécies e condições do microrganismo

A expressão (3) mostra que o número de microrganismos diminui exponencialmente dependendo do tempo de esterilização. Se esta expressão é convertida em um gráfico, com  $\log N$  como a função de  $t$ , o Diagrama 1 é obtido:

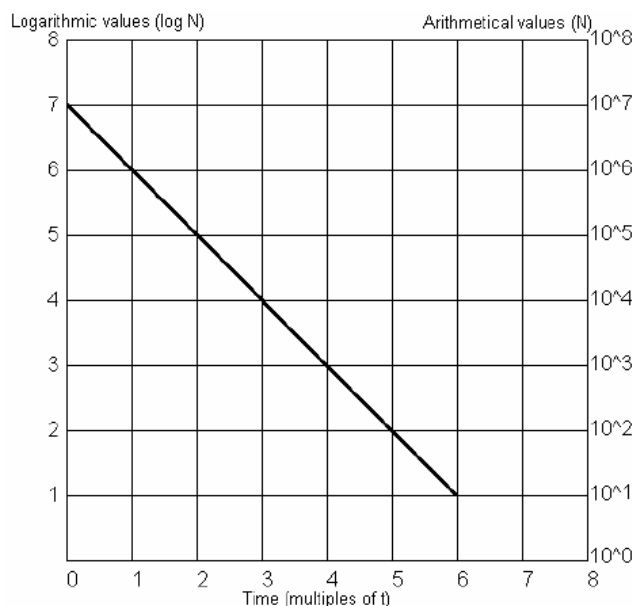


Diagrama 1

Aqui vemos que uma redução percentual constante da concentração de microrganismo ocorre para cada intervalo de tempo arbitrário  $t$ . Podemos, portanto, desenhar uma primeira conclusão:

**O tempo necessário para reduzir a concentração de microrganismos para qualquer valor pré-estabelecido é a função de sua concentração inicial.**

A reação de esterilização não é, portanto, um processo de "tudo ou nada" nem um processo de "barreira potencial" como se pensava.

## 1.1. D-VALOR OU TEMPO DE DETERIORAÇÃO DECIMAL

O valor D é definido como o tempo decimal (ou decadal) de decaimento (ou redução): ou seja, é o tempo necessário, a uma temperatura T especificada, para reduzir a população microbiana a ser considerada por um valor logarítmico, isto é, de 100% a 10% do valor inicial.

2007, o PDA deu a este parâmetro o nome do valor da Resistência.

É muito fácil calcular o valor D na base da expressão acima (3): é o recíproco da taxa de reação k, já que se  $t = k^{-1}$ , é  $N = 0,1N_0$ .

À temperatura de 121 ° C, os valores D oscilam geralmente entre 0,2 e 2 minutos: muito frequentemente  $D_{121} = 1$  é assumido na ausência de dados experimentais mais específicos. É imediatamente evidente que o resultado da esterilização a temperatura constante pode ser muito diferente dependendo do valor D das espécies microbianas contaminantes (ou no maior valor D, no caso de contaminação mista). O gráfico a seguir mostra que uma contaminação residual de  $10^{-6}$  é alcançada em oito minutos, partindo de uma contaminação inicial da unidade de  $10^2$ , a 121 °C se  $D = 1$ . Dezesesseis minutos são necessários para o mesmo resultado se  $D = 2$  e 4 são suficientes se  $D = 0,5$  (ver Diagrama 2).

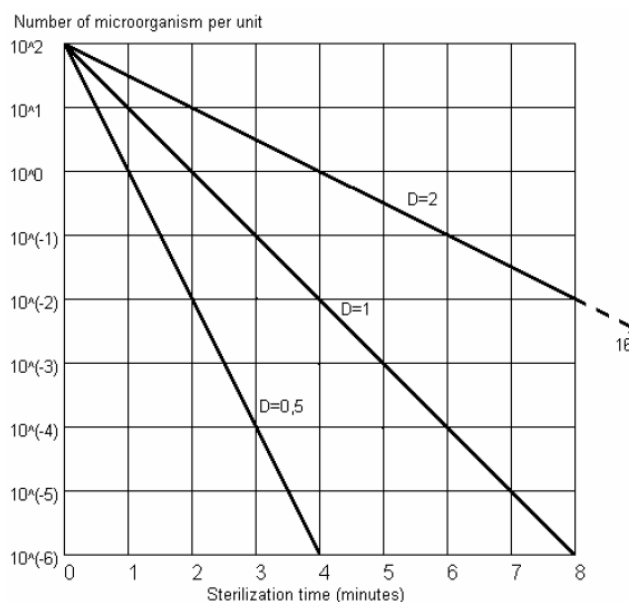


Diagrama 2

## 1.2. ESTERILIDADE COMO "EFEITO PROVÁVEL" DO TEMPO DE EXPOSIÇÃO

Vamos agora considerar o que acontece dentro de um lote de unidades (frascos, garrafas ou outros) com uma contaminação inicial constante da unidade de 100 microrganismos =  $10^2$ . Se o valor D a 121 °C é assumido = 1, após um minuto a 121 °C, a redução = para  $10^1 = 10$  microrganismos é alcançada; depois de outro minuto, apenas  $10^0 = 1$  microrganismo ainda é sobrevivente. Após mais um minuto, a população microbiana sobrevivente seria  $10^{-1} = 1/10$  microrganismo.



Uma contaminação de 1/10 não deve ser entendida como significando que cada unidade contém 1/10 de um microrganismo, o que é biologicamente insignificante (neste caso, a unidade provavelmente seria estéril...), mas existe a probabilidade de ter 1/10 das unidades ainda contaminadas dentro do lote de unidades esterilizadas.

De fato, três minutos seriam o tempo necessário para reduzir a população microbiana a um único microrganismo sobrevivente se a população inicial fosse dez vezes maior que a população em questão. Essa contaminação inicial mais alta poderia ser considerada um número dez vezes maior de microrganismos na mesma unidade ou a contaminação inicial de uma unidade dez vezes maior. Se a unidade não for mais considerada como frasco único ou garrafa, mas como o conjunto de todos os itens produzidos durante um período de tempo, o número inicial de microrganismos presentes em cada item deve ser multiplicado pelo número de itens produzidos, e o tempo de exposição para atingir a redução para o mesmo número de microrganismos viáveis deixados em todo o conjunto de itens produzidos, tem que ser proporcionalmente aumentado.

O exemplo a seguir será útil para focar o assunto.

Um novo produto estéril em ampolas deve ser lançado; o número de ampolas a serem produzidas durante todo o período de vida do produto deverá ser  $10^{10}$ . O número máximo de ampolas contaminadas consideradas aceitáveis é  $10^0 = 1$ : isto obviamente significa que a probabilidade de ter ampolas não estéreis após a esterilização não deve exceder  $10^{-10}$ . Vamos supor também que a população microbiana dentro de cada ampola após o enchimento e a vedação não exceda  $10^3$  microrganismos (esta é uma abordagem bastante conservadora, na verdade): estes devem ser destruídos por meio de esterilização térmica com calor úmido a 121 °C. O valor D aplicável é de 1 minuto.

O número total de microrganismos a serem destruídos durante a vida útil do produto será:

$$10^{10+3} = 10^{13}$$

Se toda essa população microbiana fosse exposta a calor úmido a 121 °C durante um período de treze minutos, ela seria reduzida a  $10^{-13}$  vezes seu número inicial, ou seja, para  $10^{13-13} = 10^0 = 1$ . O tempo de exposição de treze minutos seria assim suficiente (sob todas as outras hipóteses acima) para evitar que o número total de ampolas contaminadas exceda o valor de um. Do ponto de vista de cada ampola, treze minutos de exposição reduziram a população microbiana ao valor teórico de:

$$10^{3-13} = 10^{-10}$$

Interpretar este valor numérico como a probabilidade de ainda ter uma ampola contaminada em dez mil milhões de ampolas esterilizadas significa que uma única ampola ainda estará contaminada de um total de  $10^{10}$  (ou dez ampolas de um total de  $10^{11}$ ).

**Este valor de probabilidade é definido como PNSU (probabilidade de unidade não estéril).**

Nos últimos tempos, o nome PNSU como critério de avaliação de esterilidade foi substituído, menos na Europa, pelo SAL (Sterility Assurance Level). O novo nome gerou alguma controvérsia, uma vez que um nível de garantia é comumente considerado bom se alto, mas a SAL foi oficialmente definida pela Farmacopeia Europeia de tal forma que seu valor numérico é o mesmo da PNSU. O nome SAP (Sterility Assurance Probability) também foi proposto, mas sem sucesso algum.

A discussão e o exemplo acima levam à conclusão de que o tempo ótimo de exposição de um processo de esterilização deve levar em conta não apenas a população microbiana inicial dentro do único item a ser esterilizado e as espécies e condições do microrganismo contaminante, mas também o total número de itens que se espera que sejam esterilizados durante o período de vida do produto.

As linhas de sobrevivência examinadas até agora são meramente teóricas. Na verdade, as linhas não são em linha reta e a diferença mais comum é que eles são côncavos ou convexos, especialmente para concentrações elevadas: isto é, assemelham-se ao trajeto das curvas B e C em relação ao percurso teórico em linha reta A (ver o Diagrama 3).

