



ISEL

**INSTITUTO SUPERIOR DE ENGENHARIA DE LISBOA
ÁREA DEPARTAMENTAL DE ENGENHARIA QUÍMICA**



Validação da Eficácia dos Procedimentos de Limpeza, no Equipamento de Fabrico e Embalagem, na Indústria Farmacêutica

MAGDA CRISTINA DOS SANTOS GOMES
(Licenciada)

Trabalho Final de Mestrado para obtenção do Grau de Mestre
em Engenharia Química e Biológica

Orientadores:

Doutor Manuel José de Matos
Mestre Amélia Maria Oliveira Salvador

Júri:

Presidente: Doutor José Augusto Paixão Coelho

Vogais:

Doutor Manuel José de Matos
Doutora Maria Celeste Serra
Doutora Sónia Alexandra de Almeida Martins
Mestre Amélia Maria Oliveira Salvador

Dezembro de 2012

Agradecimentos

Este espaço é dedicado não só àqueles que de alguma forma deram a sua contribuição para que este trabalho final de mestrado fosse realizado, como também a todos aqueles que durante toda a minha vida me apoiaram e permitiram que chegasse até este nível académico. A todos eles deixo aqui o meu agradecimento sincero.

Estou especialmente agradecida ao Doutor Manuel José de Matos por ter aceitado coordenar esta tese de mestrado, por todo o apoio, conhecimento e sugestões transmitidas durante a elaboração do trabalho final de mestrado.

Agradeço de igual modo à Amélia Salvador por se ter disponibilizado a ser a orientadora desta tese, por toda a amizade, apoio, conhecimento transmitido, conselhos e recomendações.

À Schering-Plough Farma/MSD um agradecimento especial, na pessoa da Dr^a Paula Fonseca por ter aceite a realização deste trabalho no laboratório do Controlo de Qualidade, por toda a amizade, apoio, conhecimento transmitido e conselhos.

Agradeço também o apoio incondicional e a amizade de todos os membros do laboratório do Controlo de Qualidade na realização deste trabalho.

Em especial, à Hermínia Simões pela amizade, carinho, apoio, orientação e transmissão de conhecimentos, à Paula Santos pelo apoio, enorme amizade e carinho, à Paula Gomes e ao Sr. Armando pela grande amizade, força transmitida e companhia que me fizeram no decorrer do trabalho prático no laboratório e, finalmente, à amizade por parte das colegas Lúcia Sousa, Patrícia David, Teresa Peres, Natércia Pires, Fátima Oliveira, Carla Cravo, Carla Duarte, Sandra Carmona, Helena Rodrigues e Marina Marques.

Também gostaria de agradecer todo o apoio e amizade da Margarida Guerreiro do departamento da Garantia da Qualidade.

Gostaria ainda de agradecer à Filipa Álvares e ao Raúl Cardoso do departamento de Produção o seu apoio e amizade.

Agradeço à Sara Dias, Eng^o Manuel Nunes, Dr^a Teresa Machado e Luís Mota a amizade e o multiapoio dado à realização deste mestrado.

Agradeço aos meus Pais, por me terem incentivado e inculcido o gosto pelo estudo, pelo apoio e coragem que sempre me transmitiram.

Obrigada aos meus incansáveis tios, Belinha e Luís, pelo seu apoio e amizade manifestados, não só aquando a realização da tese mas também durante todos estes anos na SP/ MSD.

Agradeço também à minha madrinha Teresa e aos meus tios Manuel e Rosário o seu apoio e amizade.

Um Obrigada muito grande a todos os meus queridos sobrinhos, Diogo, Eliana, Rodrigo, Daniela e Carlota, às minhas irmãs Paula e Goretti e ao meu irmão Nelson, pelo apoio, pela força e amor que sempre me transmitiram.

Obrigada a todos os meus amigos que estão sempre no meu coração, apesar de eu andar um pouco ausente, entre eles: Susana Marta, Ana Brás, Raquel Antunes, Ana Clara, Ana Goulão e Paula Miguéis.

Por fim, um obrigada ao meu amigo Pedro pelo apoio, amizade e pela companhia que muitas vezes me fez através do “msn”, quando eu estava no computador a trabalhar no trabalho final de mestrado.

Resumo

Na indústria farmacêutica, a limpeza dos equipamentos e superfícies é muito importante no processo de fabrico/embalagem dos produtos farmacêuticos. Possíveis resíduos contaminantes devem ser removidos dos equipamentos e das superfícies envolvidas no processo. De acordo com as Boas Práticas de Fabrico (GMP), os procedimentos de limpeza e os métodos analíticos usados para determinar as quantidades de resíduos devem ser validados. O método analítico combinado com o método de amostragem utilizado na colheita de amostras deve ser sujeito a um ensaio de “*recovery*”.

Neste trabalho apresenta-se uma estratégia inovadora para a validação de limpeza de formas farmacêuticas semi-sólidas. Propõe-se o uso de um método de amostragem que consiste na colheita direta de amostra após o seu fabrico, sendo a análise de resíduos feita directamente nesta amostra.

Os produtos escolhidos para a avaliação da estratégia foram dois medicamentos dermatológicos, apresentados na forma de pomada e produzidos numa unidade de fabrico de vários produtos, pela Schering Plough Farma/ Merck Sharp & Dohme (Cacém, Portugal).

Como métodos analíticos para a quantificação dos resíduos, utilizaram-se métodos validados por via espectrofotométrica (HPLC), usados na análise do produto acabado. A validação de limpeza foi avaliada através da análise de uma quantidade conhecida de pomada (produto B (*)), usando o método de análise da pomada fabricada anteriormente (produto A (*)), de modo a verificar-se a existência ou não de agente de limpeza e substâncias ativas deixadas após a limpeza do produto A, e vice-versa. As concentrações residuais das substâncias ativas e do agente de limpeza encontradas após a limpeza foram nulas, ou seja, inferiores ao limite de deteção (LOD), sendo que o critério de aceitação da limpeza utilizado foi de $6,4 \times 10^{-4}$ mg/g para a substância ativa 1 (*); $1,0 \times 10^{-2}$ mg/g para a substância ativa 2 (*); $1,0 \times 10^{-3}$ mg/g para a substância ativa 3 (*) e de 10 ppm para o agente de limpeza.

(*) Nota: De modo a garantir a confidencialidade, a designação dos produtos, assim como das respetivas substâncias ativas, encontra-se codificada.

No ensaio de “*recovery*”, obtiveram-se resultados acima de 70% para todas as substâncias ativas e para o agente de limpeza nas duas pomadas.

Antes de se proceder a este ensaio de “*recovery*”, houve a necessidade de ajustar as condições cromatográficas dos métodos analíticos de ambos os produtos e do agente de limpeza, por forma a obter-se valores da conformidade do sistema (fator de tailing e de resolução) de acordo com as especificações.

A precisão dos resultados, reportada como desvio padrão relativo (RSD), deu abaixo de 2,0%, excepto nos ensaios que envolvem a substância ativa 3, cuja especificação é inferior a 10,0%.

Os resultados obtidos demonstraram que os procedimentos de limpeza usados na unidade de fabrico em causa são eficazes, eliminando assim a existência de contaminação cruzada.

Palavras-chave – Validação de limpeza; “*recovery*”; procedimentos de limpeza; amostragem

Abstract

In the pharmaceutical industry, the cleaning of equipments and surfaces is very important in the manufacturing/packaging process of pharmaceuticals products. Possible contaminant residues must be removed from the equipments and surfaces involved in the process. In accordance with Good Manufacturing Practices (GMP), the cleaning procedures and analytical methods used to determine the quantities of residues should be validated. The analytical method combined with the sampling used for sampling must be submitted to a test of "recovery".

This work presents a innovative strategy for cleaning validation of semi-solid dosage forms. It is proposed the use of a sampling method that consists of sample collection directly after its manufacture, and the residues analysis is performed directly in this sample.

The products chosen for the evaluation of the strategy were two dermatological drugs, presented in the form of ointment and produced in a unit manufacturing of various products by Schering Plough Farma / Merck Sharp & Dohme (Cacém, Portugal).

As analytical methods for the quantification of the residues, were used spectrophotometrically validated methods (HPLC), used in the analysis of the finished product. The cleaning validation was assessed by analysis of a known amount of ointment (product B (*)) using the method of analysis of the ointment made previously (product A (*)) in order to verify the presence or absence of the cleaning agent and active substances left after cleaning of the product A, and vice versa. The residual concentrations of the active substances and of the cleaning agent found after cleaning was zero, thereby, below the detection limit (LOD), and the criterion for acceptance of cleaning used was $6,4 \times 10^{-4}$ mg / g for the active ingredient 1 (*); $1,0 \times 10^{-2}$ mg / g for the active substance 2 (*); $1,0 \times 10^{-3}$ mg / g for the active ingredient 3 (*) and 10 ppm for the cleaning agent.

In the test of "recovery" were obtained results over 70% for all the active substances and for the cleaning agent in the two ointments.

(*) Note: In order to ensure the confidentiality, the designation of the products, as well as the respective active ingredients is encoded.

Prior to do this test of "*recovery*", it was necessary to adjust the chromatographic conditions of the methods of analysis of both products and cleaning agent, so as to obtain values of the system suitability (tailing factor and resolution) in accordance with specifications.

The accuracy of the results, reported as relative standard deviation (RSD) is below 2,0%, except in assays that involve the active ingredient 3, whose specification is less than 10,0%.

The results obtained showed that the cleaning procedures used in the manufacturing unit in question are effective, thereby eliminating the presence of cross-contamination.

Keywords - Cleaning Validation; "*recovery*"; cleaning procedures; sampling

Índice

Agradecimentos.....	III
Resumo.....	V
Abstract.....	VII
Índice.....	IX
Índice de tabelas.....	XI
Índice de figuras.....	XIII
Abreviaturas.....	XVII
1. Introdução.....	2
2. Desenvolvimento do tema.....	6
2.1. Procedimentos de Limpeza dos Equipamentos.....	6
2.2. Escolha do produto considerado o “Pior Caso” de limpeza.....	10
2.3. Documentação.....	14
2.4. Métodos de Amostragem e Inspeção.....	15
2.5. Detergente.....	18
2.6. Métodos Analíticos.....	19
2.7. Critérios de Aceitação.....	21
3. Método Experimental.....	24
3.1. Objetivo.....	24
3.2. Introdução.....	24
3.3. Procedimentos de Limpeza dos Equipamentos.....	25
3.4. Métodos Analíticos.....	26
3.4.1. Ensaio de “recovery”.....	26
3.4.1.1. “Recovery” de EDTA nos produtos A e B.....	27
3.4.1.2. “Recovery” da substância ativa 1 e 2 no produto B.....	28
3.4.1.3. “Recovery” da substância ativa 3 no produto A.....	30
3.4.2. Optimização das condições cromatográficas dos métodos analíticos.....	32
3.4.2.1. “Recovery” de EDTA nos produtos A e B.....	32
3.4.2.2. “Recovery” das substâncias ativas 1 e 2 no produto B.....	37
3.4.2.3. “Recovery” da substância ativa 3 no produto A.....	45
3.4.3. Ensaio de determinação da quantidade de resíduos contaminantes.....	54
3.4.3.1. Determinação da quantidade de EDTA nos produtos A e B.....	54
3.4.3.2. Determinação da quantidade de substância ativa 1 e 2 no produto B.....	55
3.4.3.3. Determinação da quantidade de substância ativa 3 no produto A.....	57
3.5. Critérios de Aceitação.....	58

3.5.1.	Agente de limpeza – EDTA	58
3.5.2.	Substâncias ativas 1 e 2 do produto A	58
3.5.3.	Substância ativa 3 do produto B.....	59
4.	Apresentação e Tratamento de Resultados	62
4.1.	Ensaio de “recovery”	62
4.1.1.	“Recovery” de EDTA no produto A	62
4.1.2.	“Recovery” de EDTA no produto B	65
4.1.3.	“Recovery” da substância ativa 1 no produto B	68
4.1.4.	“Recovery” da substância ativa 2 no produto B	71
4.1.5.	“Recovery” da substância ativa 3 no produto A	75
4.2.	Ensaio de determinação da quantidade de resíduos contaminantes	78
4.2.1.	Determinação da quantidade de EDTA no produto A	78
4.2.2.	Determinação da quantidade de EDTA no produto B	81
4.2.3.	Determinação da quantidade de substância ativa 1 e 2 no produto B	84
4.2.4.	Determinação da quantidade de substância ativa 3 no produto A	88
5.	Conclusão	92
6.	Bibliografia	96

Índice de tabelas

Tabela 1: Produto “ <i>pior caso</i> ” de limpeza na unidade de trabalho 1 de embalagem de vários produtos	11
Tabela 2: Produtos “ <i>pior caso</i> ” de limpeza na unidade de trabalho 1 de fabrico de vários produtos	12
Tabela 3: Amostras colhidas e respetivos lotes usados para a análise de determinação de resíduos contaminantes nos produtos A e B.....	25
Tabela 4: Condições cromatográficas usadas na otimização do método analítico do ensaio de “recovery” de EDTA nos produtos A e B.....	32
Tabela 5: Tempos de retenção das substâncias ativas 1, 2 e 3	40
Tabela 6: Condições cromatográficas usadas na otimização do método analítico do ensaio de “recovery” das substâncias ativas 1 e 2 no produto B.....	41
Tabela 7: Condições cromatográficas usadas na otimização do método analítico do ensaio de “recovery” da substância ativa 3 no produto A.....	46
Tabela 8: Critérios de aceitação dos resíduos contaminantes.....	60
Tabela 9: Resultados obtidos do fator de tailing e do RSD no ensaio de “recovery” de EDTA no produto A.....	62
Tabela 10: Resultado obtido de EDTA recuperado, em percentagem, no ensaio de “recovery” de EDTA no produto A.....	65
Tabela 11: Resultados obtidos do fator de tailing e do RSD no ensaio de “recovery” de EDTA no produto B.....	65
Tabela 12: Resultado obtido de EDTA recuperado, em percentagem, no ensaio de “recovery” de EDTA no produto B.....	68
Tabela 13: Resultados obtidos do fator de tailing e do RSD no ensaio de “recovery” da substância ativa 1 no produto B.....	68
Tabela 14: Resultado obtido de substância ativa 1 recuperada, em percentagem, no ensaio de “recovery” da substância ativa 1 no produto B.....	71
Tabela 15: Resultados obtidos do fator de tailing e do RSD no ensaio de “recovery” da substância ativa 2 no produto B.....	72
Tabela 16: Resultado obtido de substância ativa 2 recuperada, em percentagem, no ensaio de “recovery” da substância ativa 2 no produto B.....	74
Tabela 17: Resultados obtidos do fator de tailing e do RSD no ensaio de “recovery” da substância ativa 3 no produto A.....	75
Tabela 18: Resultado obtido de substância ativa 3 recuperada, em percentagem, no ensaio de “recovery” da substância ativa 3 no produto A.....	78

Tabela 19: Resultados obtidos do fator de tailling, de resolução e do RSD no ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto A.....	79
Tabela 20: Resultados obtidos do fator de tailling, de resolução e do RSD no ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto B.....	82
Tabela 21: Resultados obtidos do fator de tailling, de resolução e do RSD no ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 1 e 2 no produto B.....	85
Tabela 22: Resultados obtidos do fator de tailling e do RSD no ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 3 no produto A.....	89
Tabela 23: Resultados obtidos na determinação de resíduos contaminantes nos produtos A e B e respectivos critérios de aceitação.....	92
Tabela 24: Resultados obtidos nos ensaios de “recovery” dos resíduos contaminantes nos produtos A e B, através da estratégia apresentada neste trabalho e do método de amostragem do “swab”.....	93

Índice de figuras

Figura 1: Procedimento a ter na realização de uma validação de limpeza	4
Figura 2: Modo de proceder aquando a validação de limpeza do equipamento	9
Figura 3: Procedimento a ter com o “swab” aquando a colheita, no método do “swab”	17
Figura 4: Modo de proceder aquando a preparação das soluções do ensaio de “recovery”	21
Figura 5: Cromatogramas obtidos de padrão e amostra na optimização do método analítico do ensaio de “recovery” de EDTA nos produtos A e B (Ínicio)	33
Figura 6: Cromatogramas obtidos de padrão e amostra na optimização do método analítico do ensaio de “recovery” de EDTA nos produtos A e B (Teste 1).....	34
Figura 7: Cromatograma obtido do padrão na optimização do método analítico do ensaio de “recovery” de EDTA nos produtos A e B (Teste 2).....	35
Figura 8: Cromatogramas obtidos de padrão e amostra na optimização do método analítico do ensaio de “recovery” de EDTA nos produtos A e B (Teste 3).....	36
Figura 9: Cromatograma obtido de amostra na optimização do método analítico do ensaio de “recovery” de EDTA nos produtos A e B (Teste 4).....	37
Figura 10: Cromatogramas obtidos dos padrões das substâncias ativas 1, 2, e 3, do padrão final e do branco, no ensaio de identificação das mesmas substâncias ativas (cont.)	38
Figura 10.a): Cromatogramas obtidos dos padrões das substâncias ativas 1, 2, e 3, do padrão final e do branco, no ensaio de identificação das mesmas substâncias ativas (cont.)	39
Figura 10.b): Cromatogramas obtidos dos padrões das substâncias ativas 1, 2, e 3, do padrão final e do branco, no ensaio de identificação das mesmas substâncias ativas	40
Figura 11: Cromatograma obtido de padrão final na optimização do método analítico do ensaio de “recovery” das substâncias ativas 1 e 2 no produto B (Teste 1)	42
Figura 12: Cromatograma obtido de padrão final na optimização do método analítico do ensaio de “recovery” das substâncias ativas 1 e 2 no produto B (Teste 2)	42
Figura 13: Cromatograma obtido de padrão final na optimização do método analítico do ensaio de “recovery” das substâncias ativas 1 e 2 no produto B (Teste 3)	43

