

Aspectos microbiológicos na fabricação de produtos domissanitários - GMF-I

MSc *Eliane Gama Lucchesi*^{1,2}

*Giovanni Carità Junior*¹ (Palestrante)

1- IpeL Itibanyl Produtos Especiais Ltda. – Rod. Edgard Maximo Zambotto Km 72,5 – Jarinu – SP – Brasil.

Email: eliane@ipel.com.br , giovanni@ipel.com.br

2- Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) – Doutorado na Faculdade de Engenharia Química.

INTRODUÇÃO

O mundo está em constante evolução. Desde o ser vivo mais simples até o mais complexo todos tem como principal objetivo a perpetuação de sua espécie. Essa evolução leva os seres humanos a buscar uma qualidade de vida mais adequada e saudável e esta busca engloba não somente o que comemos ou nosso estilo de vida, mas também como, onde, e o que produzimos.

Com este objetivo todos os setores industriais estão em busca de alternativas de sustentabilidade, matérias primas mais ecologicamente corretas, menos tóxicas e conseqüentemente menos agressivas ao meio ambiente.

Com a proibição do formol e seus derivados na fabricação de produtos domissanitários, o controle microbiológico na fabricação dos produtos passa a ser fundamental para a garantia da qualidade dos produtos. Dentro desse âmbito, faz-se necessário evoluir o conceito de controle microbiológico na fabricação. A IPEL desenvolveu um novo conceito o GMF I – Gerenciamento Microbiológico do Futuro IPEL Futuro que busca um controle abrangente do processo produtivo através de alguns critérios como :

- Implementação de edificações e instalações mais adequadas, que possuam sustentabilidade, ou seja, capacidade de utilizar recursos naturais renováveis (como exemplo energia solar e/ou eólica),
- Diagnostico e identificação de pontos críticos para contaminação microbiana
- Boas Práticas de Fabricação e Controle, desde a entrada das Matérias Primas até a entrega do produto final no mercado, dentre outros.

A produção de domissanitários utiliza água em suas formulações, logo está sujeito à contaminação microbiana, não somente nas suas matérias primas e produtos finais, como também em suas instalações. O trabalho aqui apresentado tem como objetivo introduzir o conceito de Boas Práticas de Fabricação no âmbito de controle microbiológico, ilustrar suas vantagens e através de exemplos práticos indicar como implantar tais controles.

HISTÓRICO

Os microrganismos podem sofrer mutações gerando indivíduos mais adaptados e resistentes aos controles convencionais. Tal característica, aliada à velocidade de reprodução e capacidade de adaptação dos mesmos, em conjunto com a presença cada vez maior de produtos e matérias primas base aquosa resulta em uma situação onde comportamentos novos e inesperados podem ocorrer, demandando não só a utilização de microbicidas, mas também de procedimentos adequados de monitoramento e controle.

Felizmente, paralelo à evolução da microbiota, os procedimentos e técnicas para seu estudo também evoluíram. Com base nestas mudanças um novo conceito sobre contaminação industrial vem sendo discutido, disseminado e aceito.

A microbiologia tradicional estuda os microrganismos isoladamente, os testes são efetuados com cultura isoladas, caracterizadas, identificadas e certificadas durante anos. Estas culturas são mundialmente chamadas de cepas padrão ou cultura tipo. Todos os ensaios são baseados na fisiologia e na genética de algumas espécies que possuem comportamentos diferentes de quando estão interagindo com outras espécies. Isso leva a uma idealização de condições que muitas vezes não reflete com fidelidade os comportamentos observados na prática.

Nas contaminações industriais o que geralmente se encontra é uma mistura de espécies convivendo juntas, interagindo e possibilitando que cada espécie se comporte de maneira diferente do seu isolado, o que acarreta inúmeros problemas de controle microbiológico e da erradicação desta contaminação.

Em 1943, Zobell em seu experimento com suspensão celular em uma garrafa de vidro, observou, pela primeira vez, que as bactérias localizavam-se em maior número na superfície interna da garrafa do que no líquido dentro dela. Em 1978, Costerton através de técnicas de microscopia sofisticadas, confirmou este fato e a partir daí o conceito de biofilme começou a ser difundido e mais atentamente estudado. A partir da década de 80 a microbiologia “moderna” intensificou o estudo sobre biofilmes, principalmente nas áreas médica e odontológica, porém com o passar do tempo, pode-se verificar que no setor industrial ocorriam surtos de contaminações aparentemente inexplicáveis pela microbiologia tradicional, foi neste momento que o aprendizado obtido na área da saúde sobre biofilmes foi aplicado no segmento industrial.