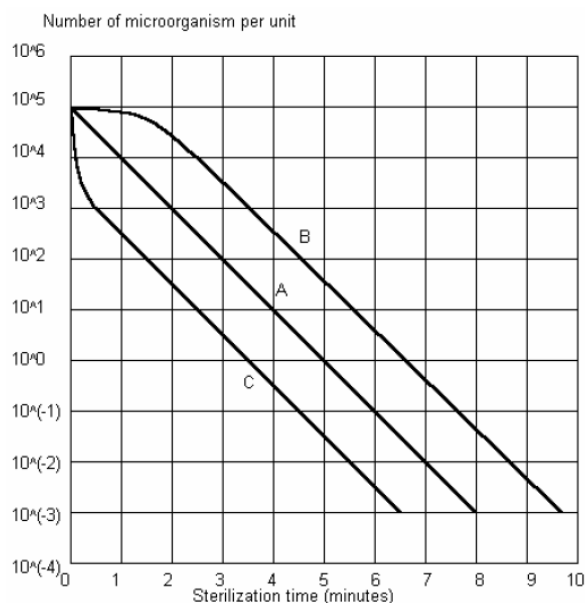


Diagrama 3

### 1.3. VALOR DE Z OU COEFICIENTE DE TEMPERATURA

Todas as considerações acima foram desenvolvidas sob a suposição básica de que a temperatura do vapor de condensação é mantida constante durante toda a duração da exposição. Parece óbvio que o valor D mudará conforme a temperatura alterar. Se os valores D obtidos a partir de dados experimentais para uma determinada espécie microbiana são plotados em um gráfico semi-logarítmico como a função da temperatura T, um caminho semelhante ao Diagrama 4 é obtido:

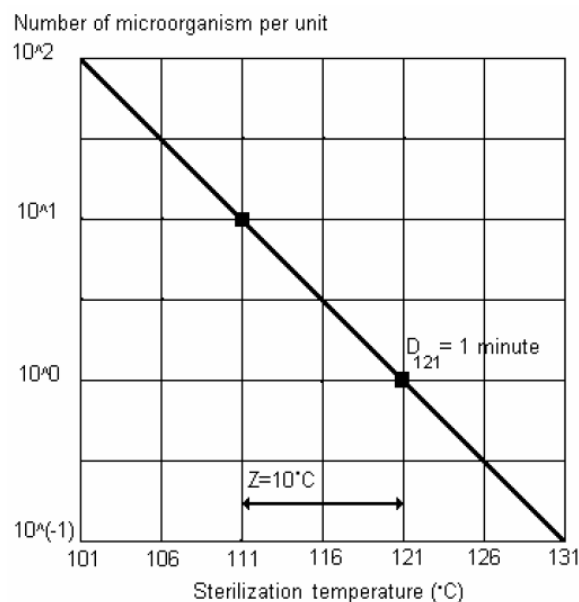


Diagrama 4

Neste caso, pode se ver que o valor D é 1 minuto a 121 °C (isto é, o valor médio que é muitas vezes considerado aceitável na ausência de dados experimentais mais precisos). Também pode ser visto que, no exemplo do Diagrama 4, o valor D varia em um fator de 10 se a temperatura varia em 10 °C.

**O valor z é definido como o coeficiente de temperatura de destruição microbiana, ou seja, como o número de graus de temperatura que causa uma variação de 10 vezes de D (ou mais geralmente, da taxa de esterilização).**

Os valores z geralmente oscilam entre 6 e 13 para esterilização a vapor na faixa 100 a 130; o valor de z é frequentemente considerado igual a 10 na ausência de dados experimentais mais precisos.

O fato do valor de D variar 10 vezes para uma variação de 10 °C, quando z = 10, não deve levar à falsa suposição de que D varia de uma vez (ou seja, dobra) para um aumento de 1 °C; obviamente isso não é verdade. Na verdade, é uma questão de encontrar o número que rende 10 quando elevado para a décima potência. Este número é 1,2598 ...

**Portanto, uma variação de 1 °C implica uma variação do valor D de 26%.**

Esta é uma porcentagem bastante grande que ilustra os efeitos dramáticos que são gerados quando a temperatura de esterilização é também apenas alguns graus menor do que o valor esperado, talvez apenas em algum ponto da carga.

Também é útil lembrar que o efeito da variação de temperatura diminui consideravelmente tanto à medida que a temperatura aumenta quanto se o método de esterilização é alterado: O valor de z cai para aproximadamente metade (e ainda menos) para a esterilização a seco a aproximadamente 200 °C. Nestas condições, o valor de z é de cerca de 20 em vez de 10. Por conseguinte, as pequenas diferenças de temperatura que podem ser tão dramáticas na esterilização a vapor são muito menos eficazes na esterilização a seco.

A Tabela 1 lista valores médios e valores-z "médios" para alguns microrganismos "típicos"; de fato os valores reais e valores-z dependem, em grande parte, do meio que contém os microrganismos e sua história.

VALOR MÉDIO DE D E z PARA ALGUNS MICROORGANISMOS TÍPICOS		
Microorganismo	D <sub>121</sub> (minutos)	z (°C)
Clostridium botulinum	0,2	10
Geobacillus stearothermophilus	2,0	6
Bacillus subtilis	0,5	10
Bacillus megaterium	0,04	7
Clostridium sporogenes	0,8 – 1,4	13
Clostridium histolyticum	0,01	10

Tabela 1

Na verdade, a 121 °C nenhum microrganismo tem exatamente D = 1' e z = 10 °C. No entanto, o uso combinado desses dois parâmetros no cálculo de F<sub>0</sub> e PNSU fornece margens de segurança para os microrganismos que são normalmente tratados.

#### 1.4. F<sub>0</sub> OU TEMPO DE EXPOSIÇÃO EQUIVALENTE A 121 °C

Como visto acima, o valor D é uma função da temperatura de exposição T em condições de vapor saturado (isto é, condensação) para cada microrganismo diferente:

$$D = D(T)$$

Com base na definição do coeficiente z, também deve ser:

$$D(T - z) = D(T) \times 10$$

Com a condição óbvia de que D = D<sub>0</sub> se T = T<sub>0</sub>, a função matemática que satisfaz a relação acima é (ver mais explicação na nota no final deste parágrafo):

$$D = D_0 \times 10^{\frac{T_0 - T}{z}} \quad (4)$$

onde D<sub>0</sub> é o valor de D na temperatura T<sub>0</sub> e para um dado microrganismo.

A suposição básica que leva à fórmula acima é obviamente que o valor z é o mesmo em ambos os lados da temperatura de referência T<sub>0</sub>. Sem dúvida, isso não é verdade de um ponto de vista rigoroso, mas provou ser uma abstração útil e segura o suficiente.

Vamos agora calcular o intervalo de tempo necessário para obter a uma temperatura constante  $T_0$  a mesma redução de uma população microbiana obtida na temperatura de exposição real  $T$ , variável continuamente durante um certo intervalo de tempo  $t$ .

Obviamente tem que ser:

$$\int_0^{t_0} \frac{dN_{T_0}}{N} = \int_0^t \frac{dN_T}{N}$$

e recordando a expressão (1) e a definição de valor  $D$ :

$$\int_0^{t_0} \frac{dt_0}{D_0} = \int_0^t \frac{dt}{D}$$

O valor  $D$  é variável com a temperatura real de exposição e é dado pela expressão (4), mas  $D_0$  é uma constante, então podemos escrever:

$$t_0 = \int_0^t 10^{\frac{T-T_0}{z}} dt \quad (5)$$

E assim, é possível calcular o efeito letal da exposição de uma população microbiana a uma temperatura variável  $T$  relacionando-a com uma esterilização hipotética realizada a uma temperatura constante  $T_0$  para o tempo  $t_0$ .

Se a temperatura de referência constante é assumida igual a 121,11 °C (originalmente 250 °F) e o valor  $z$  igual a 10, o tempo equivalente dado pela expressão (5) é denominado  $F_0$ :

$$F_0 = \int_0^t 10^{\frac{T-121,11}{10}} dt \quad (6)$$

**$F_0$  é o tempo de exposição equivalente a 121,11 °C do tempo real de exposição a uma temperatura variável, calculado para um microrganismo ideal com um coeficiente de destruição de temperatura igual a 10 °C.**

Primeiramente introduzida pela *National Canners Association* em 1968 (a), o  $F_0$  se tornou um tópico na produção farmacêutica, já que a FDA o utilizou extensivamente no histórico (mesmo que nunca entre em vigor e finalmente revogou) Regras Propostas de 1º de junho de 1976 (b), com a seguinte definição (seção 212.3):

*" $F_0$  significa a quantidade equivalente de tempo, em minutos a 121 °C ou 250 °F, que foi entregue a um produto pelo processo de esterilização".*

Para o cálculo prático de  $F_0$ , "um valor  $z$  de 10 °C ou 18 °F é assumido; o termo valor  $z$  significa a inclinação da curva do tempo de morte térmica e pode ser expresso como o número de graus ... necessário para provocar uma mudança de dez vezes na taxa de mortalidade ". Na maioria dos casos, o valor exato de 121,11 °C é substituído por uma aproximação de 121 °C. Além disso, o conhecimento dos valores de temperatura como a função contínua do tempo transcorrido geralmente não está disponível, e  $F_0$  é calculado da seguinte forma:

$$F_0 = \Delta t \sum 10^{\frac{T-121,11}{10}} \quad (7)$$

Onde:

$\Delta t$  = intervalo de tempo entre duas medições seguintes de T

T = temperatura do produto esterilizado no tempo t

z = coeficiente de temperatura, assumido como sendo igual a 10 °C

Se assumirmos uma esterilização com duração de 15 minutos, constantemente a 121 °C, obtemos:

$$F_0 = 15 \times 10^{\frac{121-121}{10}} = 15 \times 10^0 = 15 \times 1 = 15'$$

de fato, de acordo com a definição de  $F_0$ .