Figura 14: Cromatograma obtido de padrão final na otimização do método analítico do ensaio de “ <i>recovery</i> ” das substâncias ativas 1 e 2 no produto B (Teste 4)	43
Figura 15: Cromatograma obtido de padrão final na otimização do método analítico do ensaio de “ <i>recovery</i> ” das substâncias ativas 1 e 2 no produto B (Teste 5)	44
Figura 16: Cromatograma obtido de padrão final na otimização do método analítico do ensaio de “ <i>recovery</i> ” das substâncias ativas 1 e 2 no produto B (Teste 6)	44
Figura 17: Cromatograma obtido de padrão final na otimização do método analítico do ensaio de “ <i>recovery</i> ” das substâncias ativas 1 e 2 no produto B (Teste 7)	45
Figura 18: Cromatogramas obtidos de amostra e branco na otimização do método analítico do ensaio de “ <i>recovery</i> ” da substância ativa 3 no produto A (Início)	47
Figura 19: Cromatograma obtido de amostra na otimização do método analítico do ensaio de “ <i>recovery</i> ” da substância ativa 3 no produto A (Teste 1)	48
Figura 20: Cromatograma obtido de amostra na otimização do método analítico do ensaio de “ <i>recovery</i> ” da substância ativa 3 no produto A (Teste 2)	48
Figura 21: Cromatograma obtido de amostra na otimização do método analítico do ensaio de “ <i>recovery</i> ” da substância ativa 3 no produto A (Teste 3)	49
Figura 22: Cromatogramas obtidos de amostra e branco na otimização do método analítico do ensaio de “ <i>recovery</i> ” da substância ativa 3 no produto A (Teste 4)	50
Figura 23: Cromatograma obtido de amostra na otimização do método analítico do ensaio de “ <i>recovery</i> ” da substância ativa 3 no produto A (Teste 5)	51
Figura 24: Cromatograma obtido de amostra na otimização do método analítico do ensaio de “ <i>recovery</i> ” da substância ativa 3 no produto A (Teste 6)	51
Figura 25: Cromatograma obtido de amostra na otimização do método analítico do ensaio de “ <i>recovery</i> ” da substância ativa 3 no produto A (Teste 7)	52
Figura 26: Cromatogramas obtidos de amostra e branco na otimização do método analítico do ensaio de “ <i>recovery</i> ” da substância ativa 3 no produto A (Teste 8)	53
Figura 27: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de “ <i>recovery</i> ” de EDTA no produto A (cont.)	63
Figura 27.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de “ <i>recovery</i> ” de EDTA no produto A	64

Figura 28: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de “recovery” de EDTA no produto B (cont.)	66
Figura 28.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de “recovery” de EDTA no produto B.....	67
Figura 29: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de “recovery” de EDTA no produto B (cont.)	69
Figura 29.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de “recovery” de EDTA no produto B.....	70
Figura 30: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de “recovery” da substância ativa 2 no produto B (cont.)	72
Figura 30.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de “recovery” da substância ativa 2 no produto B (cont.).....	73
Figura 30.b): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de “recovery” da substância ativa 2 no produto B.....	74
Figura 31: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de “recovery” da substância ativa 3 no produto A (cont.)	76
Figura 31.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de “recovery” da substância ativa 2 no produto B.....	77
Figura 32: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto A (cont.).....	79
Figura 32.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto A (cont.).....	80
Figura 32.b): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto A.....	81
Figura 33: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto B (cont.).....	82
Figura 33.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto B (cont.).....	83
Figura 33.b): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto B.....	84
Figura 34: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 1 e 2 no produto B (cont.).....	86
Figura 34.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 1 e 2 no produto B (cont.).....	87

Figura 34.b): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 1 e 2 no produto B.....	88
Figura 35: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 3 no produto A (cont.)	89
Figura 35.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 3 no produto A (cont.)	90
Figura 35.b): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 3 no produto A	91

Abreviaturas

CIP- Clean in Place

COP- Clean out Place

ECA- European Compliance Academy

EDTA– Edetate Disodium (Disodium dihydrogen ethylenediaminetetraacetate dihydrate)

FDA- U.S Food and Drug administration

FE – Farmacopeia Europea

GMP- Good Manufacturing Practice

HPLC- High Performance Liquid Chromatography

ICH- International Conference on Harmonization

LOD– Limit of Detection

LOQ– Limit of Quantification

QC- Quality Control

RSD– Relative Standard Deviation

SP/MSD- Schering-Plough Farma/ Merck Sharp & Dohme

UV – Ultra-Violeta

WC- Work Center

1. Introdução

1.1 Schering Plough Farma/ Merck Sharp & Dohme (SP/ MSD)

A Schering Plough Farma e a Merck Sharp & Dohme recentemente fundiram-se para criar uma nova empresa. Hoje, a SP/ MSD é a segunda maior empresa farmacêutica do mundo, bem como líder global em produtos para a saúde humana e animal. Ambas as empresas têm mais de 100 anos de história de melhorar a vida humana. A SP/ MSD têm diferentes subsidiárias sendo que uma delas encontra-se sediada no Cacém, Portugal. Neste “*site*”, esta empresa fabrica os seus próprios produtos, incluindo medicamentos e produtos de cosmética: champôs, pomadas, cremes, comprimidos, gel, loções e soluções orais e nasais.

Este local de fabrico neste momento tem cerca de 60 trabalhadores e as principais áreas deste “*site*” são: Unidade da Qualidade, Engenharia e Produção.

O laboratório de controlo de qualidade está incluído no departamento da Unidade da Qualidade. Este laboratório está dividido em três secções diferentes: física, química e microbiologia.

Algumas das atividades realizadas no controlo de qualidade (QC) são:

- Análise de matérias-primas / água / componentes de embalagem;
- Controlo em processo: fabrico e embalagem;
- Análise de produto acabado;
- Estudos de estabilidade;
- Validações de limpeza;
- Validações de método.

Como todas as empresas farmacêuticas, a SP/ MSD é regida pelas Boas Práticas de Fabrico (GMP), as quais adoptam uma abordagem holística para a regulação da produção e do controlo de qualidade de forma a garantir que o fabrico dos produtos farmacêuticos seja um processo controlado.

1.2 Introdução à validação de limpeza

Na indústria farmacêutica, o conjunto de normas que dita as boas práticas do processo de produção de medicamentos (GMP), direciona este para a eficácia e integridade dos mais diversos tipos de tratamentos da saúde. Este processo, quando validado e documentado, apresenta confiabilidade e reprodutibilidade, estabelecendo-se um alto padrão de qualidade na produção de medicamentos. Dentro deste processo, destaca-se a validação dos processos de limpeza, que visa assegurar que os resíduos dos produtos fabricados, resíduos do próprio agente de limpeza e resíduos microbiológicos estejam dentro dos limites aceitáveis, após a execução dos procedimentos de limpeza. Deste modo, garante-se que o próximo produto fabricado não contém nenhuma substância do produto anterior, isto é, que não há contaminação cruzada.

É de salientar, que na validação de limpeza, tal como acontece com a validação de outros processos, pode haver mais do que uma forma de o fazer. No final, o objetivo de qualquer processo de validação, é verificar se os dados mostram que o sistema se encontra consistente conforme o esperado, e se produzem resultados que estejam conforme as especificações pré-determinadas ^[1].

Dentro de uma indústria, validar os processos de limpeza de todos os produtos seria um processo demorado e inviabilizaria a sua conclusão de forma eficiente. Sendo assim, foram definidas algumas estratégias para os agrupar em produtos similares e, ou, em equipamentos, uma vez que quando o processo de limpeza de um produto considerado como o “*pior caso*” ou “*worst case*” estiver validado, considerar-se-á o processo dos outros produtos também validado.

Um procedimento de limpeza, uma vez validado, assegura a produção de lotes uniformes de acordo com as especificações requeridas. Permite também, aperfeiçoar os conhecimentos dos processos produtivos e, desta forma, assegurar que os processos se encontram sob controlo; diminuir o risco de desvio de qualidade e diminuir o risco de não conformidades relativas aos requisitos estabelecidos ^[2].

Este relatório, terá como foco a Validação dos Processos de Limpeza, o qual incidirá nos tipos de limpeza, procedimentos de limpeza, inspeção e métodos de amostragem, metodologias, critérios de aceitação, definição dos produtos considerados o “*pior caso*” e documentação envolvida neste estudo. Mostrará assim,

uma forma de validar os procedimentos de limpeza dos equipamentos de fabrico e embalagem na indústria farmacêutica, de modo a garantir a realização das boas práticas de fabrico (GMP) de medicamentos, e conseqüentemente a saúde e bem-estar do paciente usuário do medicamento [3].

A figura apresentada a seguir ilustra o modo de proceder numa validação de limpeza desde que é iniciada até à aprovação do relatório de validação.

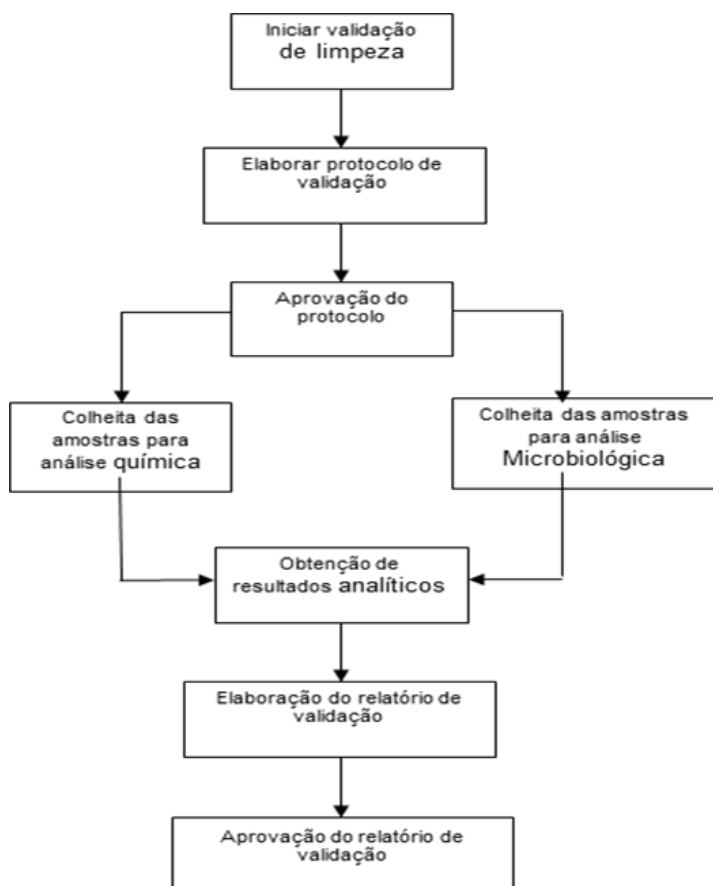


Figura 1: Procedimento a ter na realização de uma validação de limpeza

Neste relatório será também testada uma nova estratégia para a validação de limpeza dos equipamentos de fabrico de formas farmacêuticas semi-sólidas. Os produtos escolhidos para a avaliação da estratégia são dois medicamentos dermatológicos, apresentados na forma de pomada e produzidos numa unidade de fabrico de vários produtos.

A grande proposta para este trabalho será o uso de um método de amostragem inovador, que consiste na colheita direta de amostra após o seu fabrico, a qual será usada na análise de determinação dos resíduos.

Como métodos analíticos para a quantificação dos resíduos, utilizar-se-ão métodos validados por via espectrofotométrica (HPLC), usados na análise do produto acabado.

A validação de limpeza será avaliada através da análise de uma quantidade conhecida de pomada, usando o método de análise da pomada fabricada anteriormente, de modo a verificar-se a existência ou não de agente de limpeza e substâncias ativas deixadas após a limpeza de ambos os produtos.

A validação de limpeza realizar-se-á em três lotes de cada produto.

O método analítico combinado com o método de amostragem utilizado na colheita de amostras será sujeito a um ensaio de “*recovery*”, ou seja, serão determinadas as percentagens de recuperação de cada resíduo contaminante.

Com a estratégia apresentada, o objetivo será obter evidências de que o fabrico dos medicamentos semi-sólidos numa unidade de fabrico de vários produtos, poderá ser mantido e continuado, sem afetar a integridade dos restantes produtos fabricados nesta unidade.

2. Desenvolvimento do tema

2.1. Procedimentos de Limpeza dos Equipamentos

De acordo com as boas práticas de fabrico de medicamentos, o fabricante deve fazer procedimentos escritos de limpeza para todos os equipamentos ou conjunto de equipamentos, de forma a impedir a contaminação cruzada. Sendo este um dos assuntos considerados mais importantes na indústria farmacêutica ^[4].

Os procedimentos de limpeza devem ser rigorosamente seguidos e desenvolvidos para todos os equipamentos/utensílios que entram em contato direto com os produtos no processo de fabrico ou embalagem, e também para as peças que não entram em contato direto com o produto, mas que podem comprometer a limpeza das peças consideradas críticas.

Existem três tipos de processos de limpeza que são os mais usados na indústria farmacêutica, os quais são descritos a seguir:

- Limpeza manual

A limpeza manual é aquela que é feita diretamente no equipamento por um operador treinado, com ferramentas manuais e agentes de limpeza. Este processo de limpeza deve ser reavaliado com frequência, para confirmar que o treino e a perícia do operador ao realizar a limpeza são adequados.

- Limpeza semi-automática

A limpeza semi-automática é aquela que além da limpeza manual, inclui também algum controlo automático. Este sistema requer uma verificação determinada com base na reprodutibilidade do processo ao longo do tempo.

- Limpeza automática

A limpeza automática não envolve a presença direta de pessoas no processo de limpeza, pois o sistema é programado para um ou vários ciclos de limpeza. Por este tipo de sistema, a limpeza efetuada é reprodutível devido à automação deste processo, podendo assim não necessitar de uma verificação da limpeza contínua, se o sistema se encontrar projetado, instalado e validado.

Dentro da limpeza automática, destacam-se dois tipos de limpeza: CIP (Clean in Place) e COP (Clean out Place).

O termo CIP refere-se a um sistema de limpeza totalmente automatizado, que consiste num sistema de recirculação com vários tanques, bombas e um sistema de tubulações que fornece a solução de limpeza aos equipamentos, o qual retorna ao tanque por recirculação. O termo COP refere-se à limpeza também automática, mas numa sala de lavagens ^[2].

O processo de limpeza manual deve ser reavaliado em intervalos de tempo mais frequentes do que o processo CIP, por exemplo ^[5].

Os procedimentos de limpeza devem ser suficientemente detalhados para permitir que os operadores limpem cada tipo de equipamento de uma forma reprodutível e eficaz. Estes procedimentos devem incluir:

- Atribuição das responsabilidades pela limpeza dos equipamentos;
- Uma descrição completa dos métodos e materiais de lavagem, incluindo a diluição do detergente de limpeza usado para limpar os equipamentos;
- Pontos críticos a considerar na lavagem e posterior inspeção;
- Quando necessário, devem ser incluídas as instruções para a desmontagem e montagem das peças e do equipamento para garantir uma limpeza adequada;
- Soluções desinfetantes usadas na higienização dos equipamentos;
- Instruções para a remoção ou obliteração da identificação do lote anterior;
- Instruções para a proteção dos equipamentos limpos de modo a evitar a contaminação antes da sua utilização;
- Verificação da limpeza dos equipamentos imediatamente antes da sua utilização;
- Estabelecer o tempo máximo que pode decorrer entre a conclusão da limpeza do equipamento e a data de uso, quando for o caso ^[6].

Os equipamentos e utensílios devem ser limpos, secos, armazenados e, quando apropriado, sanitizados ou esterilizados para evitar a contaminação do material que alteraria a qualidade do próximo produto a fabricar ou embalar, conduzindo-o para valores que ficariam fora das especificações estabelecidas.

O processo de limpeza não deve sofrer atrasos porque o procedimento de limpeza poderá não ser adequado nesta condição, pois os produtos residuais poderão secar

tornando a limpeza mais difícil. O ideal será limpar, logo após a conclusão de um processo de fabrico ou de embalagem.

Posteriormente, antes da reutilização dos equipamentos/utensílios, deve-se verificar se se encontram dentro do prazo de limpeza estipulado. Geralmente, este prazo poderá ser de 7 dias para os equipamentos e de 15 dias para os utensílios. Caso se verifique que o prazo de limpeza foi ultrapassado, o material terá que ser novamente limpo antes da sua utilização.

Quando o equipamento é usado na produção ou embalagem de lotes em campanha deve ser limpo em intervalos apropriados para evitar a acumulação e posterior transição de contaminantes (por exemplo, de degradantes ou microorganismos objeccionáveis).

Aquando a realização de um procedimento de limpeza, devem ser consideradas as características das matérias-primas, pois os materiais poderão comportar-se de forma diferente quando sujeitos à sua limpeza. Por vezes, resolve-se este problema dedicando os equipamentos, utensílios ou linhas a produtos específicos ou ao mesmo tipo de produtos.