Biofilme microbiano é definido como uma associação de células bacterianas e de fungos, fixadas às superfícies, bióticas ou abióticas (Ceri et al., 2001), inclusas em uma complexa matriz extracelular de substâncias poliméricas (EPS). A EPS possui variada composição química, e não somente provê a estrutura orgânica do biofilme, como também facilita o arranjo espacial das diferentes espécies que o compõem. A EPS é composta principalmente por polissacarídeos, proteínas, ácidos nucleicos, glicoproteínas e fosfolipídios (Lennox et al., 2006). Esta matriz extracelular é formada em parte pelas próprias células e em parte por componentes do ambiente, como por exemplo, detritos, proteínas, materiais inorgânicos e até mesmo outros seres vivos. Supõe-se que menos de 10% dos microrganismos presentes em um sistema são constituídos por células planctônicas (isoladas e livres), estando mais de 90% na forma de biofilme (Ceri et al., 1999).

O processo de adesão (fixação) ocorre em duas fases, uma inicial (reversível) onde predominam atrações fracas e a segunda (irreversível), na qual predominam forças físicas e químicas, ocorrendo estabilização pela EPS (Christensen e Characklis, 1990). As células, durante a adesão, modificam seu fenótipo em resposta à aproximação de uma superfície, respondendo às condições ambientais com padrões de crescimento diferentes dos observados nas células livres (Costerton et al., 1987).

A formação do biofilme divide-se em 5 etapas consecutivas (American Society for Microbiology, 2005). A primeira, de adsorção, é reversível e ocorre em segundos. A segunda, de adesão, é irreversível e ocorre no intervalo de segundos a horas. A etapa de crescimento e divisão celular ocorre no período de horas a dias, a quarta etapa ocorre a de formação de EPS e biofilme. A última etapa, de adesão de outros microrganismos e liberação de micro-colônias, pode ocorrer no período de dias a meses (Figura 1).

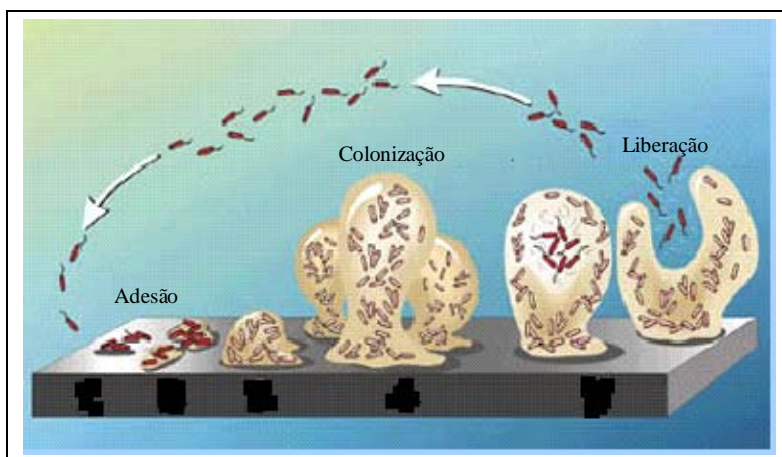


Figura 1: Etapas da Formação de Biofilme.

Costerton (1995) descreve a estrutura do biofilme *in vitro* como similar a torres de cogumelo com canais de água entre elas, conforme indicado na Figura 2.

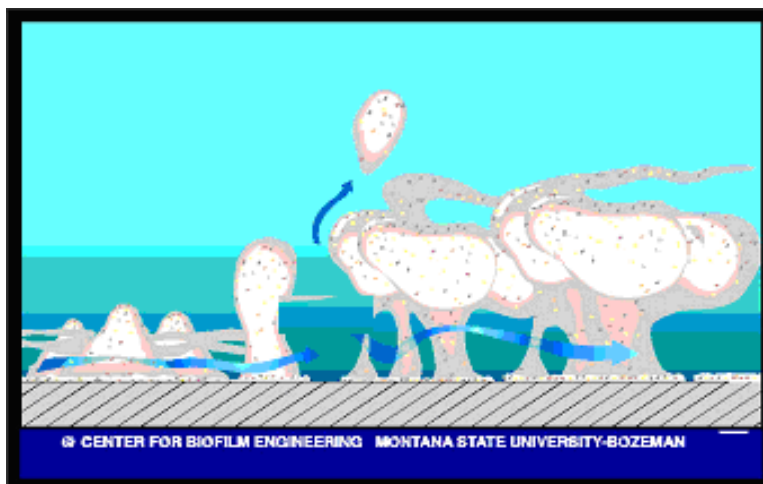


Figura 2: Estrutura do biofilme (fonte: Marques et al., 2004).