Se assumirmos que a esterilização dura 15 minutos, constantemente a 111 °C, obtemos:

$$F_0 = 15 \times 10^{\frac{111-121}{10}} = 15 \times 10^{\frac{-10}{10}} = 15^{-1} = 1,5'$$

Portanto, uma esterilização de 15 minutos a 111 °C é equivalente, em termos de efeito letal, a 1,5 minutos a 121 °C; isso pode ser facilmente esperado se  $z = 10$ .

Da mesma forma, se assumirmos uma esterilização de 15 minutos constantemente a 124 °C, temos:

$$F_0 = 15 \times 10^{\frac{124-121}{10}} = 15 \times 10^{\frac{3}{10}} = 29'$$

**Deve-se enfatizar que a equivalência matemática entre diferentes níveis de temperatura mantém um valor biológico se, e somente se, a exposição em todas as condições for realmente de calor úmido, isto é, se houver presença real de vapor saturado na superfície ou dentro do objeto ser esterilizado.**

NOTA MATEMÁTICA. A transformada de Laplace de uma dada função  $f(x)$  é a função  $L[f(x)] = F(y)$  definida como:

$$L[f(x)] = F(y) = \int_0^{+\infty} e^{-yx} * f(x) dy$$

O seguinte é fácil de verificar: se  $F(y)$  é a transformada de Laplace da função  $f(x)$ , então  $e^{-yz} * F(y)$  é a transformada de Laplace da função  $f(x-z)$ .

Agora, vamos considerar a equação  $D(T-z) = D(T) * 10$  e as transformações de Laplace de ambos os membros dela.

Então podemos escrever:

$$F(y) = L[D(T)]$$

$$e^{-yz} * F(y) = L[D(T-z)]$$

$$e^{-yz} * F(y) = 10 * F(y)$$

A solução óbvia desta equação:

$$y = -\frac{\ln 10}{z}$$

é o valor do polo da anti-transformada de Laplace da função D (T).

$$L[D(T)] = \frac{c}{y + \frac{\ln 10}{z}}$$

onde **c** é constante.

Ao transformar a equação acima, obtemos:

$$D(T) = c * e^{-\frac{\ln 10 * T}{z}} = c * 10^{-\frac{T}{z}}$$

O valor de **c** pode ser calculado com a condição  $D = D_0$  se  $T = T_0$ .

A solução final é então:

$$D = D_0 * 10^{-\frac{T_0 - T}{z}}$$

## 1.5. TAXAS LETAIS

Devido à sua expressão exponencial, o cálculo de  $F_0$  não é imediato. Assim, foram elaboradas tabelas que listam as chamadas Taxas Letais, isto é, os coeficientes de equivalência que permitem comparar a exposição à temperatura T com a exposição durante o mesmo tempo a 121 °C. As taxas letais também podem ser consideradas os valores de  $F_0$  para uma única unidade de tempo.

As tabelas 2 e 3 mostram dois exemplos de cálculo de  $F_0$ . Na Tabela 2, assume-se  $z = 10$  °C e, portanto, os valores de  $F_0$  são calculados por sua rigorosa definição a 121,11 °C (250 °F). Na Tabela 3, os valores z são assumidos como variáveis entre 7 e 12 e tempos equivalentes diferentes a 121 °C são calculados com base neles. É interessante notar o quanto a variação do valor z influencia consideravelmente as taxas letais quando T varia.

Também deve ser notado na Tabela 3 que a mudança absoluta de Taxas Letais para a mesma mudança de temperatura é maior se o valor z diminuir, do que se subir. Isso depende da posição do valor de z como denominador da fração que é o expoente da expressão de  $F_0$ .

Em ambos os sentidos, o efeito das mudanças de temperatura é muito maior à medida que o valor z se torna menor.

<b>TABLE OF LETHAL RATES</b> in condition of saturated steam for a reference temperature of 121.11°C with z = 10°C, and for temperature values between 90°C and 130°C, with intervals of 0.1°C										
T°C	+0.0	+0.1	+0.2	+0.3	+0.4	+0.5	+0.6	+0.7	+0.8	+0.9
LETHAL RATE										
90	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001
91	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001
92	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.002
93	.002	.002	.002	.002	.002	.002	.002	.002	.002	.002
94	.002	.002	.002	.002	.002	.002	.002	.002	.002	.002
95	.002	.003	.003	.003	.003	.003	.003	.003	.003	.003
96	.003	.003	.003	.003	.003	.003	.004	.004	.004	.004
97	.004	.004	.004	.004	.004	.004	.004	.005	.005	.005
98	.005	.005	.005	.005	.005	.005	.006	.006	.006	.006
99	.006	.006	.006	.007	.007	.007	.007	.007	.007	.008
100	.008	.008	.008	.008	.008	.009	.009	.009	.009	.010
101	.010	.010	.010	.010	.011	.011	.011	.011	.012	.012
102	.012	.013	.013	.013	.013	.014	.014	.014	.015	.015
103	.015	.016	.016	.017	.017	.017	.018	.018	.019	.019
104	.019	.020	.020	.021	.021	.022	.022	.023	.023	.024
105	.024	.025	.026	.026	.027	.027	.028	.029	.029	.030
106	.031	.032	.032	.033	.034	.035	.035	.036	.037	.038
107	.039	.040	.041	.042	.043	.044	.045	.046	.047	.048
108	.049	.050	.051	.052	.054	.055	.056	.057	.059	.060
109	.062	.063	.064	.066	.067	.069	.071	.072	.074	.076
110	.077	.079	.081	.083	.085	.087	.089	.091	.093	.095
111	.097	.100	.102	.104	.107	.109	.112	.115	.117	.120
112	.123	.126	.128	.131	.135	.138	.141	.144	.148	.151
113	.154	.158	.162	.166	.169	.173	.177	.182	.186	.190
114	.194	.199	.204	.208	.213	.218	.223	.229	.234	.239
115	.245	.251	.256	.262	.268	.275	.281	.288	.294	.301
116	.308	.315	.323	.330	.338	.346	.354	.362	.371	.379
117	.388	.397	.406	.416	.426	.435	.446	.456	.467	.477
118	.489	.500	.512	.523	.536	.548	.561	.574	.587	.601
119	.615	.629	.644	.659	.674	.690	.706	.723	.739	.757
120	.774	.792	.811	.830	.849	.869	.889	.910	.931	.953
121	.975	.997	1.021	1.044	1.069	1.093	1.119	1.145	1.172	1.199
122	1.227	1.256	1.285	1.315	1.346	1.377	1.409	1.442	1.475	1.510
123	1.545	1.581	1.618	1.655	1.694	1.733	1.774	1.815	1.857	1.901
124	1.945	1.990	2.037	2.084	2.133	2.182	2.233	2.285	2.338	2.393
125	2.448	2.506	2.564	2.624	2.685	2.747	2.811	2.877	2.994	3.012
126	3.082	3.154	3.228	3.303	3.380	3.459	3.539	3.622	3.706	3.792
127	3.881	3.971	4.063	4.158	4.255	4.354	4.456	4.559	4.666	4.774
128	4.885	4.999	5.116	5.235	5.357	5.482	5.608	5.740	5.874	6.010
129	6.150	6.294	6.440	6.590	6.744	6.901	7.062	7.226	7.394	7.567
130	7.743	7.293	8.108	8.297	8.490	8.688	8.890	9.097	9.309	9.526

Tabela 2



TABLE OF LETHAL RATES in condition of saturated steam for a reference temperature of 121°C and z-values of 7°C to 12°C; and for temperature values between 100°C and 130°C, with intervals of 0.5°C						
TEMPERATURE (°C)	z-VALUES (°C)					
	7	8	9	10	11	12
	LETHAL RATE					
100	.001	.002	.005	.008	.012	.018
101	.001	.003	.006	.010	.015	.022
102	.002	.004	.008	.013	.019	.026
103	.003	.006	.010	.016	.023	.032
104	.004	.007	.013	.020	.028	.038
105	.005	.010	.017	.025	.035	.046
106	.007	.013	.022	.032	.043	.056
107	.010	.018	.028	.040	.053	.068
108	.014	.024	.036	.050	.066	.083
109	.019	.032	.046	.063	.081	.100
110	.026	.042	.060	.079	.100	.121
111	.037	.056	.077	.100	.123	.147
112	.052	.075	.100	.126	.152	.178
113	.072	.100	.129	.158	.187	.215
114	.100	.133	.167	.200	.231	.261
114.5	.118	.154	.190	.224	.257	.287
115	.139	.178	.215	.251	.285	.316
115.5	.164	.205	.245	.282	.316	.348
116	.193	.237	.278	.316	.351	.383
116.5	.228	.274	.316	.355	.390	.422
117	.268	.316	.359	.398	.433	.464
117.5	.316	.365	.408	.447	.481	.511
118	.373	.422	.464	.501	.534	.562
118.5	.439	.489	.527	.562	.593	.619
119	.518	.562	.599	.631	.658	.681
119.5	.611	.649	.681	.708	.731	.750
120	.720	.750	.774	.794	.811	.825
120.5	.848	.886	.880	.891	.901	.909
121	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
121.5	1.11	1.16	1.14	1.12	1.11	1.10
122	1.39	1.33	1.29	1.23	1.22	1.21
122.5	1.64	1.54	1.47	1.14	1.37	1.33
123	1.93	1.78	1.67	1.59	1.52	1.47
123.5	2.28	2.05	1.90	1.78	1.69	1.62
124	2.68	2.37	2.15	2.00	1.87	1.78
125	4.39	3.16	2.78	2.82	2.31	2.15
126	5.18	4.22	3.59	3.16	2.85	2.61
127	7.20	5.62	4.64	3.98	3.51	3.16
128	10.0	7.50	6.00	5.01	4.33	3.83
129	13.9	10.0	7.74	6.31	5.34	4.64
130	19.3	13.3	10.0	7.94	6.58	5.62

Tabela 3

## 1.6. EXEMPLO DE “PÓS-CÁLCULO” DE $F_0$

Como mencionado acima, é usual que a temperatura de esterilização não permaneça exatamente no valor definido durante todo o tempo de exposição; além disso, as fases de aquecimento e resfriamento também envolvem uma certa dose letal de calor úmido e podem ser consideradas no cálculo.