Um procedimento de limpeza necessita de ser validado apenas uma vez, no entanto se houver uma mudança no equipamento, no detergente de limpeza, no processo de fabrico ou uma alteração no procedimento de limpeza, é necessário fazer uma revalidação.

Após a validação do procedimento de limpeza, se os resultados obtidos se encontrarem de acordo com as especificações pré determinadas, o processo de limpeza fica validado. Deste modo, a limpeza deve ser feita de acordo com este procedimento validado. Se pelo contrário, os resultados não forem satisfatórios, deverão ser avaliadas as medidas corretivas de modo a proceder-se aos ajustes considerados necessários ao procedimento de limpeza. A eficácia do procedimento de limpeza, a *“performance”* do operador, e o equipamento envolvido são reapreciados para otimizar o processo de limpeza. Ajustes / alterações ao procedimento de limpeza, tais como detergentes, temperatura da lavagem, passagens, mudança no processo de desmontar o equipamento e, ou, novo treino do operador são implementados antes de uma nova validação. Esta avaliação e possíveis ajustes e alterações são realizadas pela Produção.

A figura seguinte ilustra o procedimento a ter aquando a validação de um procedimento de limpeza.

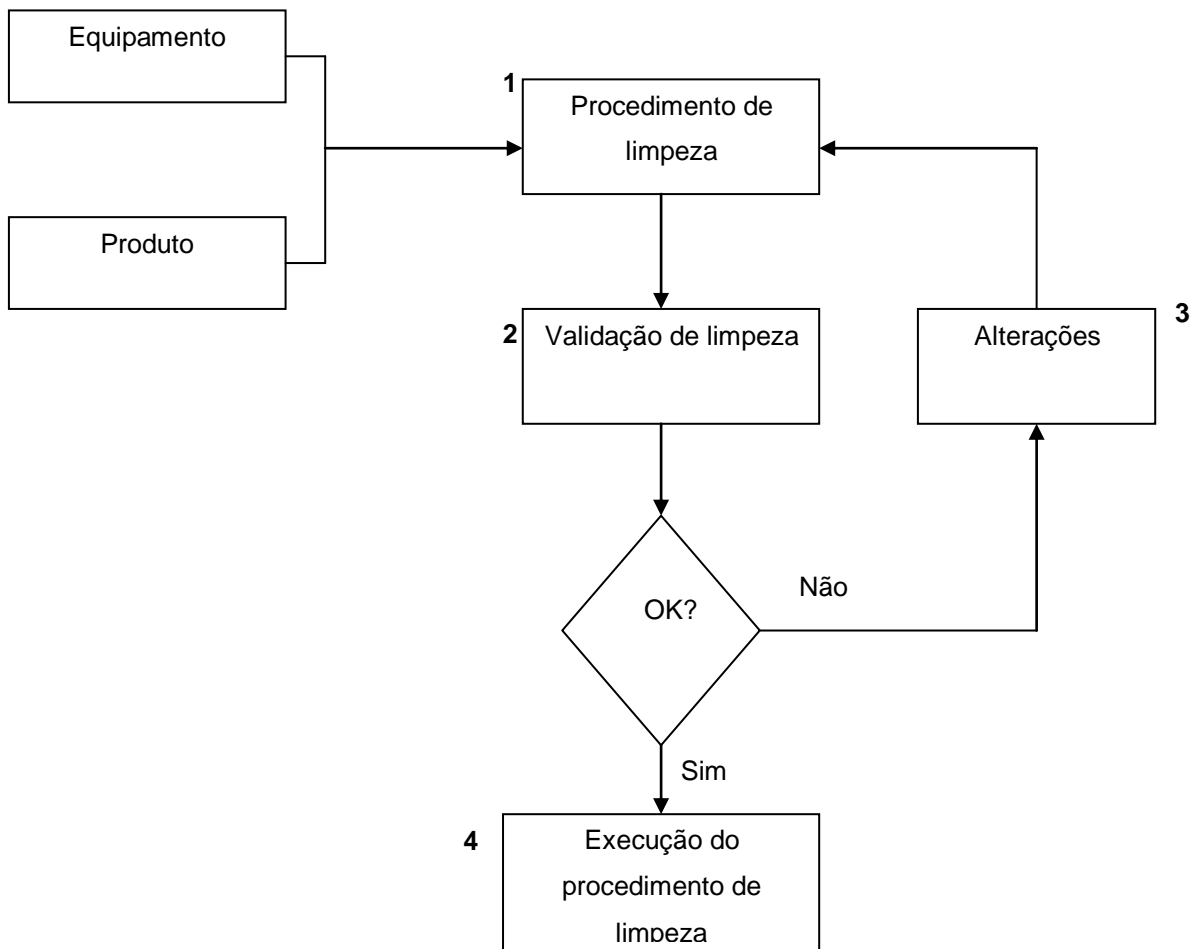


Figura 2: Modo de proceder aquando a validação de limpeza do equipamento

Depois da validação, os procedimentos de limpeza devem ser monitorizados em intervalos apropriados, para garantir que estes procedimentos são eficazes quando usados durante a produção de rotina. A limpeza dos equipamentos pode ser monitorizada através de testes analíticos e de inspeção visual, sempre que possível. A inspeção visual pode permitir a deteção de contaminação concentrada em pequenas áreas que poderia passar despercebida por amostragem e / ou análise.

2.2. Escolha do produto considerado o “Pior Caso” de limpeza

Os processos farmacêuticos, por vezes utilizam a mesma unidade de fabrico e linha de embalagem para a produção/embalagem de vários medicamentos. Nestas unidades deve-se assegurar que os resíduos do produto recém-fabricado, após a limpeza dos equipamentos, não contaminem o produto seguinte. Este é um requisito imprescindível das boas práticas de fabrico de medicamentos, e a validação de limpeza dos equipamentos a garantia da ausência de contaminação cruzada ^[4].

Perante o vultuoso trabalho de se validar a limpeza de todos os processos de fabrico/embalagem, passou-se a admitir a escolha de um produto, chamado de “*pior caso*” ou “*worst case*” para representar a limpeza de todos os equipamentos da mesma unidade de trabalho. E neste caso, assume-se que todos os produtos da mesma unidade de trabalho estão validados, aquando a aprovação da validação de limpeza para o “*pior caso*”.

A abordagem adotada foi a de agrupar os produtos fabricados/embalados nas mesmas unidades de trabalho, pois estes produtos apresentam semelhanças que poderão ser físicas, de formulação, na quantidade e modo de utilização pelo consumidor, no tamanho do lote, entre outras. E posteriormente foi escolhido o produto “*pior caso*”, representante de vários produtos, que será o que apresenta as características mais críticas em relação aos outros, e o que será sujeito à validação dos procedimentos de limpeza ^[2].

Uma estratégia possível para a escolha dos produtos “*pior caso*”, sujeitos à validação de limpeza, no caso de unidades de fabrico e embalagem com vários produtos, baseia-se na seguinte avaliação:

- Substância ativa considerada o “*pior caso*” em termos de toxicidade
O produto “*pior caso*” é determinado baseado na toxicidade da substância ativa.
- Substância ativa considerada o “*pior caso*” em termos de solubilidade
O produto “*pior caso*” é determinado baseado na solubilidade da substância ativa.
- Produto considerado o “*pior caso*” de limpeza baseado na experiência do operador

O produto “*pior caso*” é determinado baseado na experiência do operador com os procedimentos de limpeza. A experiência do operador é muito valiosa, deste modo deve ser feita uma pesquisa junto de todos os operadores acerca dos produtos que consideram mais difíceis de limpar.

- Duração da campanha

O produto “*pior caso*” é determinado baseado na duração da campanha.

- Formas farmacêuticas dos produtos

Por exemplo, os comprimidos revestidos por uma película, e as cápsulas geralmente não são considerados produtos difíceis de limpar numa linha de embalagem, enquanto os comprimidos não revestidos sujam mais o equipamento, devendo ser considerados o “*pior caso*” de limpeza.

Feita esta avaliação, os produtos “*pior caso*” são identificados por unidade de trabalho. Como exemplo apresenta-se a seguinte tabela:

Tabela 1: Produto “*pior caso*” de limpeza na unidade de trabalho 1 de embalagem de vários produtos

Unidade de Trabalho 1	Produto	Pior Caso
	Produto A	
	Produto B	
	Produto C	
	Produto D	Produto B
	Produto E	
	Produto F	
	Produto G	

Posteriormente, foi considerada uma nova abordagem para a escolha do produto “*pior caso*” para as unidades de fabrico de vários produtos, uma vez que se percebeu

que o produto escolhido como o “*pior caso*”, nem sempre era o mais difícil de limpar em todos os equipamentos constituintes da mesma unidade de fabrico. Por outro lado, também não significava que eram usados todos os equipamentos dessa unidade para o seu fabrico, correndo-se o risco de não validar os procedimentos de limpeza de todos os equipamentos. E também se verificou que os equipamentos dedicados ao fabrico de determinados produtos não seriam sujeitos à validação dos seus procedimentos de limpeza. Daqui, resultou a necessidade de realizar a avaliação descrita atrás para a escolha do produto “*pior caso*”, por unidade de fabrico e por equipamento constituinte dessa unidade.

A título de exemplo, mostra-se uma tabela obtida após a avaliação dos produtos “*pior caso*” de uma unidade de fabrico.

Tabela 2: Produtos “*pior caso*” de limpeza na unidade de trabalho 1 de fabrico de vários produtos

Produto	Equipamento				
Produto A	Hamilton 100	Agitador			Bomba
Produto B	Hamilton 100		Homogeneizador	Depósito 50 L	Bomba
Produto C	Hamilton 100	Agitador		Depósito 50 L	
Produto D	Hamilton 100	Agitador			Bomba
Produto E	Hamilton 100	Agitador		Depósito 50 L	
Produto F	Hamilton 100	Agitador			
Pior Caso	Produto A	Produto A	Produto B	Produto B	Produto B

Tendo como base determinados critérios, tais como a experiência dos operadores e a grandeza de lote o Fabrico e a Embalagem elaboraram uma lista que agrupa os produtos por WC (Work Center), por equipamento e que define para cada um dos work centers / equipamentos qual o produto “*worst case*”.

O objectivo é identificar o produto “*pior caso*” por unidade de trabalho da embalagem e o produto “*pior caso*” para cada equipamento, por WC, do fabrico.

Os produtos foram agrupados por WC (fabrico e embalagem) e será considerado o “*worst case*” por WC para a embalagem. No caso do fabrico será considerado o “*worst case*” por equipamento de cada WC.

Foi pedido ao Fabrico e à Embalagem para elaborar uma lista de produtos/ equipamento por WC e posteriormente escolher o “*worst case*” tendo em atenção a grandeza de lote, a dificuldade em limpar o equipamento após fabrico/embalagem de determinado produto e principalmente a experiência dos operadores.

Através de critérios previamente seleccionados, grandeza de lote e experiência dos operadores, foi elaborado pelo Fabrico e pela Embalagem a lista de produtos por WC e foi seleccionado o “*worst case*” por WC para a embalagem e o “*worst case*”, por equipamento, por WC para o fabrico.

Tendo como base determinados critérios, tais como a experiência dos operadores e a grandeza de lote o Fabrico e a Embalagem elaboraram uma lista que agrupa os produtos por WC, por equipamento e que define para cada um dos work centers / equipamentos qual o produto “*worst case*”.

Ao validar o produto “*worst case*” os produtos do mesmo WC serão automaticamente considerados validados.

2.3. Documentação

Protocolo de Validação de Limpeza

No protocolo de validação de limpeza devem ser definidas todas as atividades que irão constituir o estudo da validação de limpeza. O protocolo deve ser elaborado antes do início do estudo e deve incluir os seguintes pontos:

- Pessoas responsáveis pela preparação, verificação e aprovação do protocolo;
- Índice;
- Introdução e objetivo do estudo da validação de limpeza a efectuar;
- Descrição dos documentos de referência;
- Lista do equipamento envolvido, incluindo equipamento de suporte;
- Referência aos procedimentos de limpeza de cada peça do equipamento;
- Produtos contaminantes a serem monitorizados;
- Métodos de amostragem;
- Plano de amostragem, identificando as peças do equipamento, a localização exata dos pontos de colheita e a quantidade de amostra (área) a colher;
- Métodos de análise, incluindo os dos estudos de recuperação, se aplicável;
- Limites e critérios de aceitação;
- Anexos (procedimentos de limpeza e a amostragem dos equipamentos).

Após a sua execução, deve ser verificado e aprovado antes de iniciar o estudo da validação de limpeza. Posteriormente o departamento do fabrico/embalagem deve ser notificado, após a seleção dos lotes de produto sujeitos a amostragem. Depois da execução do processo de limpeza, proceder à inspeção visual e documentá-la de acordo com o protocolo de validação. Colher as amostras requeridas pelo protocolo e proceder à sua análise. Após a obtenção e verificação dos resultados, elaborar o relatório de validação de limpeza.

Relatório de Validação de Limpeza

O relatório de validação de limpeza deve fazer referência ao protocolo, ao número dos lotes de produto que foram sujeitos à validação, e ser elaborado contemplando os resultados obtidos, (incluindo a comparação com os critérios de aceitação), desvios, conclusões e mudanças. Qualquer desvio ao protocolo de validação deve ser documentado e justificado.

O processo de validação é satisfatório quando os resultados são aceitáveis. Caso contrário, deve-se analisar a origem dos desvios encontrados e determinar as alterações necessárias, até que o mesmo apresente resultados aceitáveis.

O relatório de validação de limpeza deve incluir os seguintes pontos:

- Pessoas responsáveis pela preparação, verificação e aprovação do relatório;
- Índice;
- Introdução e objetivo do estudo da validação de limpeza efectuado;
- Descrição dos documentos de referência;
- Métodos de colheita das amostras;
- Descrição dos métodos de análise, incluindo os do estudo de recuperação, se aplicável, e referenciar quais são os limites de quantificação desses métodos;
- Identificação das pessoas que efetuaram a limpeza dos equipamentos e a colheita das amostras; e datas em que se realizaram a limpeza dos equipamentos e a colheita das amostras;
- Análise e apresentação dos resultados, comparando-os com os critérios de aceitação pré-determinados no protocolo, incluindo os resultados dos estudos de recuperação dos contaminantes;
- Desvios ao protocolo de validação de limpeza;
- Conclusões acerca do estudo da validação de limpeza indicando que os procedimentos de limpeza foram validados com sucesso, se for o caso;
- Anexos (relatórios dos testes analíticos).

Por fim, o relatório deve ser verificado e aprovado, e consideram-se os procedimentos de limpeza validados.

2.4. Métodos de Amostragem e Inspeção

A presença de resíduos e contaminações microbianas pode afetar negativamente a qualidade dos produtos farmacêuticos. Para evitar as consequências potencialmente graves da contaminação cruzada dos produtos, os procedimentos de limpeza têm que ser validados. Com o objetivo de avaliar o método de limpeza, é necessário fazer uma amostragem do produto nas superfícies de contato com os equipamentos e determinar o nível de resíduos presentes. A escolha dos métodos de amostragem dependerá da natureza dos resíduos e da concepção dos equipamentos de

fabrico/embalagem. É efetuado um plano de amostragem onde se definem os locais e métodos de amostragem, e o número de amostras por local amostrado, necessárias para serem representativas de todo o equipamento.

Os locais selecionados para a colheita de amostras, num determinado equipamento, devem ser representativos das áreas mais difíceis de limpar, ou seja, onde os resíduos de produto possam existir, caso não tenha havido uma limpeza adequada [2].

Os métodos de amostragem, das superfícies de equipamentos, considerados aceitáveis são dois, o método do “*swab*” e o método da água de lavagem.

O método do “*swab*” é uma técnica muito utilizada na amostragem direta das superfícies dos equipamentos. É usado para determinar uma quantidade de produto, diretamente em contacto com a superfície do equipamento. É útil para superfícies multifacetadas e difíceis de desmontar, por exemplo, moinhos, homogeneizadores e máquinas de comprimir. Além disso, os resíduos que são secos ou insolúveis podem ser diretamente colhidos por este método. Este método também é usado noutros contextos, por exemplo na efectividade da limpeza das superfícies nos hospitais [7].

Os “*swabs*” são saturados com o solvente adequado ao ativo em causa, solvente que pode ser água destilada para ativos solúveis em solventes inorgânicos, etanol ou metanol, para os ativos solúveis em solventes orgânicos. Desta forma, obtém-se uma boa solubilização e remoção física dos resíduos superficiais.

A escolha do “*swab*” é muito importante, na medida em que a capacidade de recuperação dos resíduos pode ser afetada. A título de exemplo, foram obtidas percentagens de recuperação do agente ativo de limpeza dos equipamentos, na ordem dos 13 e 70% com “*swabs*” diferentes.

Este método de amostragem é escolhido quando os locais a amostrar são de fácil acesso.