O biofilme é uma comunidade de variadas espécies que têm um comportamento totalmente diferenciado das células livres (planctônicas), nestas colônias há alguns fenômenos peculiares que vão desde a troca de material genético entre as células até a comunicação entre si através de moléculas sinalizadoras. Além da própria evolução das espécies (um exemplo clássico a ação da penicilina) estes fenômenos conferem às células desta colônia uma resistência muito maior a ação de antimicrobianos do que as células em suspensão.

Os principais problemas clássicos causados pela contaminação microbiana no segmento de domissanitários são:

- Proteção na embalagem (estado úmido): causado pelo crescimento desordenado de bactérias e/ou leveduras
 - Problemas
 - Perda de viscosidade.
 - Perda de estabilidade (separação de fases)
 - Alteração de pH.
 - Aparecimento de mau odor e formação de gases.
 - Descaracterização do produto.
 - Perda de desempenho

Alem da contaminação clássica acima descrita, em função dos biofilmes e da constante adaptação dos microrganismos, novos episódios de contaminação em tanques de estoque de matérias primas e produtos finais mesmo onde se utilizam um microbicida tem ocorrido. Outros casos incidem já no produto embalado prejudicando a qualidade e a imagem do fabricante

Baseando nesse novo conceito de contaminação e nos problemas causados por ela a **IPEL** vem desenvolvendo o “**Gerenciamento Microbiológico do Futuro IPEL (GMF-I)**” cujo objetivo é ser uma poderosa ferramenta para a o controle adequado das unidades produtivas de domissanitários

Trata-se de um novo conceito apoiado no conhecimento técnico e no trabalho de campo. Um dos componentes mais relevantes do **GMF-I** consiste no monitoramento microbiológico que pode ser implementado em diversos níveis: desde um simples acompanhamento pelo dispositivo **BIOLAMINOTESTE** até o acompanhamento total do sistema fabril.

A base do **GMF-I** apóia-se num tripé composto dos seguintes elementos:

1. Antimicrobianos (bactericidas e leveduricidas) de melhor performance, menor toxicidade, menor risco ao meio ambiente e aos manipuladores. Atenção as concentrações mínimas inibitórias para evitar a falsa sensação de segurança, que pode levar a surtos de contaminação, principalmente pela presença de biofilmes contaminantes e resistentes.

2. Boas Práticas de Fabricação e Controle (BPF e C): não somente nos procedimentos a serem seguidos, como também em análises profundas do processo fabril como um todo, detectando os pontos críticos e tentando eliminá-los da melhor maneira possível. Analise e controle de todas as etapas do processo de maneira consciente, desde a entrada das matérias primas até o final do prazo de validade dos rprodutos. Outros pontos das BFC e C incluem treinamento e conscientização do pessoal envolvido no processo, garantia de condições de armazenagem adequadas, adequação de equipamentos e procedimentos operacionais, etc. Dentro das BFC e C a IPEL desenvolveu inclusive sistemas automáticos que garantem maior controle de contaminação nos tanques. Esses sistemas estão disponíveis para clientes interessados, porem devido ao foco do trabalho aqui descrito não serão apresentados em detalhes.

3. Sanitização: este item faz parte da BPF e C porém a IPEL o considera de tamanha importância que decidimos deixá-lo em um item a parte. Hoje sabemos que mais de 90% da população microbiana contaminante esta na forma de biofilmes. Os microrganismos quantificados pela microbiologia tradicional (planctônico) representam menos de 10% do problema. O avanço dos estudos com biofilmes no segmento industrial mostra que uma lavagem comum remove cerca de 90% do biofilme e os 10% restantes tem a capacidade de reconstituir a flora inicial em menos de 5 horas. Por isso a importância da sanitização dos tanques, reatores, tubulações e todos os utensílios que entrem em contato com o produto. O programa/cronograma de sanitização não é somente enxaguar as superfícies com um sanitizante, é muito mais complexo que isto. A partir de uma amostra do biofilme aplica-se o procedimento de proliferação *in vitro* destes biofilmes com posteriores testes de efetividade para descobrir-se exatamente qual o melhor sanitizante, na concentração ideal e por fim porém não menos importante o tempo de contato entre sanitizante e biofilmes. Vale ressaltar dentro deste item algumas definições importantes que têm causado confusões entre os usuários, sendo:
 - a. **Sanitização** é o conjunto de procedimentos (pessoal, ambiental e de processo) para diminuir o teor de microrganismos indesejáveis ou nocivos, sem necessidade de esterilizá-los.
 - b. **Esterilização** é destruir todas as formas de vida através de processos químicos ou físicos.
 - c. **Desinfecção** é destruir focos de infecção potencial de um material, mas não todas as formas vivas presentes, através de agentes químicos microbicidas conhecidos como desinfetantes.
 - d. **Higienização** é o mesmo que sanitização, porém utilizado mais para pessoas e ambientes familiares.