O gráfico da Tabela 4 é um exemplo de cálculo gráfico de  $F_0$  realizado após o processo com base no registro da temperatura de esterilização dentro de um recipiente preenchido com solução. O cálculo foi realizado com intervalos de um minuto ( $\Delta t = 1$ ), utilizando as Taxas Letais da Tabela 1 e incluindo as doses letais das fases de aquecimento e resfriamento (acima de 100 °C, quando ambos os valores numéricos das Taxas Letais são significativos e as condições de calor úmido podem ser supostas como já atingidas - esta condição é de extrema importância e deve sempre ser verificada).

Determinar  $F_0$  após o processo ser concluído é útil, mas o cálculo em tempo real de  $F_0$  durante o processo é muito mais interessante. Esse cálculo é facilmente realizado com sistemas eletrônicos. Neste caso, é possível controlar a esterilização não mais em termos de tempo de esterilização, mas sim em termos de  $F_0$  relacionado a um recipiente que foi identificado, durante a validação, como aquele que recebe a menor dose letal de toda a carga. **Devido ao requisito essencial de condições de calor úmido para um cálculo significativo dos valores de  $F_0$ , o controle do tempo de exposição nunca deve ser baseado em alvos  $F_0$ , mas nos casos de esterilização térmica de preparações aquosas.**



Tabela 4

## 1.7. SÍMBOLOS E DEFINIÇÕES UTILIZADOS EM TECNOLOGIA DE ESTERILIZAÇÃO

A Tabela 5 resume os símbolos e as descrições associadas dos termos usados com mais frequência na tecnologia de esterilização por calor úmido.

Símbolo	Dimensão Física	Definição	Descrição
$D_{T_0}$	Tempo	Valor de D (tempo de decaimento decimal)	O tempo necessário, a uma temperatura de referência $T_0$ em condições de calor úmido, para reduzir o número de microrganismos de uma dada espécie para 10% (1 redução logarítmica)
$D_T$	Tempo	Valor de D, a $T^\circ\text{C}$	O tempo necessário, à temperatura de $T^\circ\text{C}$ em condições de calor úmido, para reduzir o número de microrganismos de uma dada espécie a 10% (1 redução logarítmica)
$F_{(T,z)}$	Tempo	Tempo de exposição equivalente	Tempo de exposição equivalente a condições de calor úmido relacionadas a uma temperatura específica T e a um valor específico de z
$F_0$	Tempo	Tempo de exposição "Referência", "F zero" ou "F nulo"	Tempo de exposição equivalente em condições de calor úmido relacionado à temperatura de $121,11^\circ\text{C}$ (aproximadamente $121^\circ\text{C}$ ) e a $z = 10$
$N_0$	Nenhuma	Carga biológica inicial	Número de microrganismos viáveis contidos em uma unidade antes da esterilização
$N_0$	Nenhuma	Carga biológica sobrevivente	Número de microrganismos contidos em uma unidade, sobrevivendo a uma esterilização de U minutos a uma determinada temperatura
z	Diferença de temperatura ( $^\circ\text{C}$ )	Valor de z (coeficiente de temperatura)	Número de graus de variação de temperatura que causa uma variação de 10 vezes no valor de $D_{121}$
L	Nenhuma	Taxa letal	Razão de taxas de redução microbiana em T (a temperatura de exposição atual para condições de calor úmido) e $T_{ref}$ (a temperatura de referência, geralmente $121^\circ\text{C}$ ) é dado um valor de z (geralmente $10^\circ\text{C}$ )
PNSU or SAL	Nenhuma	Probabilidade de Unidade Não Estéril	Número que expressa a probabilidade de encontrar 1 unidade não esterilizada em um determinado número de unidades esterilizadas (lote)

## 2. DEFINIÇÃO DE "ESTÉRIL" E "ESTERILIZAÇÃO"

### **Estéril**

*Livre de microrganismos viáveis*

### **Esterilização**

*Qualquer processo físico ou químico que destrua todas as formas de vida, com especial atenção aos microrganismos (incluindo bactérias e formas esporogênicas) e inativa os vírus.*

Portanto, os termos "estéril" e "esterilização", em sentido estritamente biológico, descrevem a ausência e, respectivamente, a destruição de todos os microrganismos viáveis. Em outras palavras, são termos absolutos: um objeto ou sistema é "estéril" ou "não-estéril". A destruição de uma população microbiana submetida a um processo de esterilização segue progressão logarítmica: somente um tratamento de duração infinita pode fornecer a certeza absoluta de que toda a população microbiana foi destruída, e que o sistema é estéril.

Tornar as condições do tratamento de esterilização mais drásticas (isto é, aumentar o tempo de exposição e / ou a temperatura) implica normalmente uma deterioração das qualidades do produto e certamente aumenta os custos do processo. Concorde-se, portanto, que o produto é aceitável como estéril quando a probabilidade de encontrar uma unidade não esterilizada em um lote esterilizado acarreta um risco menor do que os outros riscos associados ao uso do próprio produto.

Mais propriamente, na indústria farmacêutica, para definir uma unidade como estéril, deve-se poder certificar, em base estatística, as condições de preparação e esterilização desse produto específico e desse lote específico, que menos de uma unidade em um milhão está exposta ao risco de não ser estéril. A probabilidade de encontrar uma unidade não estéril (PNSU = probabilidade de unidade não estéril, ou em inglês SAL = Sterility Assurance Level) deve, portanto, ser menor (como valor matemático) de  $10^{-6}$ .

### 3. CÁLCULO EM TEMPO REAL DE $F_0$ COM AUTOCLAVE COMPUTADORIZADA

A tecnologia eletrônica permite o uso de um controlador de processo para a gestão de uma autoclave de esterilização. Se o controlador de processo for suficientemente sofisticado, além das funções usuais de controle, monitoramento e alarme, ele também pode calcular  $F_0$  em tempo real e, portanto, se for biologicamente apropriado, controlar processo com base neste algoritmo. Um sistema de controle de autoclave computadorizado típico, por exemplo, opera da seguinte maneira.

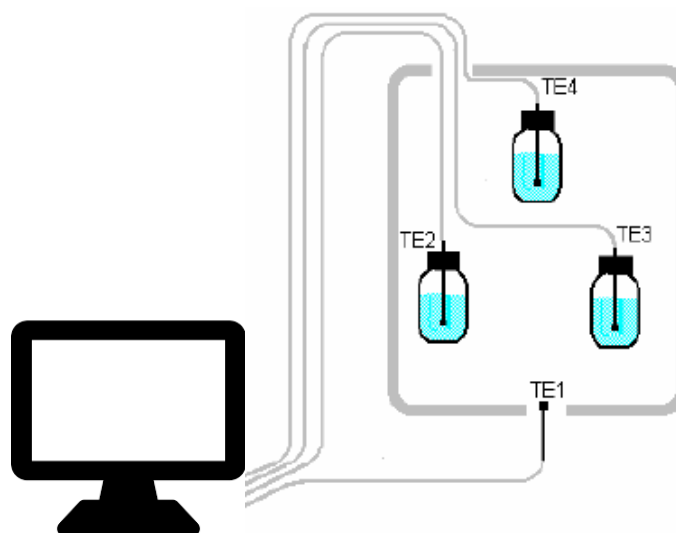


Figura 1

A autoclave é geralmente fornecida com múltiplas sondas de temperatura em sua câmara. Essas sondas controlam o processo: uma é inserida na linha de drenagem do esterilizador, enquanto as outras sondas são flexíveis e podem ser colocadas nos recipientes da carga a ser esterilizada, imersas na solução nela contida. O operador pode escolher controlar o processo de esterilização de acordo com três modos alternativos.

#### 3.1. CONTROLE "TRADICIONAL" COM BASE NO TEMPO DE EXPOSIÇÃO

O programador pré-configura quatro parâmetros:

1. A temperatura do conjunto de esterilização, por exemplo, 121 °C
2. A gama de temperatura de esterilização em torno deste valor, por exemplo, 120,5 °C + 1 °C, de modo que a faixa de oscilação aceitável seja de 120,5 °C a 121,5 °C

3. a duração da fase de esterilização, por exemplo, 20 minutos
4. o tempo aceitável de excursões a partir do limite inferior do intervalo de oscilação da temperatura de esterilização, por exemplo, 10 minutos.

Nestas condições, a fase de esterilização começa quando a sonda de calor "mais fria", entre aquelas habilitadas pelo programador para controlar o processo, entrou na faixa aceitável (veja a Figura 2). Se todas as oscilações de todas as sondas de calor permanecerem no intervalo de oscilação aceitável, a fase de esterilização terminará 20 minutos após a sonda de calor "mais fria" ter entrado no intervalo. No entanto, se uma ou mais sondas de calor ficarem mais frias do que o limite inferior de oscilação aceitável, o computador reagirá da seguinte maneira.