Os movimentos a executar com o “*swab*” nesta técnica de amostragem, devem seguir o seguinte procedimento (ver a figura 3) (adaptado de [8]):

1. Executar o movimento com o “*swab*” da direita para a esquerda (Step 1)
2. Executar o movimento com o “*swab*” de cima para baixo (Step 2)

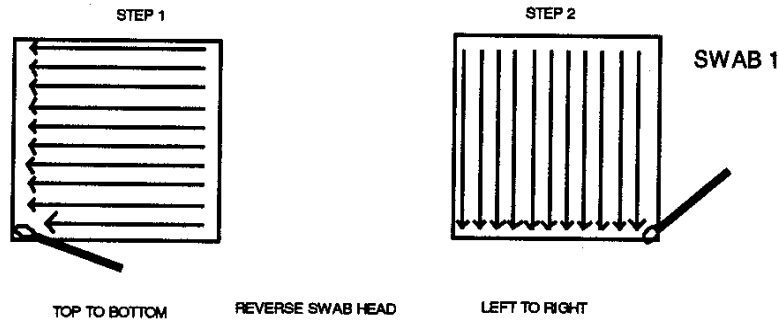


Figura 3: Procedimento a ter com o “swab” aquando a colheita, no método do “swab”

O método das águas de lavagem dos equipamentos é uma técnica de amostragem usada como complemento do método do “swab”, uma vez que é especialmente útil quando os locais a amostrar são inacessíveis.

Este método permite a amostragem de uma área grande da superfície do equipamento.

A desvantagem desta técnica é que o resíduo contaminante pode não ser solúvel no solvente de lavagem, requerendo atenção para a sua escolha apenas quando conhecida a sua solubilidade.

Um plano de amostragem adequado, deve incluir três diferentes tipos de inspeção ao processo de limpeza dos equipamentos de fabrico/ embalagem:

Inspeção Visual

Todo o equipamento tem que ser inspecionado visualmente, para detetar eventuais vestígios de produto seco ou detergentes, devendo ser dada especial atenção aos pontos difíceis de limpar.

Inspeção Química

O equipamento que passou na inspeção visual, é testado quimicamente, no que se refere a resíduos. O ideal é usar os dois métodos de amostragem descritos atrás, atendendo a que a utilização de um método isoladamente apresenta desvantagens.

A colheita direta, efetuada através do método do “swab”, pode originar uma quantidade tão pequena de resíduo, que os resultados não são representativos. Por outro lado, a colheita feita através das águas de lavagem, pode ocultar algum resíduo, e a amostra não ser representativa do sistema.

Inspeção Microbiológica

A inspeção microbiológica não é necessária para os processos de limpeza que não utilizam água. Esta é apenas requerida para os processos de limpeza que utilizam água ou água/mistura de solventes e que podem ser potencialmente responsáveis pela introdução e/ou facilitar a proliferação de microorganismos. O equipamento, que devido ao seu “*design*” é suscetível de conservar/ estagnar alguma água é obrigatoriamente submetido à validação de limpeza.

A pesquisa de agentes microbianos, nas superfícies do equipamento, é feita usando “*swabs*” ou placas de contacto “*Rodac*”. Para testar as superfícies de difícil acesso, pode ser usado o método da água de lavagem como técnica de amostragem.

De modo a garantir que os procedimentos de limpeza são robustos e reprodutíveis, a inspeção visual, química e microbiológica deve ser efetuada em pelo menos três lotes do produto sujeito à validação de limpeza.

Os locais selecionados para a colheita de amostras, num determinado equipamento, devem ser representativos das áreas mais difíceis de limpar, ou seja, onde os resíduos de produto possam existir, caso não tenha havido uma limpeza adequada.

2.5. Detergente

Se fizer parte integrante do procedimento de limpeza, o uso de detergente na lavagem dos equipamentos que estiveram em contato com o produto, a eficácia dos procedimentos de limpeza deve ser avaliada quanto à remoção de resíduos de detergente. Ou seja, deve ser demonstrado que o agente de limpeza é removido da superfície dos equipamentos. Como tal, deve ser conhecida a composição do detergente por forma a identificar o agente ativo que será sujeito ao estudo da validação de limpeza ^[9].

2.6. Métodos Analíticos

Na validação de limpeza, o método analítico a utilizar para a pesquisa de ativo, é derivado do método analítico usado para dosear o mesmo ativo no produto acabado. Contudo, podem ser necessárias alterações derivadas ao facto de haver fatores de interferência relacionados com a existência de agente de limpeza ou com o método de amostragem.

Quando se inicia a validação de limpeza, os métodos analíticos devem estar validados, uma vez que, validados, têm maior sensibilidade para detetar resíduos ou contaminantes (incluindo detergentes) ^[10]. O limite de deteção do método analítico, deve ser suficientemente sensível para detetar o nível aceitável estabelecido de resíduo ou contaminante ^[6].

Para a validação de métodos analíticos estão estabelecidas normas na Europa ^[11], nos EUA ^[12] e também princípios globalmente aceites ^[13].

Se não for detetada contaminação residual, não significa que não exista. Significa apenas que o nível de contaminante maior que o limite de deteção do método analítico, não está presente na amostra ^[1].

O doseamento deve ser efetuado usando um padrão com a concentração respeitante ao limite de quantificação determinado para o ativo na validação do método, e deve ser efetuado um branco (controlo negativo) com o solvente, para demonstrar que este não contaminará a amostra.

Ensaio de “Recovery”

A validação do método analítico e a determinação do fator de recuperação para determinada superfície dos equipamentos são passos muito importantes num processo de validação de limpeza.

O método analítico deve ser assim testado quando combinado com o método de amostragem usado na colheita de amostras, para mostrar que os contaminantes podem ser recuperados a partir da superfície dos equipamentos, e a que nível, ou seja, a percentagem de recuperação. Esta determinação é necessária ser efetuada, antes que qualquer conclusão seja feita com base nos resultados da amostra. A obtenção de um resultado negativo poderá ser a consequência de uma técnica de amostragem pobre ^[1, 14].

O estudo de “*recovery*” serve assim para validar a metodologia de amostragem usada na colheita de amostras, e o fator de recuperação obtido, é o parâmetro que avalia e quantifica a eficácia da recuperação de contaminantes do processo de amostragem em causa. O cálculo do fator de recuperação deve ser realizado tendo em conta os seguintes aspetos:

- O equipamento a testar
- Tipo de material
- Técnica de recuperação do resíduo

O fator de recuperação tem de ser determinado para cada tipo de material da superfície dos equipamentos. Os materiais similares podem ser agrupados, e determinar-se um único fator de recuperação para a superfície representante do grupo ^[15].

Tal como referido atrás, no estudo de “*recovery*” é necessário determinar a percentagem de resíduo contaminante que é removido do equipamento, usando por exemplo a técnica de amostragem do “*swab*”. Deste modo, uma quantidade conhecida de resíduo é colocada sobre uma determinada área de superfície do material pretendido, e deixa-se secar. Posteriormente com o “*swab*” humedecido no solvente adequado é feita a colheita da amostra. O “*swab*” é colocado dentro de um tubo de “*nessler*”, é adicionado diluente e procede-se à agitação ou aquecimento para extrair o resíduo do “*swab*”. A amostra é doseada usando o método analítico validado utilizado para a pesquisa do resíduo contaminante da superfície dos equipamentos. O padrão a usar deve ter uma concentração na gama do limite de quantificação.

Para que se considere a técnica de amostragem adequada, esta determinação deverá ser feita em triplicado, se o resultado obtido for inferior a 70% da quantidade teórica, sendo considerado para resultado final de “*recovery*” a média dos três. Caso se obtenha um valor superior a 70%, será considerado somente este resultado como fator de recuperação.

O fator de recuperação obtido será usado no cálculo da concentração do resíduo obtido das amostras resultantes da amostragem do equipamento.

O padrão a usar deve ter uma concentração na gama do limite de quantificação, o mesmo usado na análise das amostras colhidas no equipamento. Quando não é possível usar padrões na gama do limite de quantificação utiliza-se uma

concentração superior. Um “recovery” ideal será de 100%, mas como se trabalha numa gama de concentrações muito pequenas esse valor nunca é atingido. Na prática quando o valor obtido é inferior a 70%, são efectuados pelo menos três ensaios sendo considerado para resultado final de “recovery” a média dos três.

Deve proceder-se de acordo com o seguinte esquema representado pela figura 4 (adaptado de [8]):

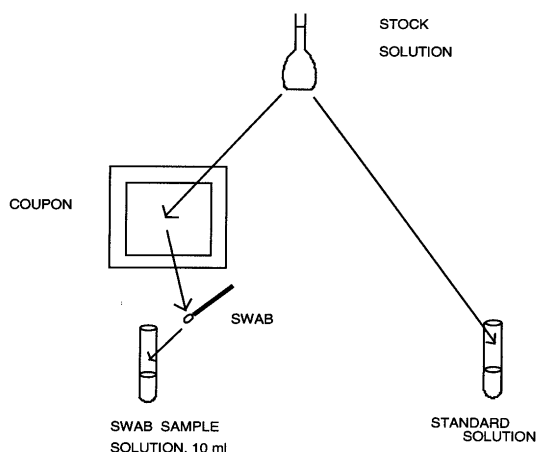


Figura 4: Modo de proceder aquando a preparação das soluções do ensaio de “recovery”

2.7. Critérios de Aceitação

A Validação de Limpeza deve demonstrar que o procedimento de limpeza remove resíduos da substância fabricada anteriormente para níveis que sejam aceitáveis, e que não contribui com materiais residuais para o equipamento em níveis inaceitáveis.

Devido à tecnologia “de ponta”, os métodos analíticos estão a tornar-se cada vez mais sensíveis e capazes de determinar níveis muito baixos de resíduos. Assim, é importante estabelecer limites apropriados nos níveis de resíduos após a limpeza dos equipamentos. Tais limites devem ser práticos, realistas, verificáveis e devem assegurar que os resíduos remanescentes no equipamento não farão com que a qualidade dos lotes subsequentes seja alterada [16].

Deste modo, poderão ser estabelecidos os seguintes critérios de aceitação:

- O equipamento deve estar visualmente limpo, isento de partículas após a limpeza;
- Não mais do que 10 ppm de qualquer produto pode ser detetado no produto posteriormente fabricado após a limpeza ^[5];

• Com base na dose terapêutica diária

Qualquer substância ativa do produto fabricado anteriormente, deve estar presente num nível máximo no produto seguinte, calculado de acordo com a equação seguinte:

$$\text{MACO} = \frac{\text{TDD}_{\text{antes}} \times \text{MBS}}{\text{SF} \times \text{TDD}_{\text{depois}}}$$

Em que:

MACO – Contaminação Máxima Permitida: montante transferido considerado aceitável do produto investigado ("antes")

TDD_{antes} - Dose terapêutica diária do produto investigado ("antes") (na mesma forma de dosagem do TDD_{depois})

TDD_{depois} - Dose terapêutica diária do produto seguinte ("depois")

MBS - Tamanho mínimo do lote do produto seguinte ("depois")

SF - Fator de segurança (normalmente é usado o valor de 1000 em cálculos baseados no TDD);

• Com base em dados toxicológicos

Nos casos em que a dose terapêutica não é conhecida (por exemplo nos detergentes), os dados sobre a toxicidade podem ser utilizados para o cálculo de MACO. É necessário calcular o chamado número NOEL (nível sem efeitos observáveis) de acordo com a seguinte equação e usar o resultado na fórmula de cálculo de MACO.

$$\text{NOEL} = \frac{\text{LD50 (g/kg)} \times 70 \text{ (kg por pessoa)}}{2000}$$

A partir do número de NOEL, o valor de MACO pode então ser calculado de acordo com:

$$\text{MACO} = \frac{\text{NOEL} \times \text{MBS}}{\text{SF} \times \text{TDD}_{\text{depois}}}$$

Nestas equações considerou-se:

MACO – Contaminação Máxima Permitida: montante transferido considerado aceitável do produto investigado ("antes")

NOEL – Nível a que uma substância não tem nenhum efeito farmacológico ou toxicológico observável numa pessoa ou animal

DL50 - Dose letal média de uma substância

70 - Peso médio de um adulto

2000 - Constante empírica

TDD_{depois} - Dose terapêutica diária do produto seguinte ("depois")

MBS - Tamanho mínimo do lote do produto seguinte ("depois")

SF - Fator de segurança (normalmente é usado o valor de 1000 em cálculos baseados no TDD)

O fator de segurança (SF) pode variar dependendo da via de administração, por exemplo, como apresentado a seguir:

Produtos tópicos: 1 - 10

Produtos orais: 100 - 1000

Produtos parentais: 1000 - 10 000 ^[17]

3. Método Experimental

3.1. Objetivo

O objetivo será obter evidências de que os procedimentos de limpeza são eficazes na limpeza dos equipamentos de uma unidade de fabrico de vários produtos, ou seja, que poderá ser mantida e continuada a produção, sem afetar a integridade dos restantes produtos fabricados nesta unidade, usando, para tal, um novo método de amostragem.

3.2. Introdução

Neste trabalho pretende-se efetuar a validação de limpeza de formas farmacêuticas semi-sólidas fabricadas numa unidade de fabrico de vários produtos. Os produtos escolhidos para esta validação foram dois medicamentos dermatológicos, apresentados na forma de pomada. O produto A que contém duas substâncias ativas, 1 e 2, e o produto B que contém a substância ativa 3. O produto A é fabricado na dosagem de 0,64 mg de substância ativa 1 e de 10 mg de substância ativa 2 por grama de pomada. O produto B apresenta uma dosagem de 1 mg de substância ativa 3 por grama de pomada.

O método de amostragem usado é inovador, uma vez que consiste na colheita direta de amostra após o seu fabrico, verificando a presença ou não do produto fabricado anteriormente e também do detergente usado na lavagem do equipamento.

Os métodos analíticos utilizados para a quantificação dos resíduos nos produtos A e B, foram os métodos usados na análise do produto acabado, sendo que o método de análise da pomada fabricada primeiro, foi usado na análise do produto seguinte, de modo a verificar-se a existência ou não de agente de limpeza (EDTA), e substâncias ativas deixadas após a limpeza do anterior, e vice-versa.

O padrão de trabalho usado nestes testes foi preparado com uma concentração no limite de quantificação do resíduo em causa.

Os valores dos limites de deteção (LOD) e quantificação (LOQ), obtidos aquando a validação dos métodos analíticos, foram de 0,014068 mg/mL e 0,04263 mg/mL para o EDTA; $2,77 \times 10^{-4}$ mg/mL e $8,41 \times 10^{-4}$ mg/mL para a substância ativa 1;

3×10^{-2} mg/mL e $8,993 \times 10^{-2}$ mg/mL para a substância ativa 2 e de $1,25 \times 10^{-5}$ e $2,5 \times 10^{-5}$ mg/mL para a substância ativa 3, respetivamente.

A validação de limpeza realizou-se em três lotes de cada produto, sendo que a sequência de colheita de amostras foi a apresentada na tabela seguinte:

Tabela 3: Amostras colhidas e respetivos lotes usados para a análise de determinação de resíduos contaminantes nos produtos A e B

Colheita	Produto	Nº Lote
	Produto B	1
1	Produto A	2
1	Produto B	3
2	Produto A	4
2	Produto B	5
3	Produto A	6
3	Produto B	7

O método de amostragem combinado com os métodos analíticos usados na análise de determinação de resíduos, foi desafiado de modo a determinar a percentagem de recuperação de substância ativa 1, 2 e agente de limpeza (EDTA) no produto B, e de substância ativa 3 e agente de limpeza (EDTA) no produto A.

O padrão de trabalho e as amostras usadas nestes ensaios de “*recovery*” apresentam uma concentração na gama do limite de quantificação.

3.3. Procedimentos de Limpeza dos Equipamentos

A limpeza efetuada aos equipamentos da unidade de fabrico de várias formas farmacêuticas semi-sólidas, sujeita ao estudo de validação, é manual.

Terminado o fabrico de um determinado produto, os equipamentos são desmontados por forma as suas peças serem lavadas.

As peças são passadas por água comum quente, de forma a remover a maior quantidade possível dos restos de pomada. É adicionada solução de detergente, e manualmente as peças são esfregadas de modo a remover a restante sujidade. São passadas com água quente comum e posteriormente com água purificada. Depois são secas com ar comprimido, de maneira a que toda a água residual seja removida. Por fim as peças são passadas com álcool isopropílico a 70%.

A lavagem das batedoras é executada com a válvula de descarga aberta, as quais se passam com água quente comum, de modo a remover-se a maior quantidade possível de produto. Com papel de limpeza embebido em álcool isopropílico a 70% passam-se todas as superfícies do equipamento. E posteriormente, são lavadas com papel de limpeza utilizando solução de detergente. São passadas com água quente comum e posteriormente com água purificada. Secar e por fim passar com papel de limpeza embebido em álcool isopropílico a 70%.

A limpeza das bombas consiste primeiro em fazer passar água quente sob pressão pelo seu interior, de forma a arrastar a maior quantidade possível de sujidade aderida. E depois, voltar a passar com água comum bem quente até destacar toda a sujidade nelas contida. Posteriormente as bombas e as mangueiras são passadas com solução de detergente no seu interior e exterior, e de seguida passadas com água purificada e secas com ar comprimido.

3.4. Métodos Analíticos

3.4.1. Ensaios de “recovery”

Equipamento

Um sistema de HPLC, da marca “Waters”, modelo 2695 da “Alliance”, equipado com uma bomba quaternária, um compartimento termostático para a coluna, um amostrador automático e um detetor de UV. E um computador com o “software Empower Pro” versão 1.0.

Reagentes

Todos os reagentes usados são de grau de pureza p.a. (pro-analysis).

3.4.1.1. “Recovery” de EDTA nos produtos A e B

Reagentes

Água destilada, solução de hidróxido de tetra-n-butilamónio 1M e solução de sulfato cúprico a 0,2%, a qual foi preparada através da dissolução de 3 g de sulfato cúprico num litro de água destilada.