A IPEL possui laboratórios totalmente equipados para efetuar tanto os testes microbiológicos tradicionais como os de eficácia de microbicidas contra biofilmes microbianos resistentes de modo a validar e monitorar o desempenho do sistema. Entre os testes disponíveis podemos citar:

- Detecção e quantificação de bactérias heterotróficas totais, bactérias esporuladas, coliformes fecais e totais, bactérias anaeróbias facultativas e estritas, bactérias redutoras de sulfato, fungos filamentosos, leveduras e algas
- Teste de desafio estado úmido (Challenge Test)
- Formação de biofilmes e sua susceptibilidade a agentes antimicrobianos, dentre outros.

A IPEL tem efetuado nos últimos 3 anos inúmeros testes com biofilmes industriais resistentes tanto em laboratório como *in loco*, com resultados excelentes. A metodologia deste ensaio bem como alguns estudos de caso serão demonstrados a seguir.

A implantação e manutenção de um sistema **GMF-I** geram trabalho e demandam envolvimento de diversos departamentos do fabricante, notadamente das áreas técnica, produção e manutenção bem como a conscientização de todos os envolvidos da importância do trabalho. Entretanto, as vantagens abaixo citadas evidenciam a viabilidade e importância desse sistema para se alcançar um novo estágio na produção de produtos domissanitários:

- Conhecimento do sistema – através do levantamento a ser efetuado pode-se identificar os pontos críticos, focando nesses para introdução de melhorias nos processos de armazenagem de matérias primas, fabricação, armazenagem de produto acabado entre outros,
- Histórico de contaminação – através do monitoramento microbiológico constante pode-se identificar tendências de contaminação permitindo atuação pro-ativa evitando-se problemas posteriores
- Redução de paradas não planejadas – Conforme o GMF-I é implementado, os procedimentos de BPF e C permitem planejar e executar o Cronograma de Sanitização evitando paradas não planejadas contribuindo para bons níveis de produtividade.
- Redução de desperdícios e ocorrências de problemas – em um sistema controlado a incidência de contaminação de Matérias primas e produto acabado diminuem sensivelmente evitando retrabalhos, devoluções e prejuízos.
- Melhoria da qualidade e da imagem no mercado – Um dos piores problemas que podem ocorrer é a perda da confiança dos clientes causada por problemas de qualidade. Um produto fabricado em uma fábrica com **GMF-I** terá sua qualidade microbiológica assegurada não só pelo microbicida utilizado, mas por todas as ações de BPF e C implementadas, melhorando ainda mais a qualidade do produto e consolidando a confiança do cliente na marca.

MATERIAL E MÉTODO

1 - Desenvolvimento de Biofilmes a partir de contaminantes industriais e análise de sua susceptibilidade aos microbicidas

Os ensaios foram efetuados em triplicata para cada biocida e suas respectivas concentrações, metodologia utilizada baseada na tese de mestrado de Lucchesi (2006).

Em tubos de ensaio com tampa de rosca (16x100 mm) foram pesadas alíquotas de 0,3 g de esferas (por tubo) apresentando diâmetros médios de 0,85 mm. A cada tubo foi adicionado 4,5 mL inóculo do contaminante com população estimada em $1,0 \times 10^9$ UFC/mL e 0,5 mL de meio de cultura TSB. Esses tubos foram colocados no sistema projetado para homogeneização de sangue (Figura 3) na velocidade de agitação de 4 a 5 rotações por minuto, por 48 horas à temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$.

Após o crescimento dos biofilmes, obtidos a partir de amostras de contaminantes industriais as esferas foram retiradas com auxílio de uma cureta e foram lavadas por duas vezes com solução salina estéril, em tubos de ensaio com tampa de rosca. Após a lavagem, a cada tubo, adicionou-se 2,5 mL de biocida a várias concentrações e 2,5 mL do meio de cultura TSB. Os tubos foram incubados por 24 horas. Após a incubação, as pérolas foram lavadas com solução salina estéril e transferidas para tubos contendo 5mL de meio de cultura TSB fresco. Os tubos foram sonicados por 30 minutos e incubados por 24 horas à temperatura de $35 \pm 2^\circ\text{C}$, quando foi avaliado o crescimento celular, por turbidez ou estrias em meio de cultura TSA. A menor concentração na qual não se verificou crescimento de células foi denominada como concentração mínima de erradicação do biofilme (CMEB).



Figura 3: Homogeneizador de sangue.

2 – Estudos de Caso

2.1 Formação de biofilmes em esferas de Vidro e análise de sua susceptibilidade a biocidas – A partir de água Ultra Pura

Histórico

A água ultra pura de uma Indústria Farmacêutica – Divisão de fabricação de colírios – apresentava contaminação recorrente e resistente aos processos de sanitização tradicionais, como ácido peracético e hipoclorito. O procedimento de sanitização, na tentativa de eliminar o problema, era efetuado diariamente, o que estava ocasionando aumento de custo, não somente com a parada na produção, mas também com o processo de regeneração das resinas catiônicas/aniônicas do sistema de água.