A duração das "excursões" (independentemente de quais sondas de calor as registraram) é individualmente menor do que o parâmetro pré-estabelecido na etapa 4 (10 minutos no exemplo): a contagem do tempo de esterilização permanece mantida durante as "saídas" e, portanto, a duração da fase de esterilização é aumentada pelo valor da soma de todas as saídas da mesma sonda (ver Figura 3).

Uma "excursão" é maior que o parâmetro definido no item 4, por exemplo, 12 minutos: assim que a excursão exceder 10 minutos, a fase de esterilização reinicia desde o início e a contagem do tempo de esterilização é reiniciada somente quando a temperatura retorna dentro da faixa de tolerância. Alarmes como "falta de temperatura de esterilização" e "tempo de esterilização suspenso" ou "redefinição do tempo de esterilização" monitoram as anomalias acima.

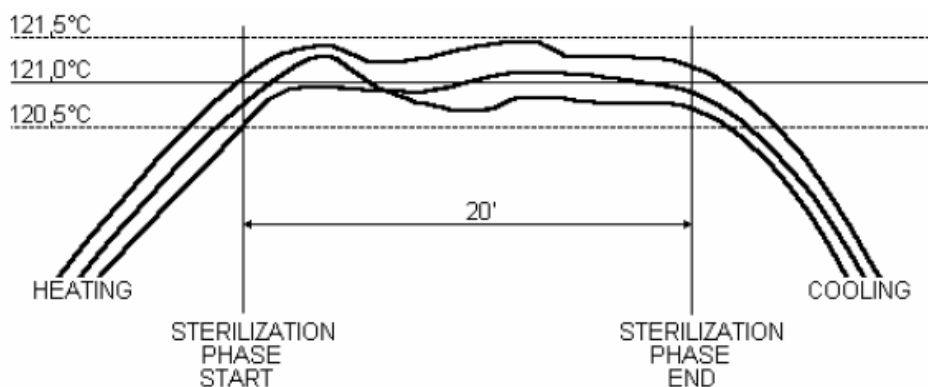


Figura 2

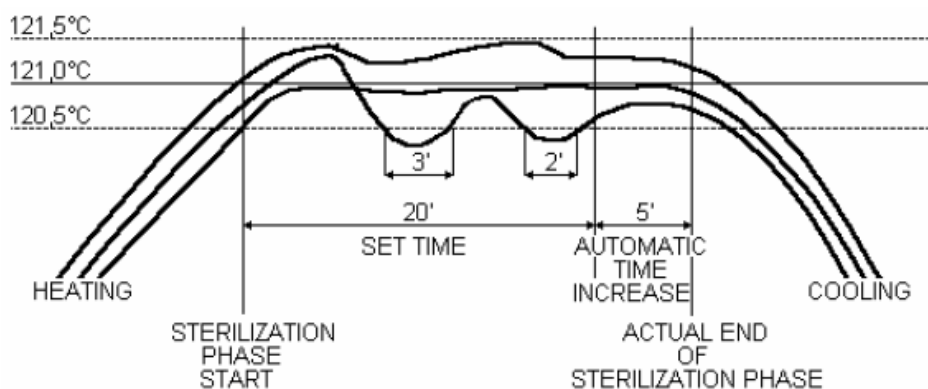


Figura 3

### 3.2. CONTROLE BASEADO EM $F_0$

O responsável pelo processo de esterilização define os seguintes parâmetros:

1. A temperatura do conjunto de esterilização, por exemplo, 121 °C
2. A faixa de temperatura de esterilização em torno deste valor, por exemplo, 120,5 °C + 1 °C, de modo que o intervalo de oscilação aceitável será de 120,5 °C a 121,5 °C
3. O valor alvo de  $F_0$  que, quando resumido pela sonda mais fria, causa o fim da fase de esterilização, por exemplo,  $F_0 = 15'$  ( $F_0$  é ajustável entre 1 e valores muito altos)
4. A temperatura de início do cálculo de  $F_0$ , que normalmente pode ser predefinida de 90 °C para cima (a obtenção prévia de condições de calor úmido deve sempre ser verificada e monitorada). Se a temperatura inicial de cálculo estiver definida para um valor 0,5 °C inferior à temperatura de esterilização (como no Exemplo 1, ver abaixo), apenas as doses letais fornecidas durante a fase de esterilização são consideradas. Se for ajustado para 100 °C (como no Exemplo 2, ver abaixo), as doses letais fornecidas durante o aquecimento são levadas em conta para terminar a fase de esterilização, enquanto as doses letais fornecidas durante o resfriamento (até o valor pré-estabelecido) também são levados em conta para o cálculo. **É sempre necessário lembrar que as condições de calor úmido devem ser atingidas e preservadas para dar um significado biológico aos valores de  $F_0$ : por essa razão, é uma boa prática não calcular valores de  $F_0$  para temperaturas inferiores à temperatura mínima de esterilização (120,5 °C em nossos exemplos) quando produtos rígidos / porosos são esterilizados.**
5. O valor do coeficiente de temperatura z, que é variável entre 5 °C e 20 °C, mas é normalmente ajustado para 10 °C (para obter um valor  $F_0$  propriamente dito).

O cálculo de  $F_0$  é realizado independentemente para cada sonda numa base de tempo muito pequena: por exemplo, 1 segundo ou menos. Portanto, a cada segundo ou menos, e separadamente para cada sonda de temperatura usada para monitorar o processo, o computador calcula a temperatura de entrada e saída da base de tempo, calcula a média deles, insere essa temperatura média na fórmula de  $F_0$ , calcula a  $F_0$  parcial e a adiciona à  $F_0$  acumulada anteriormente para essa sonda. A cada intervalo de tempo selecionado pelo programador, esses valores são registrados e impressos em termos digitais. Os valores acumulados pelas sondas mais frias e mais quentes são exibidos na tela e são atualizados a cada 1 ou 2 segundos.

Quando atingem o valor alvo predefinido, a fase de esterilização termina. Vamos examinar alguns exemplos de controle baseado em  $F_0$  que esclarecerão a descrição acima. Por uma questão de simplicidade, eles se referem a uma única sonda.

#### Exemplo 1 (Figura 4)

O cálculo de  $F_0$  inicia quando a esterilização começa, ou seja, o cálculo começa quando a temperatura corresponde à temperatura mínima de esterilização, isto é, o limite inferior da faixa de temperatura de esterilização aceitável. A fase termina quando a sonda “mais fria em média” tiver acumulado o valor alvo de  $F_0$  (12', neste caso). O cálculo de  $F_0$  termina quase imediatamente após a fase de esterilização ter sido finalizada e as condições de calor úmido terem cessado (por exemplo, com aspiração a vácuo na secagem).

**Exemplo 2** (Figura 5)

O cálculo de  $F_0$  começa quando a sonda excede o valor pré-definido durante a fase de aquecimento (100 °C neste exemplo, porque as sondas de monitoramento são inseridas em um produto aquoso). Quando a fase de esterilização é inserida, a sonda já acumulou uma  $F_0$  de 1,1'. A fase de esterilização termina quando a sonda acumulou o valor alvo de  $F_0$  (15', neste caso). No entanto, o cálculo de  $F_0$  continua até que a sonda saia do valor pré-estabelecido de 100 °C. Assim, é possível notar que uma dose letal adicional  $F_0 = 0,9'$  é fornecida durante a fase de arrefecimento ao produto aquoso.

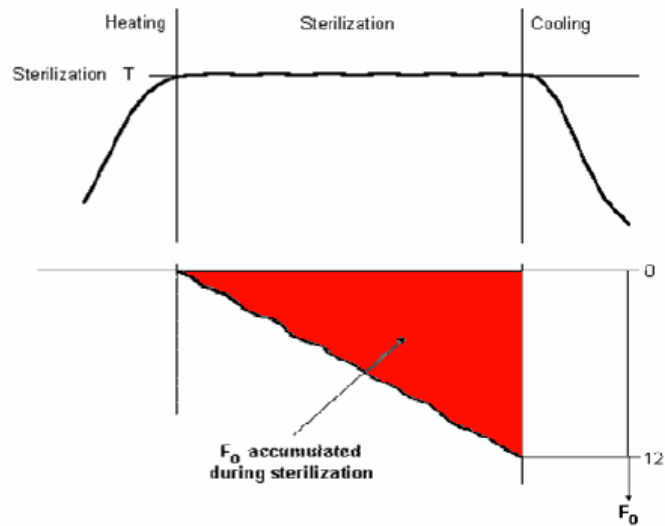


Figura 4

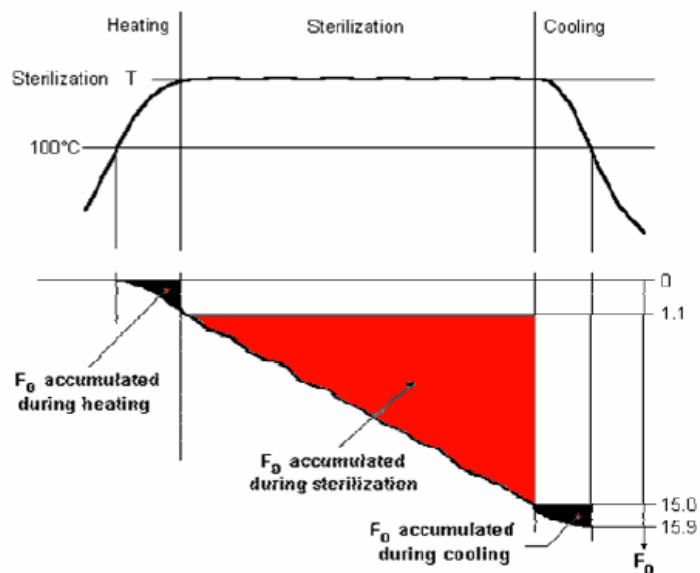


Figura 5



O cálculo das doses letais fornecidas durante o aquecimento e o resfriamento é necessário quando as preparações altamente sensíveis ao calor são esterilizadas terminalmente. A capacidade de selecionar os valores  $z$  permite o cálculo de doses letais em relação à sensibilidade ao calor características de um microrganismo contaminante específico e crítico. Essa possibilidade deve ser considerada como um refinamento no cálculo permitido pelas capacidades do computador.