Condições cromatográficas

A coluna usada foi uma “Waters μ Bondapack, C-18”, com partículas de 10 μ m de diâmetro; 3,9 mm de diâmetro interno e 30 cm de comprimento, com uma fase móvel composta por solução de hidróxido de tetra-n-butilamónio 1M e água destilada, mistura esta ajustada a um pH de 7,5; e metanol (10:910:80 v/v/v).

A razão de fluxo usada foi de 1,8 mL/minuto e o comprimento de onda de 254 nm. 10 μ L foi o volume de injeção usado e 30°C a temperatura da coluna.

Preparação da fase móvel

A fase móvel consistiu em adicionar 10 mL de solução de hidróxido de tetra-n-butilamónio 1M a 910 mL de água destilada. De seguida foi ajustada a um pH de 7,5 com ácido fosfórico, misturada com 80 mL de metanol e desgaseificada num banho de ultrassons durante 20 minutos.

Preparação da solução padrão de EDTA

Foram pesadas 150,3 mg de EDTA, cuja pureza é de 99%, que foram transferidas para um balão volumétrico de 50 mL. Dissolveu-se e diluiu-se para este volume com a solução de sulfato cúprico a 0,2%.

A concentração resultante desta solução padrão de EDTA foi de 2,97594 mg/mL.

Preparação da solução amostra

A solução amostra foi preparada através da mistura de 150,2 mg e 150,5 mg de EDTA com 150,3 mg de produto A e B, respetivamente. Estas misturas foram dissolvidas em solução de sulfato cúprico a 0,2% e diluídas para 50 mL com esta última.

A quantidade de EDTA que se deveria recuperar no produto A é de 2,97396 mg/mL e no produto B é de 2,9799 mg/mL.

Preparação da solução do branco

Pesaram-se 150,5 mg e 150,0 mg de produto A e B, respetivamente, que foram dissolvidos em solução de sulfato cúprico a 0,2% e diluídos para 50 mL da mesma solução ^[19, 20].

3.4.1.2. “Recovery” da substância ativa 1 e 2 no produto B

Reagentes

Água destilada, isooctano, acetonitrilo e metanol para HPLC.

Condições cromatográficas

A coluna usada foi uma “*Waters μBondapack, C-18*”, com partículas de 10 μm de diâmetro; 3,9 mm de diâmetro interno e 30 cm de comprimento, com uma fase móvel composta por solução tampão de fosfato de amónio dibásico (pH a 5,2) e acetonitrilo (53:47 v/v).

A razão de fluxo usada foi de 2,0 mL/minuto e o comprimento de onda de 254 nm. 15 μL foi o volume de injeção usado e 30°C a temperatura da coluna.

Preparação da fase móvel

A solução tampão foi preparada com 6,6089 g de fosfato de amónio dibásico e diluída para 1000 mL com água destilada. Posteriormente, foi ajustada a um pH de 5,2 com ácido fosfórico.

A fase móvel consistiu na mistura de 530 mL de solução tampão com 470 mL de acetonitrilo, a qual foi desgaseificada num banho de ultrassons durante 10 minutos.

Preparação das soluções padrão das substâncias ativas 1, 2 e final

A solução padrão da substância ativa 1 foi preparada através da pesagem de 42,2 mg desta substância, cujo valor de pureza é de 99,3%; a qual foi dissolvida em metanol e diluída para um volume de 50 mL com o mesmo solvente. De seguida foi retirado 1 mL desta solução que foi diluído para 100 mL com metanol.

A preparação da solução padrão da substância ativa 2 consistiu na pesagem de 45,3 mg desta substância que apresenta um grau de pureza de 99,8%. Foi dissolvida em metanol e diluída para 50 mL com o mesmo solvente.

A solução padrão final foi preparada através da mistura de 2 mL de substância ativa 1, 2 mL de substância ativa 2, 6 mL de metanol e 10 mL de isooctano. De seguida foi agitada e a fase inferior foi a usada como solução a injetar no cromatógrafo.

A concentração resultante da solução padrão final foi de $8,3809 \times 10^{-4}$ mg/mL para a substância ativa 1 e de $9,04188 \times 10^{-2}$ mg/mL para a substância ativa 2.

Preparação das soluções amostra das substâncias ativas 1 e 2

Para a preparação da solução amostra da substância ativa 1 misturaram-se 10,2 mg desta substância com 11,9362 g de produto B, e adicionou-se a esta mistura 50 mL de metanol.

Para a preparação da solução amostra da substância ativa 2 misturaram-se 20,3 mg desta substância com 0,2205 g de produto B, e adicionou-se a esta mistura 10 mL de metanol.

Ambas as soluções amostra foram aquecidas em banho de água a 60 °C por 10 minutos, tendo sido agitadas de 3 em 3 minutos. Foram retiradas do banho e agitadas mecanicamente até atingirem a temperatura ambiente. De seguida, retiraram-se 5 mL de cada solução e adicionaram-se 5 mL de isooctano a ambas as soluções, foram agitadas e a fase inferior foi a usada como solução a injetar no cromatógrafo.

A quantidade de substância ativa 1 e 2 que se deveria recuperar no produto B é de 0,101286 mg/mL e de 1,01297 mg/mL, respetivamente.

Preparação das soluções do branco

Pesaram-se 11,9488 g e 0,2253 g de produto B, para a preparação das soluções do branco dos ensaios de “*recovery*” das substâncias ativas 1 e 2, respetivamente. À primeira solução adicionaram-se 50 mL de metanol e à segunda 10 mL.

Posteriormente, estas soluções foram tratadas do mesmo modo que as soluções amostra.

De forma a identificarem-se os tempos de retenção dos picos das substâncias ativas 1 e 2, e da substância ativa 3 do produto B, realizou-se um teste de identificação destas substâncias, antes de se proceder ao ensaio de “*recovery*”.

Como tal, utilizaram-se as soluções padrão das substâncias ativas 1 e 2 descritas atrás, e prepararam-se adicionalmente as seguintes soluções padrão e do branco:

Preparação da solução padrão da substância ativa 3

A preparação da solução padrão da substância ativa 3 consistiu na pesagem de 9,8 mg desta substância, a qual foi dissolvida em metanol e diluída para 50 mL com o mesmo solvente.

Preparação da solução padrão final

A solução padrão final foi preparada através da mistura de 2 mL de substância ativa 1, 2 mL de substância ativa 2 e 2 mL de substância ativa 3, 4 mL de metanol e 10 mL de isooctano. De seguida foi agitada e a fase inferior foi a usada como solução a injetar no cromatógrafo.

Preparação da solução do branco

Misturaram-se 5 mL de metanol com 5 mL de isooctano, agitou-se e a fase inferior foi a usada como solução a injetar no cromatógrafo.

Foram injectadas individualmente as soluções padrão das substâncias ativas 1, 2 e 3, a solução padrão final e a solução do branco.

3.4.1.3. “Recovery” da substância ativa 3 no produto A

Reagentes

Água destilada, ácido fosfórico, tetrahidrofurano e acetonitrilo para HPLC.

Condições cromatográficas

A coluna usada foi uma “*Ultrasphere ODS Beckman*”, com partículas de 5 µm de diâmetro; 4,6 mm de diâmetro interno e 250 mm de comprimento, com uma fase móvel composta por água destilada e acetonitrilo nas proporções de 55 para 45 (v/v). A razão de fluxo usada foi de 1,5 mL/minuto, o comprimento de onda de deteção UV de 254 nm e 100 µL o volume de injeção. A temperatura do forno pode variar entre 20°C - 30°C.

Preparação da fase móvel

A fase móvel consistiu em adicionar 1100 mL de água destilada com 900 mL de acetonitrilo, a qual foi desgaseificada num banho de ultrassons durante 15 minutos.

Preparação da solução diluente

Misturaram-se 1000 mL de água destilada com 1 mL de ácido fosfórico, e a 650 mL desta solução adicionaram-se 350 mL de acetonitrilo. De seguida foi desgaseificada num banho de ultrassons durante 15 minutos

Preparação da solução padrão de substância ativa 3

Foram pesadas 25,0 mg de substância ativa 3, cuja pureza é de 99,9%, que foram transferidas para um balão volumétrico de 50 mL. Dissolveu-se e diluiu-se para este volume com tetrahidrofurano. Retiraram-se 10 mL desta solução e diluiu-se para 25 mL com o mesmo solvente. A 5 mL da solução anterior foram adicionados 5 mL de tetrahidrofurano e 30 mL de solução diluente. Desta solução foi retirado 1 mL que foi diluído para 100 mL com solução diluente, e desta foram retirados 10 mL para um balão volumétrico de 100 mL, que foi ajustado para este volume com o mesmo solvente.

A concentração resultante desta solução padrão de substância ativa 3 foi de $2,4975 \times 10^{-5}$ mg/mL.

Preparação da solução amostra

A solução amostra foi preparada através da mistura de 20,2 mg de substância ativa 3 com 20,0417 g de produto A. A esta mistura adicionaram-se 20 mL de tetrahidrofurano e depois 60 mL de solução diluente.

A quantidade de substância ativa 3 que se deveria recuperar no produto A é de 0,2522475 mg/mL.

Preparação da solução do branco

Pesaram-se 20,0513 g de produto A, ao qual foram adicionados 20 mL de tetrahidrofurano seguidos de 60 mL de solução diluente.

3.4.2. Otimização das condições cromatográficas dos métodos analíticos

Obtidos os resultados dos ensaios de “recovery” descritos anteriormente, verificou-se que havia a necessidade de ajustar as condições cromatográficas dos métodos analíticos do agente de limpeza e de ambos os produtos, por forma a obter-se valores do fator de tailing e de resolução de acordo com as especificações estabelecidas pela FE (Farmacopeia Europeia) ^[18]:

- Fator de tailing – 0,8 a 1,5
- Fator de resolução - $\geq 1,5$

3.4.2.1. “Recovery” de EDTA nos produtos A e B

Na tabela seguinte apresentam-se as condições cromatográficas usadas na otimização do método analítico e o correspondente fator de tailing obtido nos vários testes realizados do ensaio de “recovery” de EDTA nos produtos A e B.

As figuras apresentadas ilustram os cromatogramas obtidos para cada teste realizado.

Tabela 4: Condições cromatográficas usadas na otimização do método analítico do ensaio de “recovery” de EDTA nos produtos A e B

Testes	Fluxo (mL/min)	Temperatura da coluna (°C)	Fator de Tailing do padrão	Nº da figura
Início	1,8	30	1,2	5
Teste 1	1,8	33	1,7	6
Teste 2	2,0	33	1,6	7
Teste 3	2,0	31	1,5	8
Teste 4	2,0	30	1,4	9

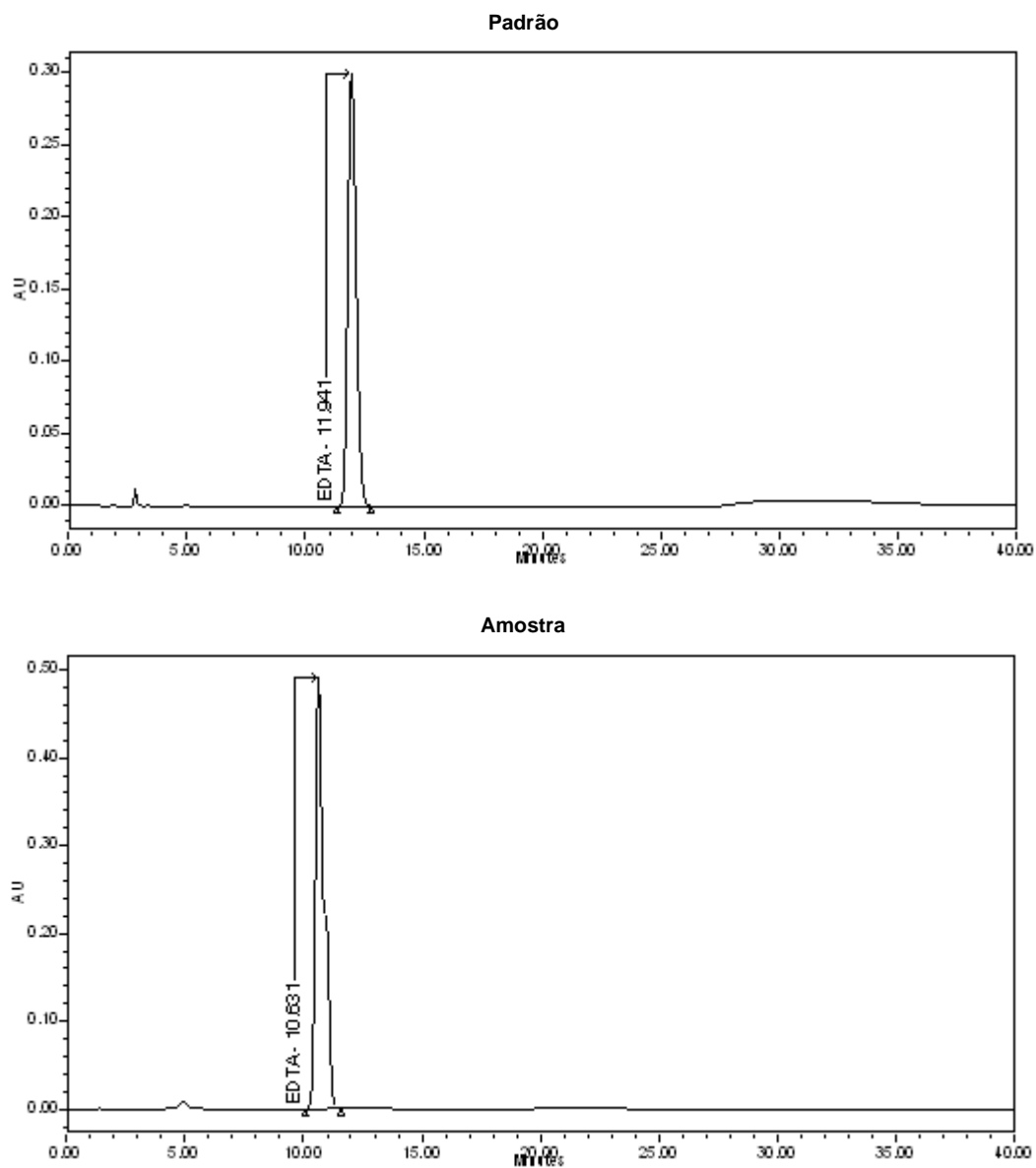


Figura 5: Cromatogramas obtidos de padrão e amostra na otimização do método analítico do ensaio de "recovery" de EDTA nos produtos A e B (início)

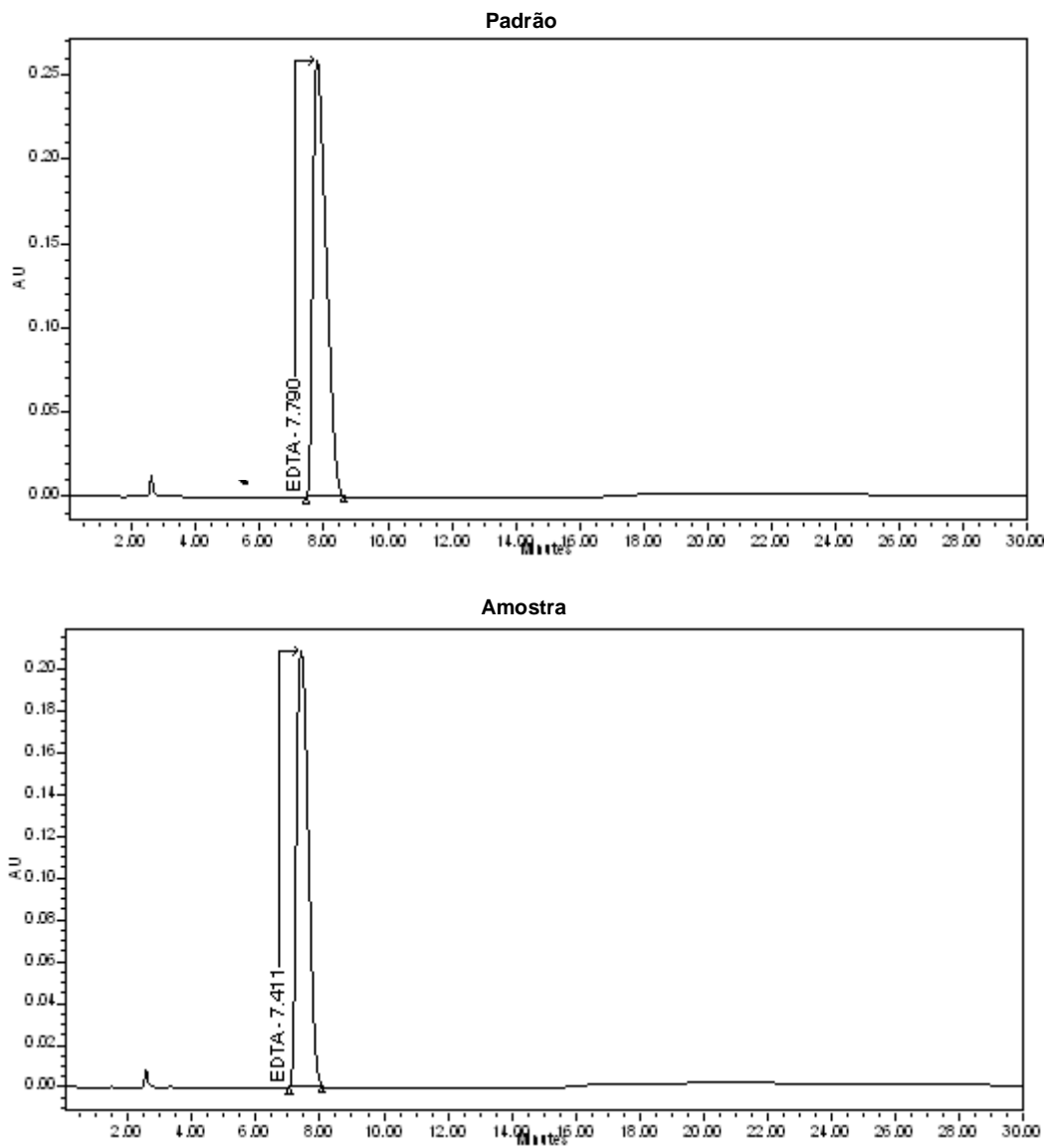


Figura 6: Cromatogramas obtidos de padrão e amostra na otimização do método analítico do ensaio de "recovery" de EDTA nos produtos A e B (Teste 1)