Havia a suspeita de que a concentração dos sanitizantes utilizados não estavam adequadas para total erradicação do biofilme contaminante, além da suspeita de haver uma “bolha” no “loop” do sistema de água ultra pura.

O microrganismo contaminante foi isolado por filtração de membrana e encaminhado aos laboratórios da IPEL-Biocidas para teste de formação de biofilmes e sua susceptibilidade a agentes antimicrobianos.

Para agilizar os resultados definiu-se as esferas de vidro como a superfície utilizada nos ensaios.

Método

A partir do microrganismo isolado do sistema de água ultra pura, foi utilizado para formação do biofilme e a metodologia de análise da susceptibilidade foi efetuado conforme o item 1, porém com modificação no tempo de contato entre biofilme e saneante, o tempo de utilizado neste experimento foi de 3 horas e não de 24 horas como citado no item. A aplicação da solução sanitizante foi efetuada por aspersão.

Resumo da Metodologia

- Contaminante isolado cultivado em meio de cultura Tryptic Soy Broth (TSB)
- Esferas de Vidro: suporte para formação do biofilme: 0,3g de esferas de aproximadamente 0,85 mm de diâmetro
- Meio para formação do biofilme: TSB
- Incubação em Homogeneizador de sangue por 48 horas

- Tríplice lavagem e adição de meio de cultura (TSB) e biocida (diversas concentrações)
- Incubação em homogeneizador de sangue por 24 horas
- Lavagem e adição de meio de cultura (TSB) com sonicação por 30 minutos
- Incubação por 24 horas e verificação de crescimento (presença ou ausência)

Microbicidas Testados

- Derivado de aldeído
- Composição de derivados de guanidina, sais de quaternário e derivados de aldeído
- Composto nitrogenado halogenado

Resultados:

O microrganismo isolado do sistema de água ultra pura é uma bactéria bastonete Gram negativo. Os resultados da resistência aos microbicidas estão na tabela 1. Os resultados do CIM e CMM das células em suspensão (planctônicas) a partir do microrganismo isolado apresentaram comportamento esperado, com concentrações de erradicação já citadas em literatura.

Quando o microrganismo foi testado na forma de biofilme observou-se um aumento significativo na concentração de erradicação dos microbicidas utilizados.

Estes resultados indicam que no sistema de loop de água purificada de onde o microrganismo foi isolado, propiciou a seleção de microrganismos adaptados ao ambiente e altamente resistentes às moléculas de ativo.

Tabela 1: Resistência do Biofilme formado a partir do microrganismo isolado do sistema de água ultra pura aos antimicrobianos testados.

Antimicrobiano avaliado	Células Livres (Planctônicas)		Biofilmes (TSB)		Aumento na resistência
	MIC (PPM)	MMC (PPM)	MBIC (ppm)	MBEC (ppm)	MBEC/MMC
Derivado de aldeído	18,75	37,5	10.000	10.000	267x
Composição de derivados de guanidina, sais de quaternário e derivados de aldeído	12,5	12,5	10.000	10.000	800x
Composto nitrogenado halogenado	18,75	37,5	9.000	9.000	240x

MIC: Concentração inibitória Mínima; **MMC:** Concentração Microbicida Mínima; **MBIC:** Concentração Mínima de Inibição do Biofilme; **MBEC:** Concentração Mínima de erradicação do Biofilme.

Com os resultados do teste de susceptibilidade do biofilme formado no sistema de esferas de vidro pode-se escolher o melhor microbicida para tratamento do sistema, devido a sensibilidade das resinas do sistema de troca iônica o glutaraldeído foi escolhido como sanitizante deste sistema, já que o enxágüe necessário após a regeneração da resina foi suficiente para eliminar qualquer residual deste microbicida. Além da sanitização foi necessário efetuar junto com este procedimento a eliminação total das bolhas e bolsões de ar que se formavam dentro da tubulação, aumentando a turbulência dos saneantes por toda a extensão da tubulação.