Obviamente, quando um processo é controlado de acordo com  $F_0$ , "excursões" da faixa de oscilação de temperatura aceitável não causam mais as reações especificadas em itens a) e b) do parágrafo 3.1. Na verdade, se a temperatura cair, a dose letal acumulada durante esse período é automaticamente reduzida no cálculo de  $F_0$ . O inverso é verdadeiro se a temperatura subir. No entanto, as "excursões" do intervalo de temperatura aceitável (seja acima ou abaixo) geram ainda o alarme "falta de temperatura de esterilização" como no caso do ponto 3.1, enquanto a suspensão ou reposição do tempo de esterilização já não são aplicáveis.

O gerenciamento baseado em  $F_0$  do processo de esterilização permite um controle altamente racional do procedimento, mesmo em caso de perda de energia. Em tais condições, o controlador de processo, que é protegido por bateria, continua a operar, mas naturalmente não recebe mais sinais da autoclave; a autoclave em si é igualmente incapaz de executar os sinais de comando enviados pelo controlador de processo. Em caso de falha de energia, todas as válvulas de autoclaves e dispositivos de bloqueio são naturalmente movidas para a sua posição de repouso, o que corresponde à condição máxima de segurança.

### Exemplo 3 (Figura 6)

Suponhamos agora que a falha de energia ocorra durante a esterilização. O controlador de processo é capaz de detectar os horários em que a falha de energia começa e termina, e a temperatura na qual cada sonda de calor entra e sai do período de falha de energia. Em prática, as condições da Figura 6 ocorrem; como nos exemplos anteriores, a Figura 6 refere-se a uma única sonda para simplificar.

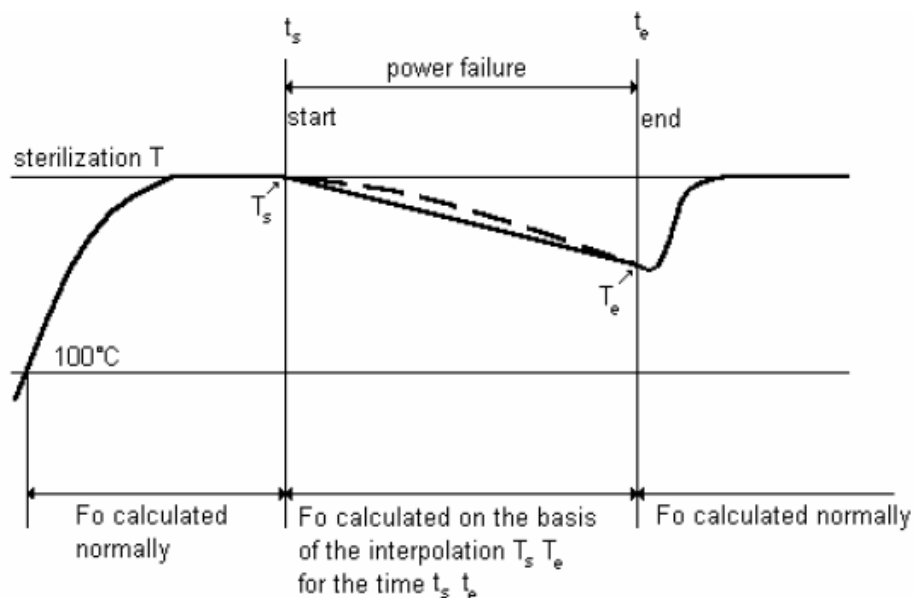


Figura 6

O controlador tem sido naturalmente incapaz de determinar a tendência da temperatura durante o intervalo de tempo  $T_s$ - $T_e$ . Quando a potência retorna, calcula  $F_0$  para este intervalo de tempo com base na interpolação linear entre as temperaturas  $T_s$ - $T_e$ . Tal cálculo é conservador em relação à tendência atual da temperatura (indicada em linhas tracejadas). Mesmo que não seja imediatamente intuitivo, a forma da tendência real pode ser facilmente demonstrada com investigações experimentais.

#### Exemplo 4 (Figura 7)

Se a falha de energia durar o suficiente para implicar a saída da temperatura do valor inicial do cálculo de  $F_0$  (por exemplo, 100 °C), a reação do computador quando a falha de energia termina é esquematicamente indicada na Figura 7 e pode ser resumida como segue: interpolação linear entre  $T_s$  e  $T_e$ ; cálculo de  $F_0$  durante falha de energia como interpolação linear entre as temperaturas  $T_s$ -100 °C para o intervalo de tempo  $t_e$ - $t_s$ ; no final do blecaute, o cálculo regular de  $F_0$  é retomado somente quando a temperatura excede novamente os 100 °C.

Obviamente, o controle de esterilização baseado em  $F_0$  é extremamente útil em todos os processos de esterilização. É praticamente indispensável quando é necessário esterilizar produtos altamente sensíveis ao calor para os quais a abordagem da "probabilidade de sobrevivência" foi adotada durante a validação.

As sondas de calor habilitadas para cálculo devem naturalmente ser inseridas na solução de algumas unidades representativas dispostas no ponto (ou, mais realisticamente, na região) da carga que foi determinada como a "mais fria" durante a validação.

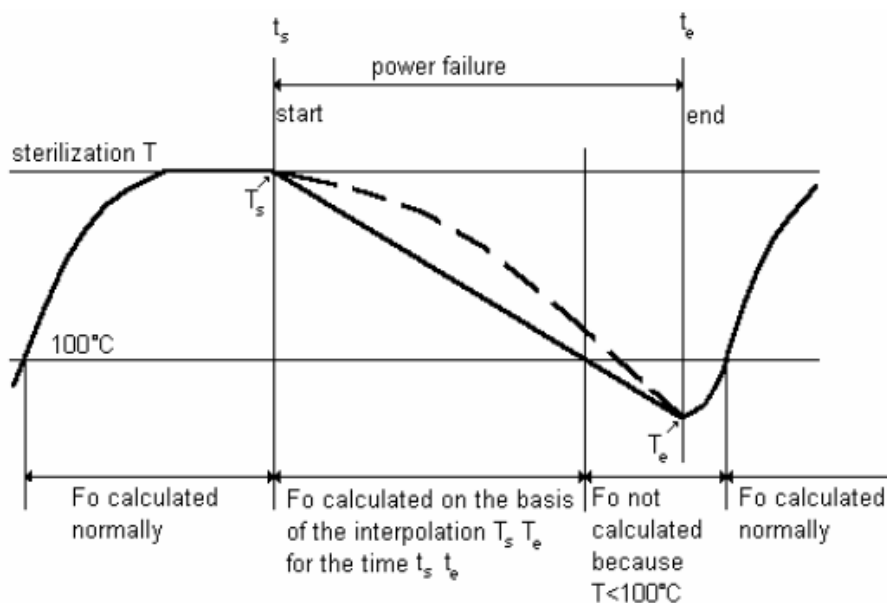


Figura 7

### 3.3. CONTROLE DE ESTERILIZAÇÃO BASEADO NO TEMPO COM CÁLCULO / IMPRESSÃO DE VALORES $F_0$

A esterilização é controlada exatamente conforme especificado no parágrafo 3.1.

No entanto, o programador também pré-define os parâmetros dos itens 6 e 7 do parágrafo 3.2. Portanto, esta fase termina quando se alcança um tempo de esterilização "eficaz", mas o cálculo de  $F_0$  é realizado e impresso simultaneamente (para cada sonda habilitada), conforme especificado no parágrafo 3.2. Este cálculo é meramente para verificação, mas, não obstante, é importante, pois permite a determinação de doses letais fornecidas nos pontos monitorados pelas sondas de calor ativadas.

O cálculo é extremamente útil quando o processo de esterilização é validado com o "exagero" (ou seja, "dose letal superabundante"), na qual, como é conhecido, é necessário provar que uma dose letal igual ao mínimo especificado foi fornecida durante a fase de esterilização até o ponto mais frio da carga.

É evidente que, se algumas sondas flexíveis que permitam o cálculo da  $F_0$  (adequadamente estabelecidas para esse fim) fossem introduzidas em contêineres representativos dispostos nos pontos mais frios da carga, eles fornecerão valores de  $F_0$  que podem ser aceitos como evidência inequívoca da execução da esterilização no espírito da validação anteriormente realizada.



## 4. RESUMO DO PRECEDENTE CONCEITOS EM TERMOS DE LAYMAN

O resumo simplificado a seguir pode ser usado para explicar esses conceitos de uma maneira facilmente compreensível para aqueles que podem ser menos treinados, mas que ainda assim se beneficiariam da compreensão da essência do trabalho que estão realizando.