Padrão

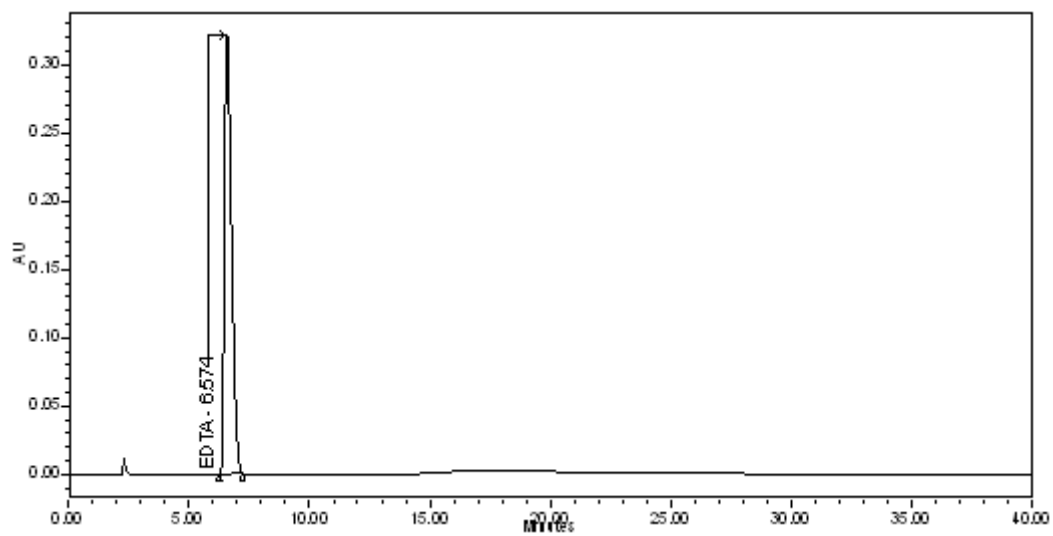


Figura 7: Cromatograma obtido do padrão na otimização do método analítico do ensaio de "recovery" de EDTA nos produtos A e B (Teste 2)

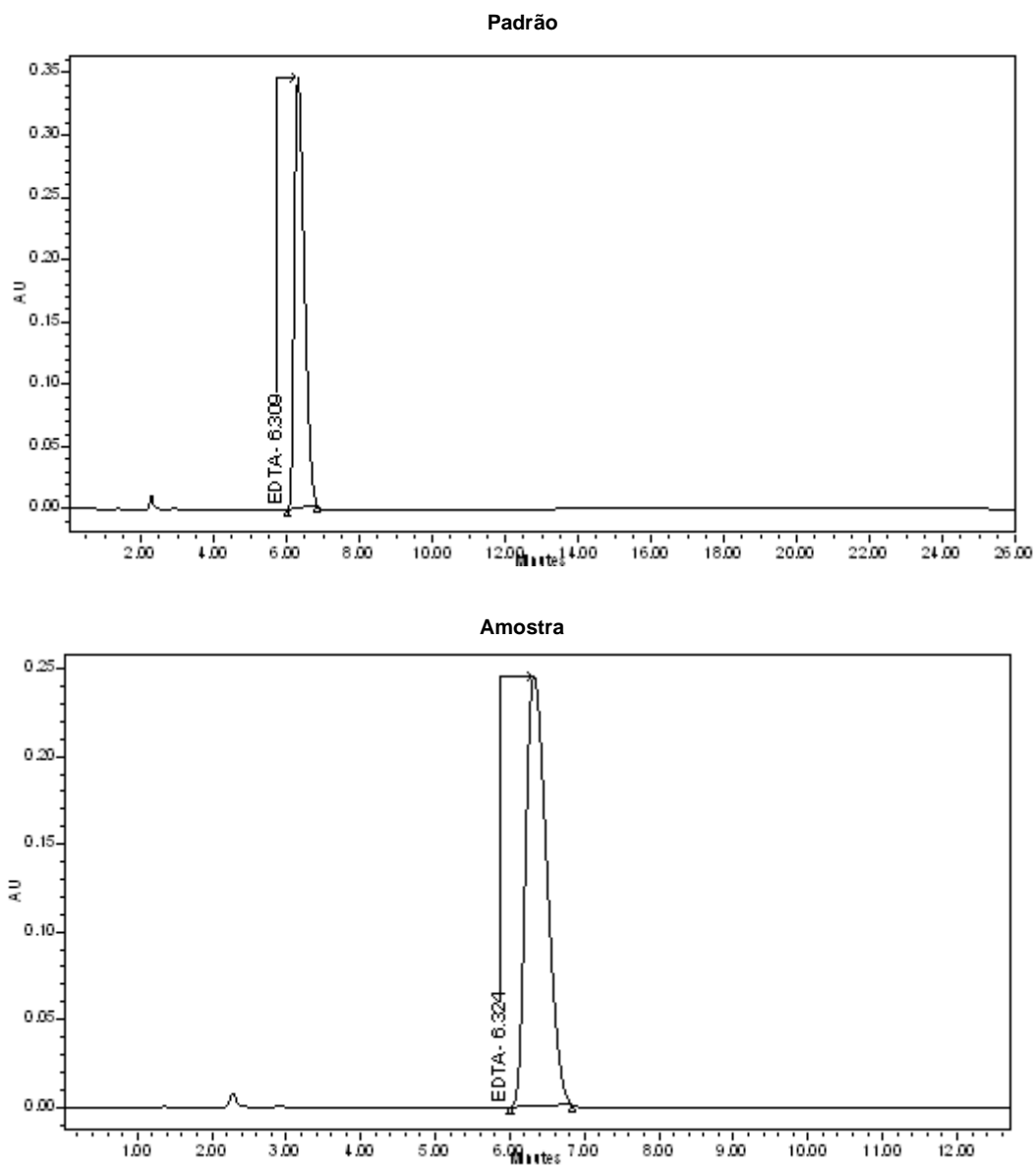


Figura 8: Cromatogramas obtidos de padrão e amostra na otimização do método analítico do ensaio de “*recovery*” de EDTA nos produtos A e B (Teste 3)

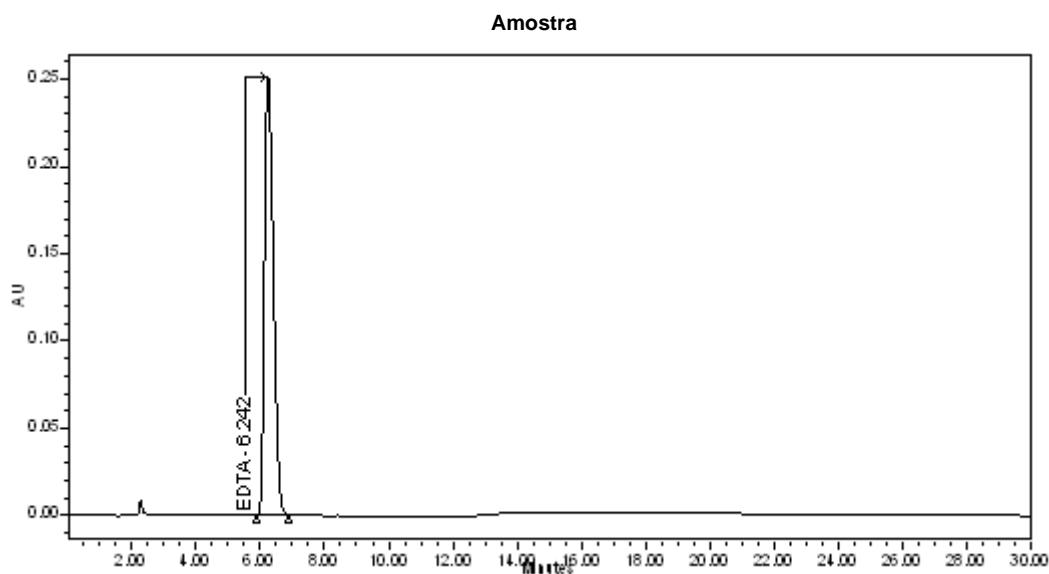


Figura 9: Cromatograma obtido de amostra na optimização do método analítico do ensaio de “recovery” de EDTA nos produtos A e B (Teste 4)

Da otimização efetuada ao método analítico do ensaio de “recovery” de EDTA nos produtos A e B, pode-se concluir que o fluxo foi o único parâmetro alterado de 1,8 para 2,0 mL/minuto. Esta nova condição cromatográfica foi assim utilizada no ensaio de “recovery” de EDTA nos produtos A e B, e nos ensaios de determinação da quantidade de EDTA existente nos produtos A e B da validação de limpeza [19, 20].

3.4.2.2. “Recovery” das substâncias ativas 1 e 2 no produto B

Ensaio de identificação das substâncias ativas 1, 2 e 3

Como referido atrás, antes de se proceder ao ensaio de “recovery” da substância ativa 1, efetuou-se um ensaio de identificação das substâncias ativas 1, 2 e 3.

Neste ensaio, a sequência de injeções consistiu em uma injeção de solução padrão final, uma injeção de cada solução padrão das substâncias ativas 1, 2 e 3 e por fim em uma injeção de solução do branco.

A figura seguinte apresenta os cromatogramas obtidos para cada uma destas soluções.

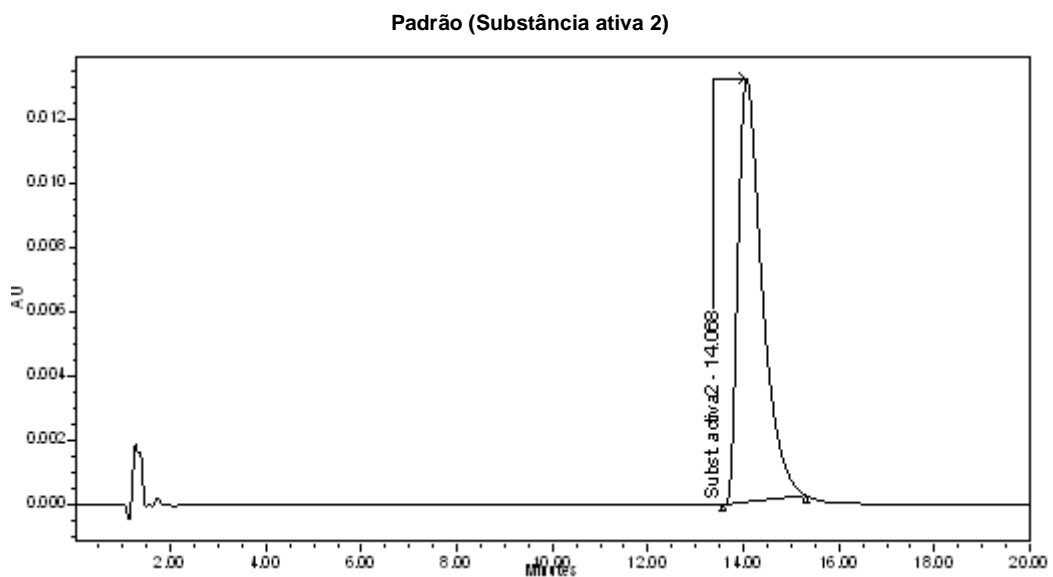
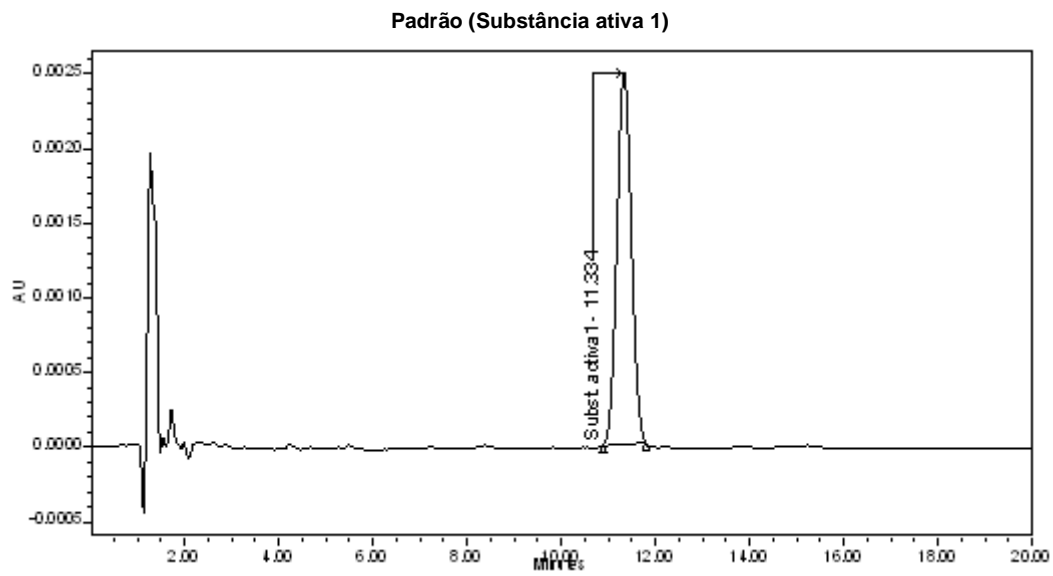


Figura 10: Cromatogramas obtidos dos padrões das substâncias ativas 1, 2, e 3, do padrão final e do branco, no ensaio de identificação das mesmas substâncias ativas (cont.)

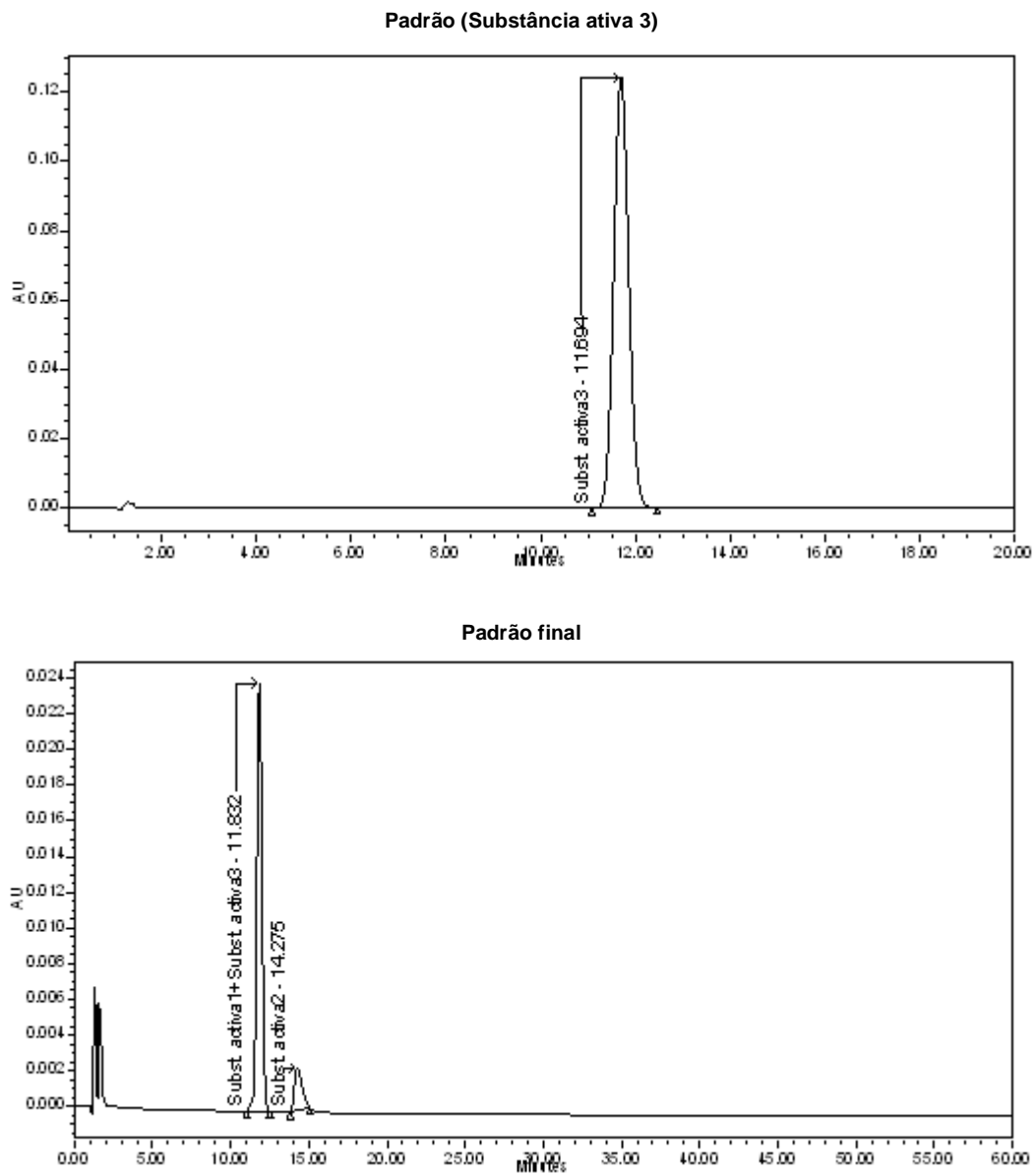


Figura 10.a): Cromatogramas obtidos dos padrões das substâncias ativas 1, 2, e 3, do padrão final e do branco, no ensaio de identificação das mesmas substâncias ativas (cont.)