2.2 Formação de biofilmes em esferas de Vidro e análise de sua susceptibilidade a biocidas – A partir de microrganismos resistentes recuperados da superfície de um tanque de armazenamento

Histórico

Foi solicitado o teste de formação de biofilmes e sua susceptibilidade a agentes antimicrobianos, para solucionar problema de contaminação de um tanque de armazenamento de Lauril Eter Sulfato de Sódio. O tanque a que se refere este estudo foi confeccionado de aço inox, o tanque estava em uso há 4 anos e nunca havia sido efetuado um procedimento de sanitização, uma vez por mês ele era lavado com água em alta pressão. Os microrganismos contaminantes foram coletados da superfície interna do tanque pela técnica de Swab e cultivados em meio de cultura Tryptic Soy Broth (TSB) como cultura mista. Devido aos sucessivos ciclos de carga e descarga a superfície interna apresentava formação de incrustações. A contaminação da superfície era tão alta que o LESS apresentava contaminação superior a 10^5 UFC/mL após alguns dias de armazenagem.

Método

Utilizando os microrganismos contaminantes recuperados da superfície do tanque, foi efetuado o teste de formação de biofilmes em esferas de PVC bem como sua susceptibilidade aos agentes antimicrobianos. As metodologias para o ensaio foram descritas no item 1 (formação de biofilmes na superfície das esferas de PVC e susceptibilidade dos biofilmes aos microbicidas). Neste estudo os microrganismos não foram isolados e o tempo de contato entre o sanitizante e a superfície do tanque foi de 3 horas. A aplicação da solução sanitizante foi efetuada por aspersão.

Resumo da Metodologia

- Microrganismos coletados da superfície interna de um tanque utilizado para armazenamento LESS..
- Microrganismos cultivados em meio de cultura Tryptic Soy Broth (TSB)
- Esferas de PVC: suporte para formação do biofilme: 0,3g de esferas de aproximadamente 0,85 mm de diâmetro
- Meio para formação do biofilme: TSB
- Incubação em Homogeneizador de sangue por 48 horas
- Tríplice lavagem e adição de meio de cultura (TSB) e biocida (diversas concentrações)
- Incubação em homogeneizador de sangue por 24 horas
- Lavagem e adição de meio de cultura (TSB) com sonicação por 30 minutos
- Incubação por 24 horas e verificação de crescimento (presença ou ausência)

Microbicidas Testados

- Derivado de aldeído
- Composição de derivados de guanidina, sais de quaternário e derivados de aldeído
- Composto nitrogenado halogenado

Resultados:

Os microrganismos presentes na amostra da superfície eram na sua maioria bactérias, que não foram isoladas, a intenção era determinar o MBEC necessário pra erradicar a população existente na superfície do tanque.

Os resultados dos ensaios de Concentração Inibitória Mínima (MIC), Concentração Microbicida Mínima (CMM), Concentração Mínima de Inibição do Biofilme (MBIC) e Concentração Mínima de Erradicação do Biofilme (MBEC) estão demonstrados na Tabela 2.

O microbicida utilizado para a sanitização deste tanque foi o numero 2 (Glutaral+ Cloreto de Benzalconio + Guanidina), por apresentar à menor MBEC (985 vezes maior que a MIC).

Antes da aplicação da solução do microbicida 2 na concentração de 54.800 ppm, foi necessário efetuar uma raspagem, com auxílio de espátulas, por toda a superfície interna para retirar as incrustações, após enxágüe com água, a solução sanitizante foi aspergida por toda extensão interna do tanque. A solução ficou em contato com a superfície por 3 horas.

Tabela 2: Resistência do Biofilme formado a partir dos microrganismos recuperados da superfície do tanque de armazenagem aos antimicrobianos testados.

Antiimicrobiano avaliado	Células Livres (Planctônicas)		Biofilmes (TSB)		Aumento na resistência
	MIC (PPM)	MMC (PPM)	MBIC (ppm)	MBEC (ppm)	MBEC/MMC
Derivado de aldeído	62,50	62,50	76.150	76.150	1218 X
Composição de derivados de guanidina, sais de quaternário e derivados de aldeído	55,60	55,60	54.800	54.800	985 X
Composto nitrogenado halogenado	73,20	73,20	85.500	85.500	1168 X

MIC: Concentração inibitória Mínima; **MMC:** Concentração Microbicida Mínima; **MBIC:** Concentração Mínima de Inibição do Biofilme; **MBEC:** Concentração Mínima de erradicação do Biofilme.

A eficácia do procedimento foi validada por esfregação com Swab, antes e após, a limpeza e sanitização do tanque.

2.3 Erradicação de biofilme instalado responsável pela contaminação de produtos acabados

Com base no histórico dos estudos efetuados em laboratório com contaminantes oriundos de tanques/reactores/equipamentos no dispositivo de formação e erradicação de biofilmes pode-se eliminar uma contaminação industrial em pouco tempo, com segurança e economia.

Pelo GMF-I foi efetuado diagnóstico do sistema e identificada a contaminação em tanques de matérias primas. Os microrganismos foram coletados e foi aplicada a metodologia descrita nos itens 2.1 e 2.2, determinando assim o produto (sanitizante) e dosagem ideal para a sanitização dos tanques em questão.