NOTA: o termo "Unidade" define um sistema fisicamente delimitado dentro do qual o microrganismo pode "homogeneizar" e proliferar.

Uma garrafa ou um frasco, juntamente com o seu conteúdo, são uma unidade. É mais difícil, mas igualmente necessário, alargar o conceito de unidade a um recipiente que contém, por exemplo, um sistema de filtração ou uma certa massa de roupa.

1. Até algumas dezenas de anos atrás, a esterilização a vapor era considerada uma "barreira potencial", isto é, fenômeno "tudo ou nada". Isso significaria que, uma vez que uma determinada temperatura seja atingida e mantida por um certo tempo, todos os microrganismos contidos em uma unidade morrem dentro desse tempo, independentemente do seu número. Os riscos de tal suposição são em qualquer caso evidentes.
2. Hoje em dia, foi demonstrado que a esterilização a vapor procede como uma reação química de primeira ordem ("reação de destruição") e, portanto, a uma taxa específica que é maior à medida que a temperatura aumenta e é uma função do número de microrganismos presentes na unidade.
3. Esta taxa pode ser expressa por meio do Tempo de Decaimento Decimal, indicado pelo valor D.
4. O valor D é o tempo, em minutos, necessário para reduzir o número de microrganismos presentes na unidade em 90%.
5. O valor D varia de acordo com o tipo de microrganismo (e com a sua "história"), o meio no qual está imerso e, como mencionado, a temperatura de esterilização.
6. À temperatura de 121 °C **em condições de calor úmido**, o valor D é geralmente entre 0,5 e 2 minutos: para microrganismos comumente tratados, muitas vezes é assumido, como uma média, que  $D = 1$  minuto.
7. Isto significa que no final de cada minuto a 121 °C, **em condições de calor úmido**, o número de microrganismos reduz para um décimo do número no início desse minuto.
8. Portanto, se uma unidade for mantida a 121°C **em condições de calor úmido** por 3 minutos, o número de microrganismos nela contidos é reduzido a um milésimo ( $1/10 \times 1/10 \times 1/10 = 1/1000$ ) do número inicial.
9. Se a carga bacteriana inicial de um lote de unidades a esterilizar for, em média, 1000 (ou seja, 1000 microrganismos por frasco ou garrafa), após 3 minutos de tratamento em condições de calor úmido a 121 °C, é reduzido em média para 1.
10. Após mais um minuto de esterilização (4 minutos no total), este raciocínio leva à conclusão de que a carga caiu para 1/10, ou seja, 0,1. No entanto, isto não deve ser entendido como significando que neste ponto cada unidade contém um décimo de um microrganismo (caso em que as unidades seriam estéreis ...), mas deve ser considerado como significando que existe uma probabilidade de que 1/10 de as unidades ainda estão contaminadas.

11. Após 9 minutos de tratamento a 121 °C **em condições de calor úmido**, a carga bacteriana do lote em questão é reduzida, em média, para 1 / 1.000.000. A probabilidade de ainda ter uma unidade contaminada naquele lote é, portanto, de 1 em 1.000.000.
12. Esta é a garantia mínima de esterilização que deve ser alcançada no campo farmacêutico, embora uma garantia maior, por exemplo,  $10^{-9}$ , ou seja, 1 em 1 bilhão, seja frequentemente procurada.
13. Esta garantia é expressa como PNSU (ou SAL): Probabilidade de Unidade Não Estéril. PNSU =  $10^{-6}$  ou SAL =  $10^{-6}$  significa que a probabilidade de encontrar uma unidade não estéril em um lote é de 1 em 1 milhão.
14. Para alcançar uma determinada PNSU ou SAL, é necessário atender a várias condições:
  - conhecer estatisticamente a carga bacteriana inicial (ou "bioburden") do lote (que é tudo menos fácil de determinar);
  - ter certeza de que mesmo o ponto mais frio dentro das unidades do lote recebeu uma dose letal de calor úmido suficiente para obter a PNSU necessária;
  - se a esterilização não for realizada a 121 °C, ser capaz de relacionar a 121 °C (por cálculo) a eficácia da esterilização para aplicar corretamente o conceito previamente definido de D.

15.  $F_0$  é definido como:

**O tempo de exposição equivalente a 121,11 °C do tempo real de exposição a uma temperatura variável, calculado para um microrganismo ideal com um coeficiente de destruição de temperatura igual a 10 °C.**

(A definição proposta pelo FDA em 1976 era: "*a quantidade equivalente de tempo, em minutos a 121 °C ou 250 °F, que foi entregue a um produto pelo processo de esterilização*".)

NOTA: A temperatura exata equivalente a 250 °F é 121,11 °C.

16. A abordagem "overkill", isto é, "excesso de esterilização", é geralmente utilizada quando um processo de esterilização para produtos resistentes ao calor é validado.

Essencialmente, com esta abordagem é necessário fornecer uma  $F_0$  que seja segura e de acordo com algumas sugestões não inferior a 15' exclusivamente durante a fase de esterilização (ou seja, ignorando as doses de calor letais fornecidas durante o aquecimento e resfriamento, resultando em uma boa margem de segurança em relação ao valor mínimo) para a unidade colocada no ponto mais frio da carga.
17. Na prática, é conceitualmente fácil e relativamente livre de problemas relacionar calcular o tempo de esterilização para 121 °C ou para  $F_0$  após o processo. Pelo contrário, isto é difícil de fazer em "tempo real", isto é, enquanto a esterilização está em andamento, uma vez que o cálculo deve ser realizado tão rapidamente que o uso de um computador é inevitável.
18. Se  $F_0 = 15'$  for atingido, o tempo de exposição necessário é inferior a 15 minutos se a temperatura de esterilização for superior a 121 °C e superior a 12 minutos se a temperatura de esterilização for inferior a 121 °C, **desde que as condições de calor úmido sejam atingidas e preservadas em qualquer caso.**

19. Para a maioria dos microrganismos com os quais comumente lidamos, supõe-se que a cada 10 °C de deslocamento da temperatura de 121 °C aconteça uma mudança de dez vezes na taxa de esterilização, **desde que as condições de calor úmido sejam preservadas em qualquer caso.**
20. Portanto, se trabalharmos a 111 °C, para obter uma  $F_0$  de 15', é necessário esterilizar por  $12 \times 10 = 120$  minutos, enquanto que se trabalharmos a 131 °C, então  $12/10 = 1,2$  minutos, ou seja, 72 segundos, são teoricamente suficientes, **desde que as condições de calor úmido sejam preservadas em qualquer caso.**
21. Se quisermos determinar até que ponto a taxa de esterilização nas condições de calor úmido varia para variações de temperatura de 1 °C, devemos encontrar o número que rende 10 quando elevado à décima potência: esse número é 1,26. Isto significa que uma variação de 1 °C na temperatura de esterilização provoca um aumento (ou redução) da taxa de esterilização por um fator de 1,26, isto é, 26%.
22. De modo semelhante, pode ser mostrado que uma variação de temperatura de 0,1 °C em condições de calor úmido provoca uma variação de taxa com uma razão de 1,02, isto é, aproximadamente 2%.
23. É, portanto, evidente que mesmo pequenas variações de temperatura em torno de 121 °C causam variações altamente significativas e dificilmente desprezíveis na taxa de esterilização. Por exemplo, esterilizar a 119 °C significa, de fato, aumentar (aproximadamente) o tempo de exposição em  $1,24 \times 1,24 = 1,5376$  vezes para o relacionar com 121 °C.  
Portanto, por exemplo, se  $F_0 = 15'$  for alcançado, é necessário esterilizar por cerca de 23' em vez de 15'.
24. A seguinte expressão matemática permite o cálculo de  $F_0$  e é fornecida para informação:

$$F_0 = \Delta t \sum 10^{\frac{T-121}{10}}$$

onde T é a temperatura real em condições de calor úmido no intervalo de tempo considerado, e o número no denominador do expoente é o número de graus Celsius que causa uma variação de 10 vezes da taxa de esterilização (coeficiente z).

25. Foi compilada uma tabela de taxa letal (ver tabela 6) que permite, por meio de uma simples multiplicação, passar de qualquer tempo de esterilização a uma determinada temperatura a uma certa temperatura para  $F_0$  para temperaturas entre 90 e 130,9 com intervalos de 0,1.
26. Vamos analisar a Tabela 6. Escolha a temperatura, em graus Centígrados inteiros, na coluna da esquerda e os décimos de grau a serem adicionados na linha superior. A intersecção dos dois valores produz a taxa necessária. Por exemplo, a taxa emoldurada com linhas finas é de 120,0 °C, a taxa dupla é de 120,2 °C e a taxa de estrutura grossa é de 121,8 °C. A taxa para 121,1 °C é muito próxima de 1 (seria exatamente 1 para 121,11 °C).

27. Portanto, se nos referirmos ao fator para 120,0 °C, podemos dizer que qualquer tempo de esterilização a 120,0 °C deve ser multiplicado por 0,774 para torná-lo igual ao tempo em 121,1 °C, ou seja, para expressá-lo como  $F_0$ .

Portanto:

$$1 \text{ minuto a } 120,0 \text{ °C} = 1' \times 0,774 = 0,77 \text{ minutos a } 121,1 \text{ °C}$$

$$15 \text{ minutos a } 120,0 \text{ °C} = 15' \times 0,774 = 11,61 \text{ minutos a } 121,1 \text{ °C}$$

$$20 \text{ minutos a } 120,0 \text{ °C} = 20' \times 0,774 = 15,87 \text{ minutos a } 121,1 \text{ °C}$$

NOTA: Os decimais dos valores de tempo são décimos e centésimos de um minuto, não segundos.