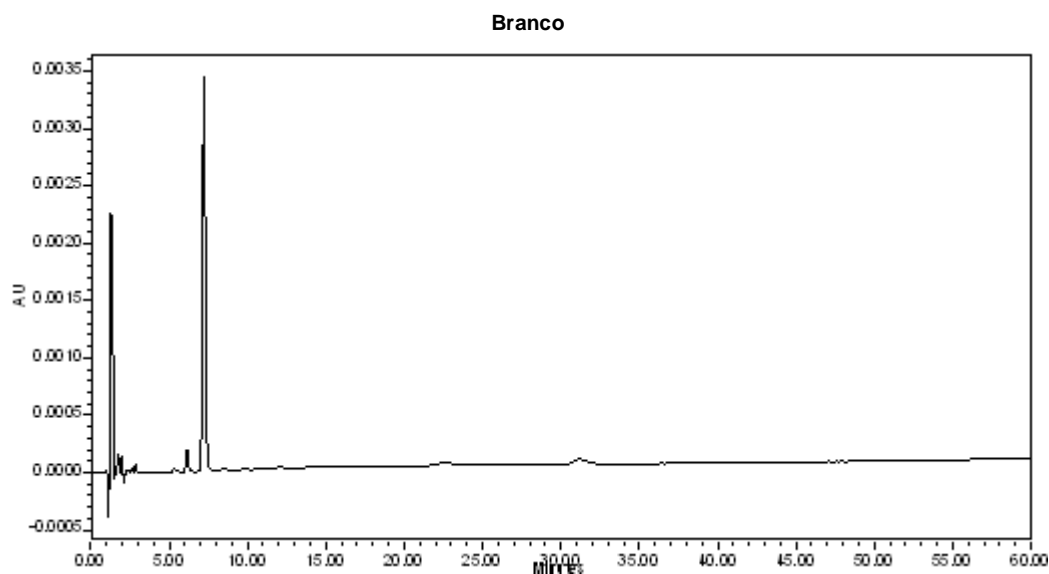


Figura 10.b): Cromatogramas obtidos dos padrões das substâncias ativas 1, 2, e 3, do padrão final e do branco, no ensaio de identificação das mesmas substâncias ativas

Os tempos de retenção obtidos para os picos das substâncias ativas 1, 2 e 3 são apresentados por ordem crescente na tabela que se segue.

Tabela 5: Tempos de retenção das substâncias ativas 1, 2 e 3

Tempos de Retenção	Substâncias ativas
11,334	Substância ativa 1
11,694	Substância ativa 3
14,068	Substância ativa 2

Verificou-se que a ordem de saída dos picos das substâncias ativas é a apresentada na tabela anterior, e observado o cromatograma do padrão final, que é necessário otimizar o método analítico, uma vez que os picos das substâncias ativas 1 e 3 se apresentam sobrepostos.

As condições cromatográficas usadas neste ensaio encontram-se descritas na tabela 6 que a seguir se apresenta, como o início* da otimização do método analítico.

Optimização do método analítico

Na tabela abaixo apresenta-se as condições cromatográficas usadas na otimização do método analítico do ensaio de “*recovery*” das substâncias ativas 1 e 2 no produto B. O padrão final, padrão este que contém as três substâncias ativas foi a solução injectada com vista à optimização deste método de análise.

As figuras apresentadas ilustram os cromatogramas obtidos para cada teste realizado.

Tabela 6: Condições cromatográficas usadas na otimização do método analítico do ensaio de “*recovery*” das substâncias ativas 1 e 2 no produto B

Testes	Fluxo (mL/min)	Temperatura da coluna (°C)	Fase móvel (Tampão/ACN)	Nº da figura
Início*	2,0	30	53/47	10
Teste 1	1,8	30	53/47	11
Teste 2	2,0	28	53/47	12
Teste 3	2,0	25	53/47	13
Teste 4	1,6	25	53/47	14
Teste 5	2,0	25	58/47	15
Teste 6	1,8	25	68/47	16
Teste 7	1,6	25	63/47	17

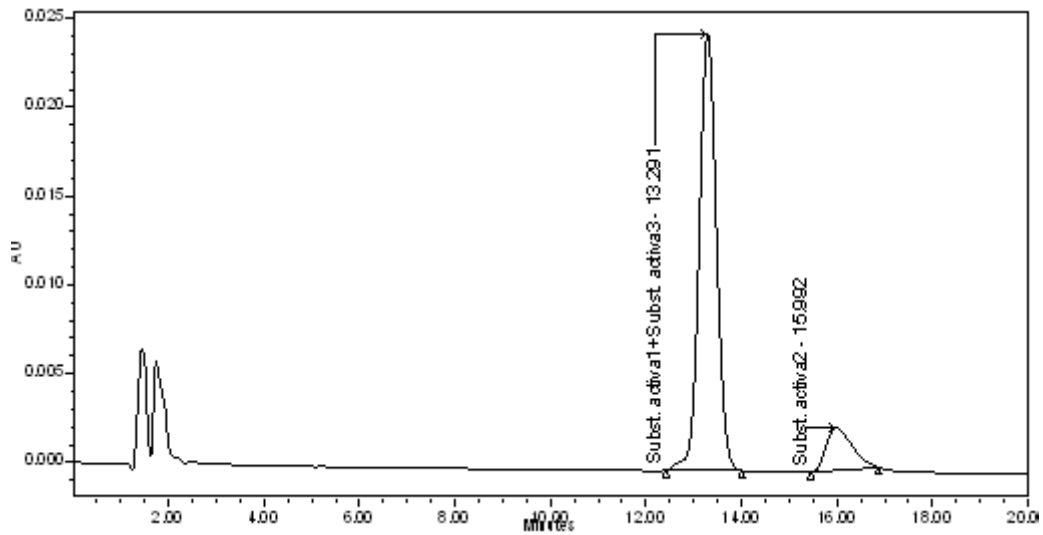


Figura 11: Cromatograma obtido de padrão final na otimização do método analítico do ensaio de "recovery" das substâncias ativas 1 e 2 no produto B (Teste 1)

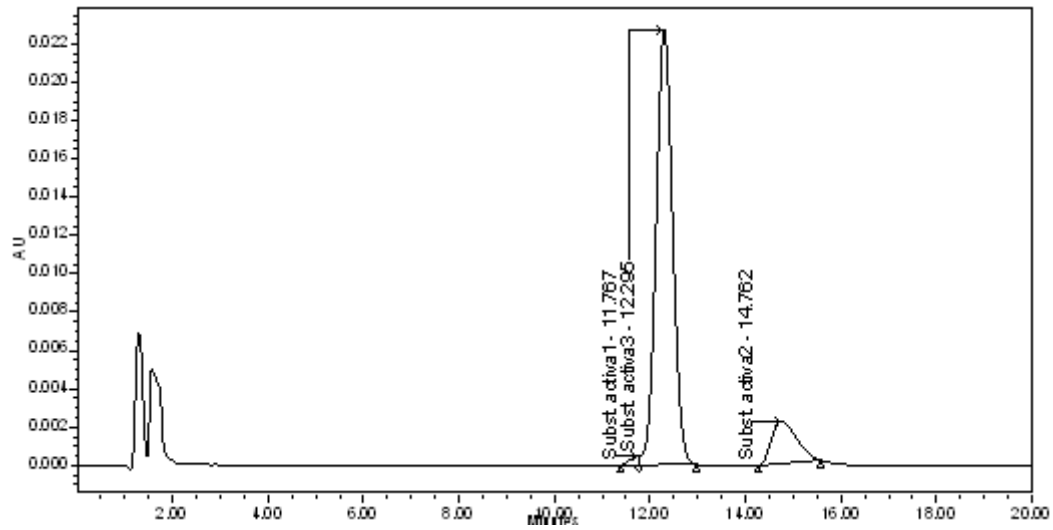


Figura 12: Cromatograma obtido de padrão final na otimização do método analítico do ensaio de "recovery" das substâncias ativas 1 e 2 no produto B (Teste 2)

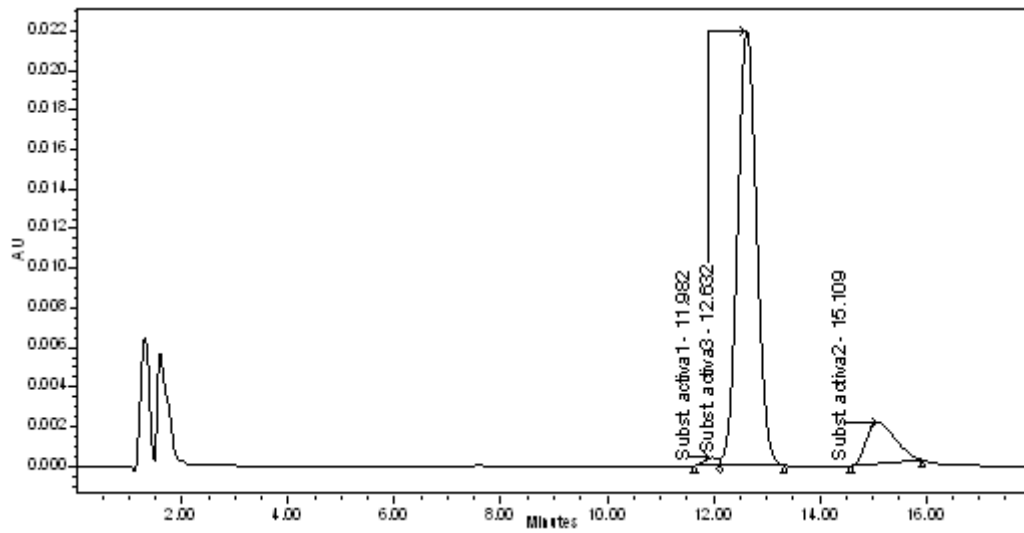


Figura 13: Cromatograma obtido de padrão final na otimização do método analítico do ensaio de "recovery" das substâncias ativas 1 e 2 no produto B (Teste 3)

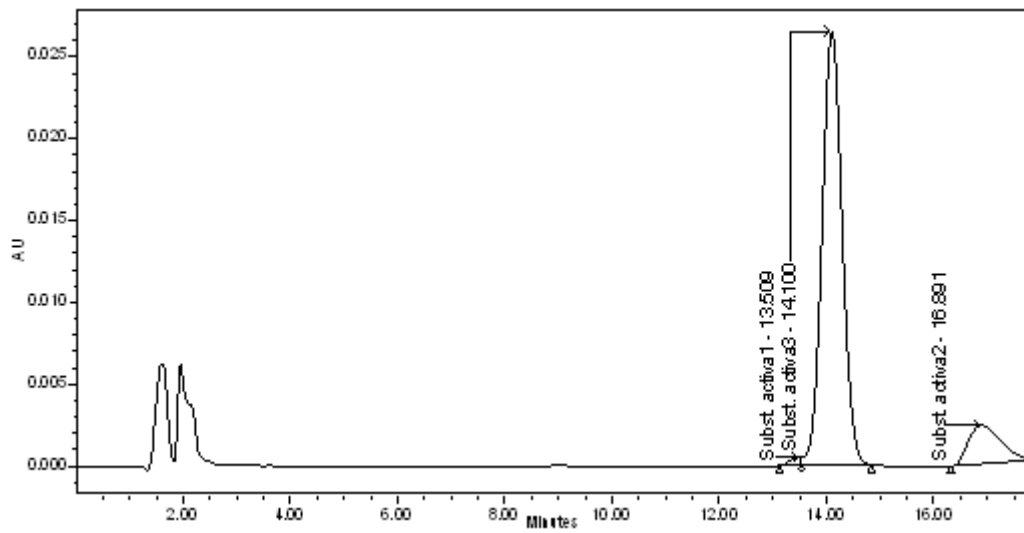


Figura 14: Cromatograma obtido de padrão final na otimização do método analítico do ensaio de "recovery" das substâncias ativas 1 e 2 no produto B (Teste 4)

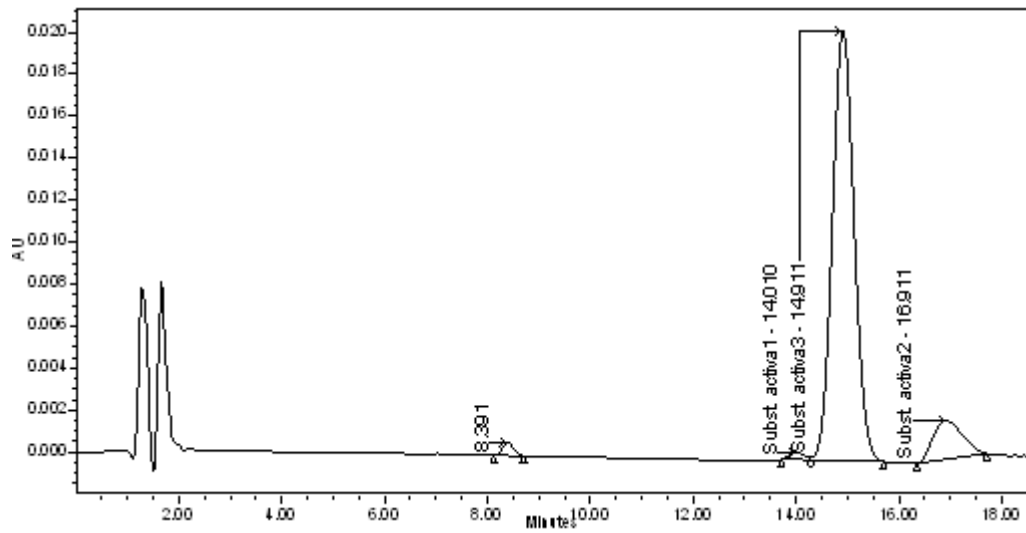


Figura 15: Cromatograma obtido de padrão final na otimização do método analítico do ensaio de "recovery" das substâncias ativas 1 e 2 no produto B (Teste 5)

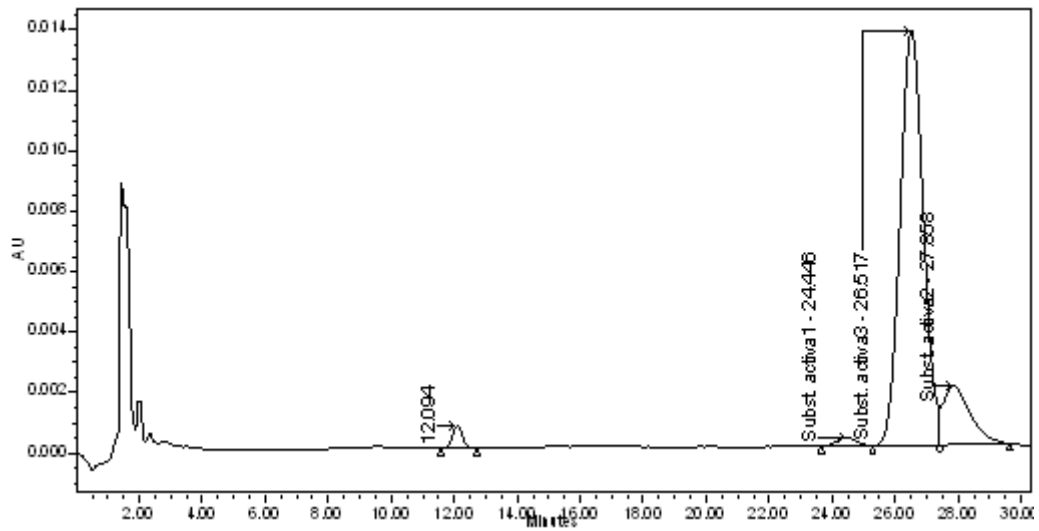


Figura 16: Cromatograma obtido de padrão final na otimização do método analítico do ensaio de "recovery" das substâncias ativas 1 e 2 no produto B (Teste 6)

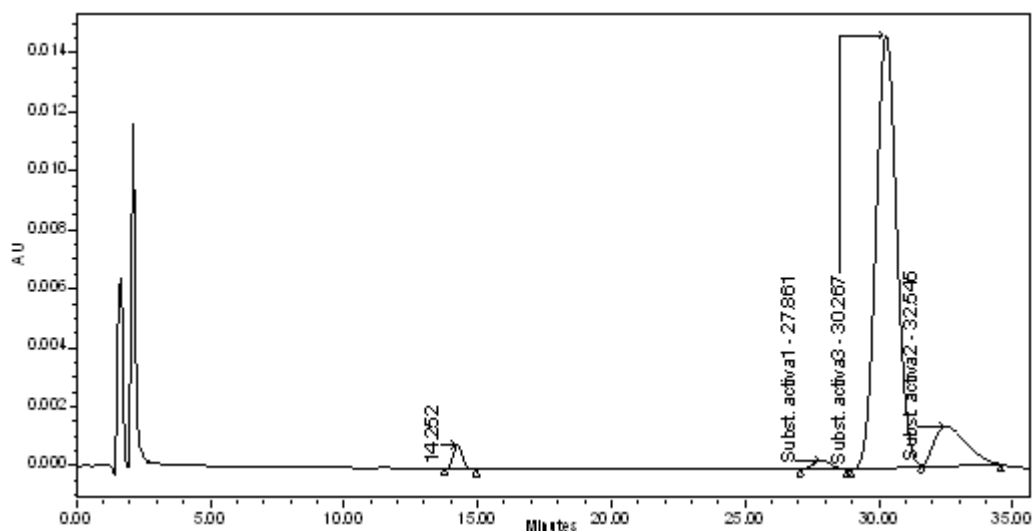


Figura 17: Cromatograma obtido de padrão final na otimização do método analítico do ensaio de “*recovery*” das substâncias ativas 1 e 2 no produto B (Teste 7)

Da otimização efetuada ao método analítico do ensaio de “*recovery*” das substâncias ativas 1 e 2 no produto B, verifica-se que os três parâmetros, fluxo, temperatura e as proporções de fase móvel foram alterados de 2,0 para 1,6 mL/minuto, de 30°C para 25°C e de 53/47 (v/v) para 63/47 (v/v), respectivamente. Estas novas condições cromatográficas foram assim utilizadas no ensaio de “*recovery*” das substâncias ativas 1 e 2 no produto B, e nos ensaios de determinação da quantidade das mesmas substâncias existente no produto B da validação de limpeza.