No decorrer do trabalho algumas práticas foram modificadas de modo a respeitar as BPF e C por exemplo:

- tubulações vazias passaram a ser limpas e deixadas com solução sanitizante,
- conexões e bocais são mantidos fechados,

- os colaboradores foram treinados e conscientizados da importância de seguir procedimentos e utilizar EPI's para sua segurança e qualidade dos produtos,
- a água de processo passou a ser tratada e o reservatório limpo e sanitizado com periodicidade definida,
- foi definido um sistema de monitoramento e uma periodicidade para a sanitização dos tanques de armazenagem e de processo.

Desta forma, baseado no tripé descrito anteriormente, foi possível além de controlar o problema sem aumentar o uso de microbicida, aumentar a confiabilidade e a qualidade dos produtos e ampliar o conhecimento da dinâmica de contaminação do sistema produtivo.

Adicionalmente, devido ao maior controle microbiológico do processo foi possível efetuar um estudo para incorporar água de reuso no processo de produção garantindo a sustentabilidade do processo e atuação responsável da empresa frente a utilização de recursos naturais.

Resultados:

Os resultados da recuperação microbiana da superfície dos tanques pela técnica de “swab” antes e após a sanitização estão demonstrados nas tabelas 3 e 4.

Tabela 3: Resultados dos “Swabs” de superfície dos Tanques de Matérias Primas **Antes** da Sanitização

Amostras	Bactérias	Leveduras	Fungos Filamentosos
Tanque 1 Antes Sanitização	Crescimento Intenso	Ausência Crescimento	Crescimento Intenso
Tanque 2 Antes Sanitização	Crescimento Intenso	Ausência Crescimento	Crescimento Intenso

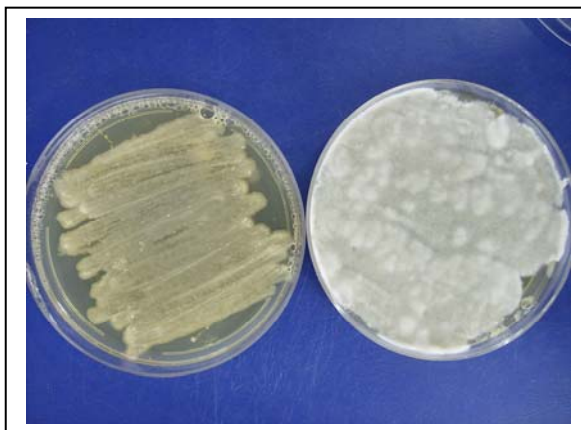


Foto 4: TQ Bactérias e Fungos filamentosos ANTES Sanitização

Tabela 4: Resultados dos “Swabs” de superfície dos Tanques de Matérias Primas **Após** da Sanitização

Amostras	Bactérias	Leveduras	Fungos Filamentosos
Tanque 1 Antes Sanitização	Ausência Crescimento	Ausência Crescimento	Ausência Crescimento
Tanque 2 Antes Sanitização	Ausência Crescimento	Ausência Crescimento	Ausência Crescimento

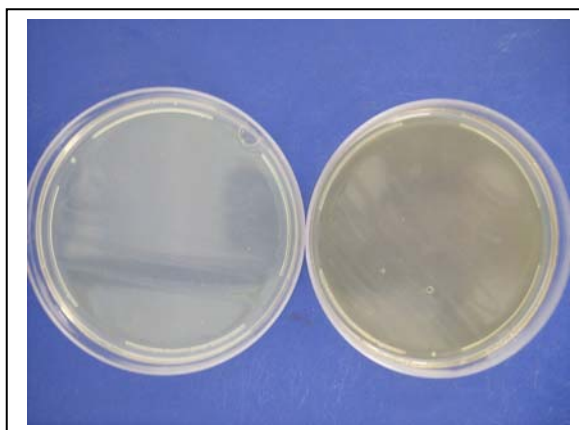


Foto 5: TQ Bactérias e Fungos filamentosos APÓS Sanitização

Os resultados dos swabs de superfície (tabelas 3 e 4, fotos 4 e 5) mostram a eficiência do procedimento de limpeza e sanitização, e a importância da aplicação do GMF-I para a correta seleção do sanitizante bem, como a concentração mais eficaz.

CONCLUSÃO

O novo conceito em relação a contaminação industrial nos leva ao encontro de um acompanhamento mais rigoroso por todo processo. A Ipel com base nessa evolução vem desenvolvendo e aplicando o **Gerenciamento Microbiológico do Futuro Ipel (GMF-I)** enfocando a importância do Tripé: Microbicida, Boas Práticas de Fabricação e Controle e Sanitização Industrial.