28. Se um cálculo de  $F_0$  após o processo deve ser realizado com base em um gráfico da temperatura medida dentro de uma unidade submetida à esterilização, é possível operar conforme descrito na Tabela 4 (parágrafo 1.6).
29. A Figura 8 é uma ilustração dos conceitos de  $F_0$ , D e PNSU (ou SAL).
30. **Nunca esqueça que na tecnologia de esterilização por calor úmido, qualquer equivalência de temperatura é sempre condicionada pela presença real de vapor saturado, ou seja, condensado na superfície ou dentro do produto a ser esterilizado.**

TABLE OF LETHAL RATES										
in condition of saturated steam for a reference temperature of 121.11°C = 250°F with z = 10°C, and for temperature values between 90°C and 130°C, with intervals of 0.1°C										
TEMP.°C	+0.0	+0.1	+0.2	+0.3	+0.4	+0.5	+0.6	+0.7	+0.8	+0.9
	LETHAL RATE									
90	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001
91	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001
92	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.001	.002
93	.002	.002	.002	.002	.002	.002	.002	.002	.002	.002
94	.002	.002	.002	.002	.002	.002	.002	.002	.002	.002
95	.002	.003	.003	.003	.003	.003	.003	.003	.003	.003
96	.003	.003	.003	.003	.003	.003	.004	.004	.004	.004
97	.004	.004	.004	.004	.004	.004	.004	.005	.005	.005
98	.005	.005	.005	.005	.005	.005	.006	.006	.006	.006
99	.006	.006	.006	.007	.007	.007	.007	.007	.007	.008
100	.008	.008	.008	.008	.008	.009	.009	.009	.009	.010
101	.010	.010	.010	.010	.011	.011	.011	.011	.012	.012
102	.012	.013	.013	.013	.013	.014	.014	.014	.015	.015
103	.015	.016	.016	.017	.017	.017	.018	.018	.019	.019
104	.019	.020	.020	.021	.021	.022	.022	.023	.023	.024
105	.024	.025	.026	.026	.027	.027	.028	.029	.029	.030
106	.031	.032	.032	.033	.034	.035	.035	.036	.037	.038
107	.039	.040	.041	.042	.043	.044	.045	.046	.047	.048
108	.049	.050	.051	.052	.054	.055	.056	.057	.059	.060
109	.062	.063	.064	.066	.067	.069	.071	.072	.074	.076
110	.077	.079	.081	.083	.085	.087	.089	.091	.093	.095
111	.097	.100	.102	.104	.107	.109	.112	.115	.117	.120
112	.123	.126	.128	.131	.135	.138	.141	.144	.148	.151
113	.154	.158	.162	.166	.169	.173	.177	.182	.186	.190
114	.194	.199	.204	.208	.213	.218	.223	.229	.234	.239
115	.245	.251	.256	.262	.268	.275	.281	.288	.294	.301
116	.308	.315	.323	.330	.338	.346	.354	.362	.371	.379
117	.388	.397	.406	.416	.426	.435	.446	.456	.467	.477
118	.489	.500	.512	.523	.536	.548	.561	.574	.587	.601
119	.615	.629	.644	.659	.674	.690	.706	.723	.739	.757
120	.774	.792	.811	.830	.849	.869	.889	.910	.931	.953
121	.975	.997	1.021	1.044	1.069	1.093	1.119	1.145	1.172	1.199
122	1.227	1.256	1.285	1.315	1.346	1.377	1.409	1.442	1.475	1.510
123	1.545	1.581	1.618	1.655	1.694	1.733	1.774	1.815	1.857	1.901
124	1.945	1.990	2.037	2.084	2.133	2.182	2.233	2.285	2.338	2.393
125	2.448	2.506	2.564	2.624	2.685	2.747	2.811	2.877	2.944	3.012
126	3.082	3.154	3.228	3.303	3.380	3.459	3.539	3.622	3.706	3.792
127	3.881	3.971	4.063	4.158	4.255	4.354	4.456	4.559	4.666	4.774
128	4.885	4.999	5.116	5.235	5.357	5.482	5.608	5.740	5.874	6.010
129	6.150	6.294	6.440	6.590	6.744	6.901	7.062	7.226	7.394	7.567
130	7.743	7.293	8.108	8.297	8.490	8.688	8.890	9.097	9.309	9.526

Tabela 6



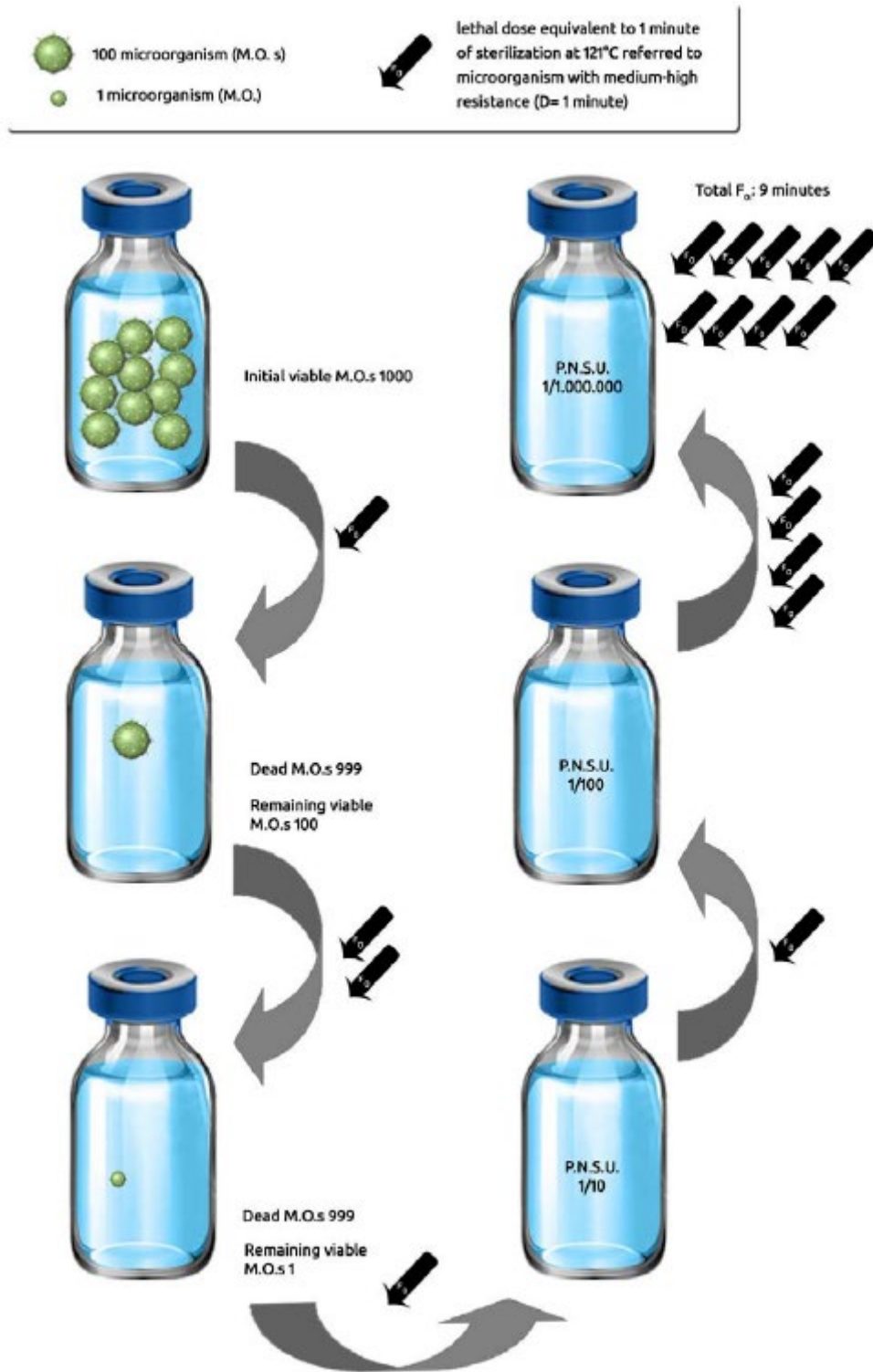


Figura 8

## 5. BIBLIOGRAFIA

### 5.1. LITERATURA CITADA

- (a) National Canners Association, "Laboratory Manual for Food Canners and Processors", Vol. 1, AVI Publishing Co., Westport, CT, 1968.
- (b) F. D. A., "Current Good Manufacturing Practice in Manufacture, Packing or Holding of LVPs", Proposed Rules for 21 CFR Part 212, Federal Register, Vol. 41, No. 106, June 1, 1976 (repealed).

### 5.2. REFERÊNCIAS SIGNIFICATIVAS

Akers, M. J., "Dynamics of microbial growth and death in parenteral products", Journal of Parenteral Drug Association, 33 372 (1979).

Moldenhauer J, ed., Steam Sterilization, A Practitioner's Guide, PDA, 2003.

Parenteral Drug Association, Technical Report No.1, Revised 2007: Validation of Moistheat Sterilization Processes.

Pflug, I. J., Textbook for an Introductory Course in the Microbiology and Engineering of Sterilization Processes, University of Minnesota, 19825.

Stumbo, C. R., Thermobacteriology in Food Processing, Academic Press, 19732.

Wallhäußer, K. H., Praxis der Sterilisation, Georg Thieme Verlag, 1988.



Traduzido por: **Gustavo Dellagiustina**, 2018