Nas empresas que possuem um Cronograma de Sanitização implementado e validado não há presença de biofilmes resistentes que acabam por afetar a preservação dos produtos finais.

Um cronograma de Sanitização deve ser elaborado com critério, mediante as necessidades de cada cliente/produto, mas basicamente um Cronograma de Sanitização eficaz deve responder a algumas perguntas tais como:

- O que será limpo e sanitizado?
- Com qual sanitizante? (neste momento o teste de formação de biofilme, e sua susceptibilidade a microbicidas é imprescindível)
- Como será feita a limpeza e sanitização?
- Quem fará a limpeza e sanitização?
- Qual será a frequência deste procedimento?
- Quando será efetuado?
- Como controlar a eficiência da limpeza e sanitização?

As empresas que não possuem ou não aplicam corretamente o Cronograma de Sanitização terão problemas de contaminação por biofilmes resistentes com o passar do tempo, pois todos os microrganismos tendem a fixar em uma superfície e iniciar a formação da colônia. Este fato pode ser comprovado mediante a tantos surtos de contaminação aparentemente sem explicação de um ou outro lote de produto acabado. Estes surtos, quando esporádicos, acabam sendo atribuídos a outros fatores que não a instalação de biofilmes contaminantes, porém na prática estes são os primeiros avisos.

Os ensaios efetuados ao longo destes 3 anos mostram a importância do “Tripé”, não basta adicionar o biocida correto na concentração indicada, se não houver procedimentos de Boas Práticas de Fabricação e Controle implantados além do cronograma de limpeza e sanitização eficaz.

Sem dúvida nenhuma além de matérias-primas de boa qualidade, novas tecnologias e equipamentos adequados a unidade de fabricação também precisa evoluir e o GMF-I vem dar suporte para que essa evolução no âmbito do controle microbiológico possa ocorrer, disponibilizando informação, avaliações laboratoriais, produtos, treinamentos e assistência técnica para atender as exigências cada vez mais rigorosas do mercado e os novos desafios que se apresentam para a indústria de domissanitários. .

A preservação microbiológica do futuro não é apenas um microbicida, mas um Sistema de Controle Microbiológico amplo que a IPEL, dentro de sua tradição de inovação com tecnologia, vem desenvolvendo e aplicando com sucesso, proporcionando aos clientes garantia e segurança.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- American Society for microbiology. Disponível em <<http://www.asm.org.html>> acesso em 25 de fevereiro de 2006.
- Ceri, H.; Morck, D.W. e Olson, M.E. **Biocide susceptibility testing of biofilms In Disinfection, Sterilization and Preservation Block**, Seymour S. Editora Lippincott Williams & Wilkins 5º ed., capítulo 75; 1429 a 1437, 2001.
- Ceri, H.; Olson, M.E.; Stremick, C.; Read, R.R.; Morck, D.; Buret, A. **The Calgary Biofilm Device: A new technology for the rapid determination of antibiotic susceptibility of bacterial biofilms**. Journal Clinical Microbiology 37 (6), 1771-1776, 1999.
- Christensen, B.E.; Characklis, W.G. **Physical and chemical properties of biofilms. In: Biofilms**. Characklis, W.G., Marshall, K.C. Editora John Wiley and sons, Inc, 93-130, 1990.
- Costerton, J.W.; Geesey, G.G. e Cheng, K.J. - **How bacteria sick**. Scientific American, 238, 86-95, 1978.
- Costerton, J.W.; Lewandowski, Z.; Caldwell, D.E.; Korber, D.R. e Lappin-Scott H.M. - **Microbial biofilms** In Oenston L. N., Balows A. and Greenberg E. P. Annual review of microbiology.. Editora Annual Reviews Inc. 49 pp711-745, California, 1995.
- Costerton, J.W.; Cheng, K.J.; Geesey, G.G.; Ladd, T.I.; Nickel, J.C.; Dasgupta M. e Marrie, T.J. - **Bacterial biofilms in nature and disease**. Annual review of microbiology. 41 pp 435-464, California, 1987.
- Lennox, J.E.; Douthwright, J.; Delisle, G. e Eidemiller, B. – **Biofilms : Online Manual**. Disponível em <http://www.personal.psu.edu/faculty/j/e/jel5/biofilms>. Ultimo acesso dezembro de 2007.
- Luchesi, E.G. – **Desenvolvimento de sistema de obtenção de biofilmes *in vitro* e a avaliação de sua susceptibilidade a biocidas**. - Dissertação de Mestrado – Faculdade de Engenharia Química – Unicamp, 2006.
- Marques, L.L.R. e Manfio, G.P. - **Procedimento padrão para determinação de MIC, MBC e MBEC. Workshop em biofilmes microbianos**. CPQBA, Unicamp, 2004.