3.4.2.3. “*Recovery*” da substância ativa 3 no produto A

Na tabela abaixo apresenta-se as condições cromatográficas usadas na otimização do método analítico do ensaio de “*recovery*” da substância ativa 3 no produto A.

As figuras apresentadas ilustram os cromatogramas obtidos para cada teste realizado.

Tabela 7: Condições cromatográficas usadas na otimização do método analítico do ensaio de “*recovery*” da substância ativa 3 no produto A

Testes	Fluxo (mL/min)	Temperatura da coluna (°C)	Fase móvel (Água/ACN)	Coluna	Nº da figura
Início	1,5	27	55/45	Ultrasphere ODS Beckman	18
Teste 1	1,2	25	55/45	Ultrasphere ODS Beckman	19
Teste 2	1,0	25	100/50	Ultrasphere ODS Beckman	20
Teste 3	1,2	25	90/45	Ultrasphere ODS Beckman	21
Teste 4	1,5	30	90/45	Waters μ Bondapack, C18	22
Teste 5	1,5	28	90/45	Waters μ Bondapack, C18 (nova)	23
Teste 6	1,6	30	90/45	Waters μ Bondapack, C18 (nova)	24
Teste 7	1,6	32	90/45	Waters μ Bondapack, C18 (nova)	25
Teste 8	1,7	33	90/45	Waters μ Bondapack, C18 (nova)	26

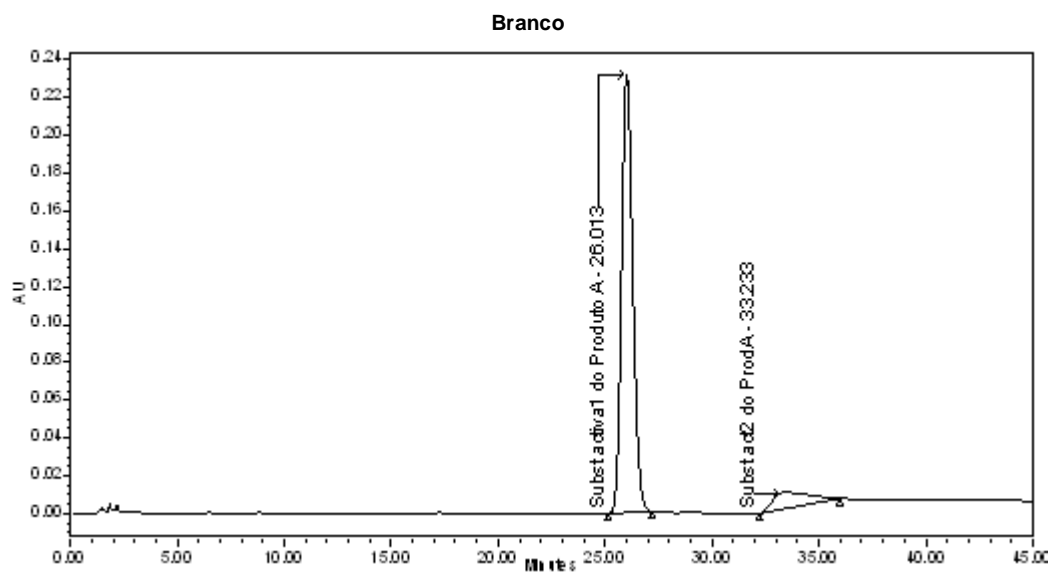
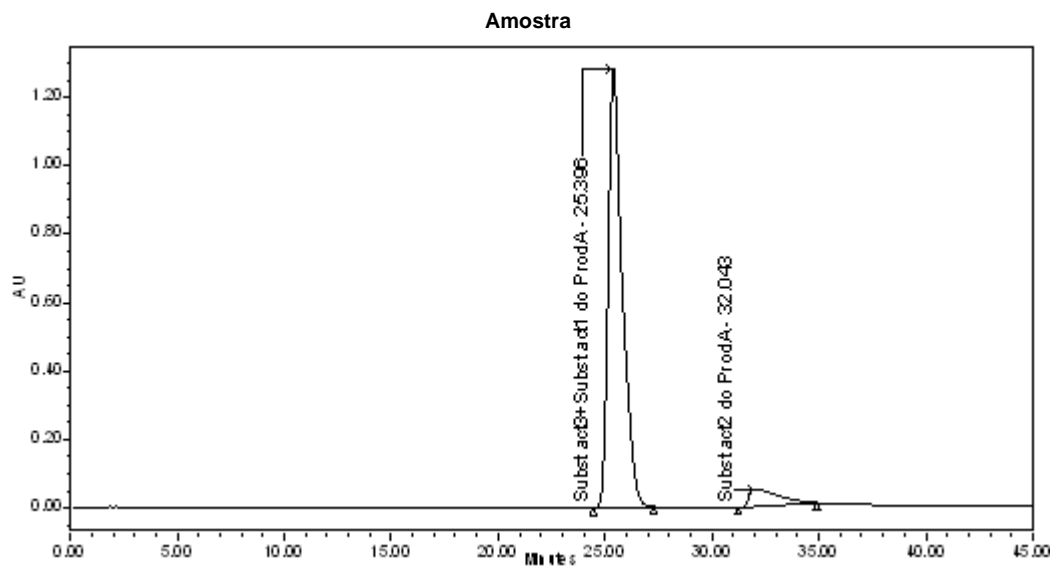


Figura 18: Cromatogramas obtidos de amostra e branco na otimização do método analítico do ensaio de “recovery” da substância ativa 3 no produto A (Início)

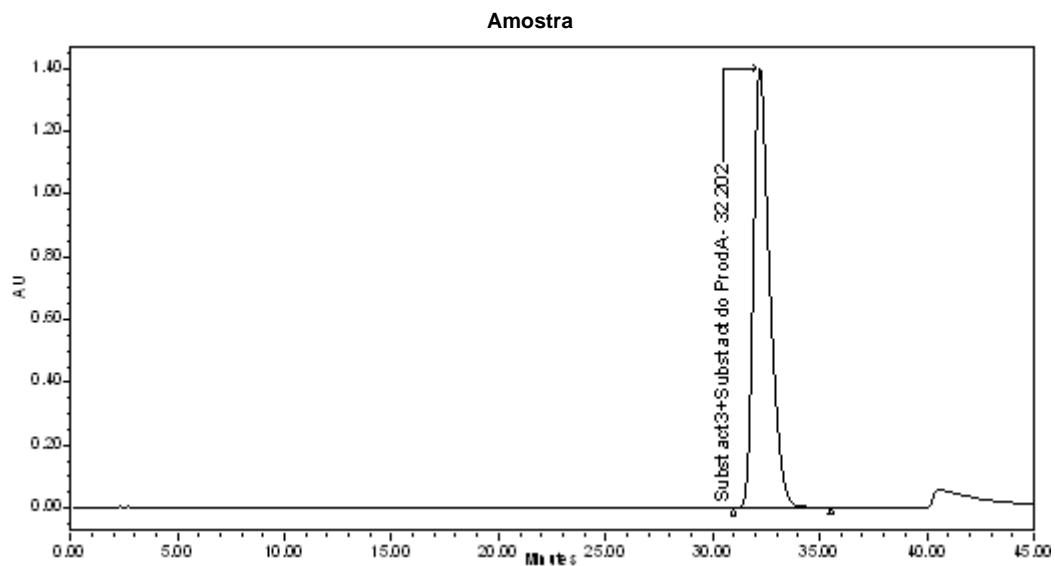


Figura 19: Cromatograma obtido de amostra na otimização do método analítico do ensaio de "recovery" da substância ativa 3 no produto A (Teste 1)

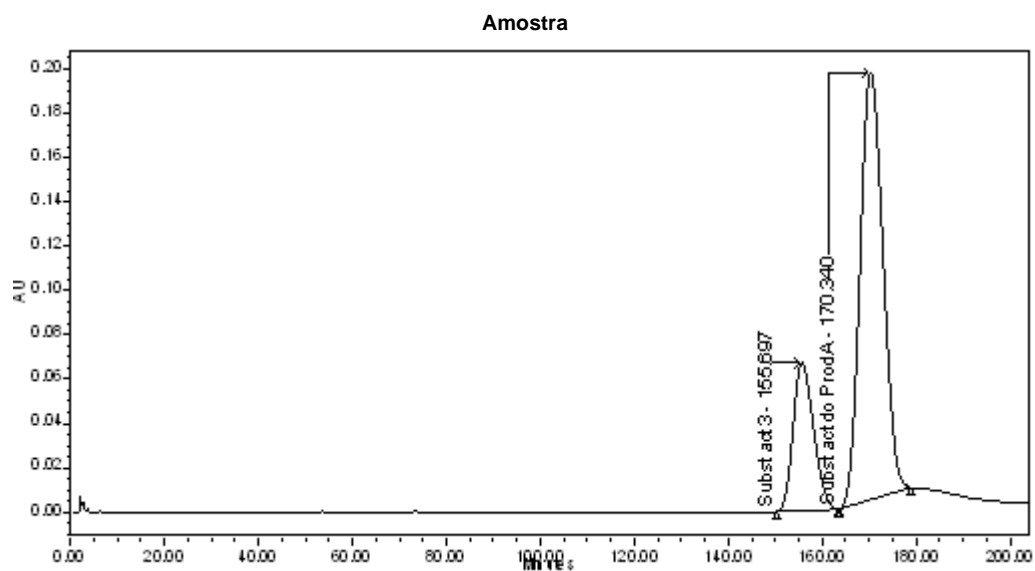


Figura 20: Cromatograma obtido de amostra na otimização do método analítico do ensaio de "recovery" da substância ativa 3 no produto A (Teste 2)

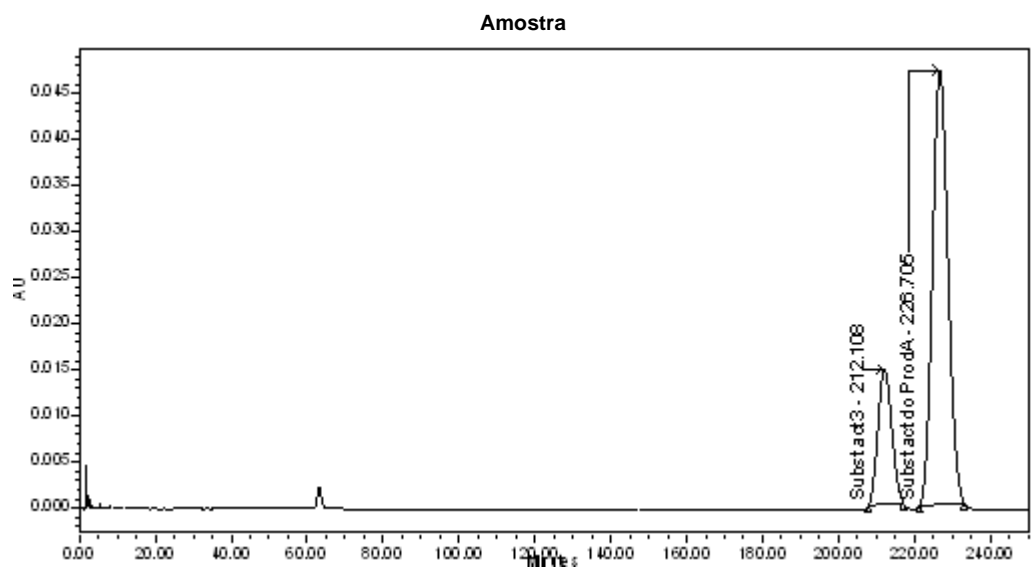


Figura 21: Cromatograma obtido de amostra na otimização do método analítico do ensaio de “recovery” da substância ativa 3 no produto A (Teste 3)

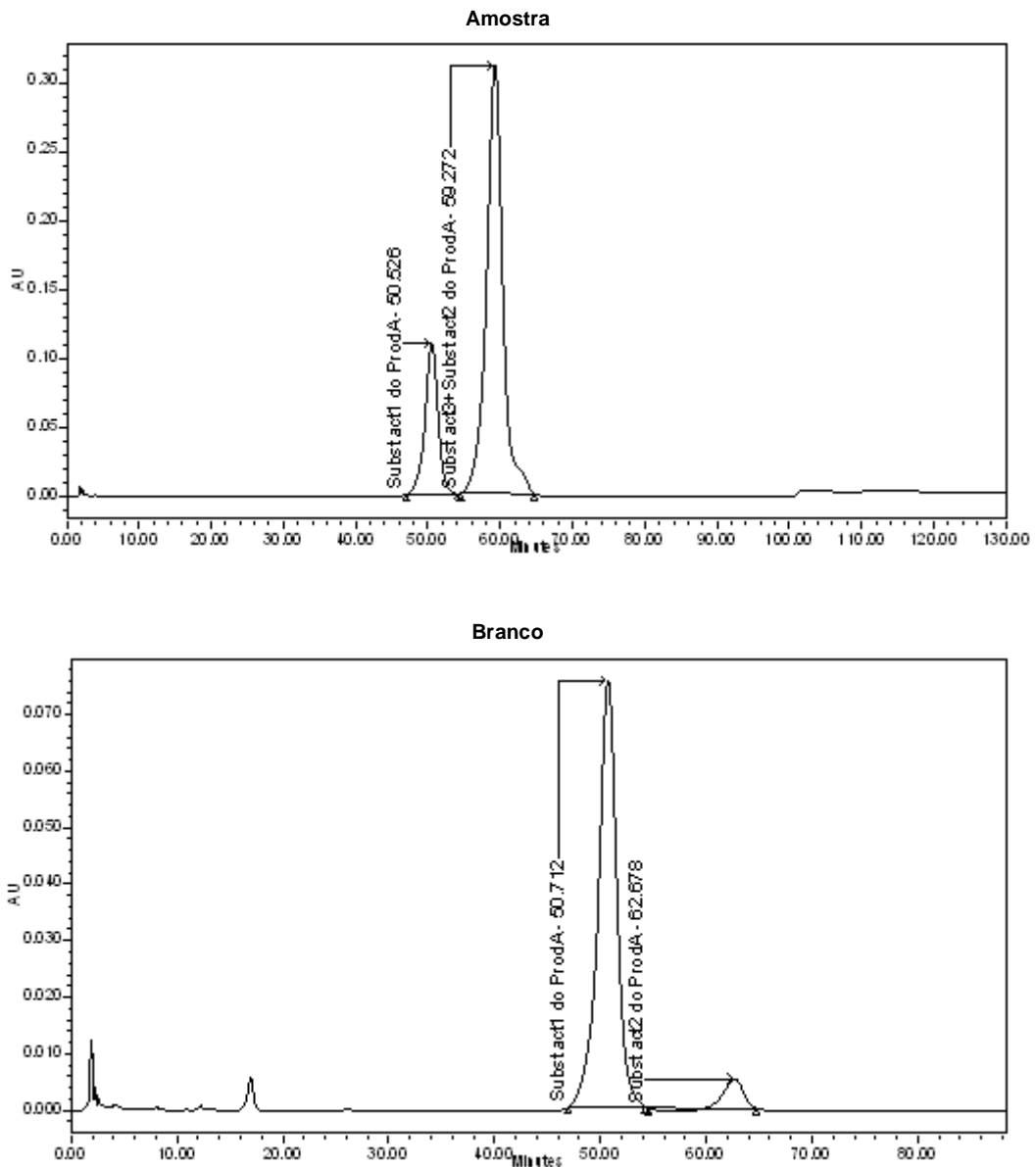


Figura 22: Cromatogramas obtidos de amostra e branco na otimização do método analítico do ensaio de "recovery" da substância ativa 3 no produto A (Teste 4)

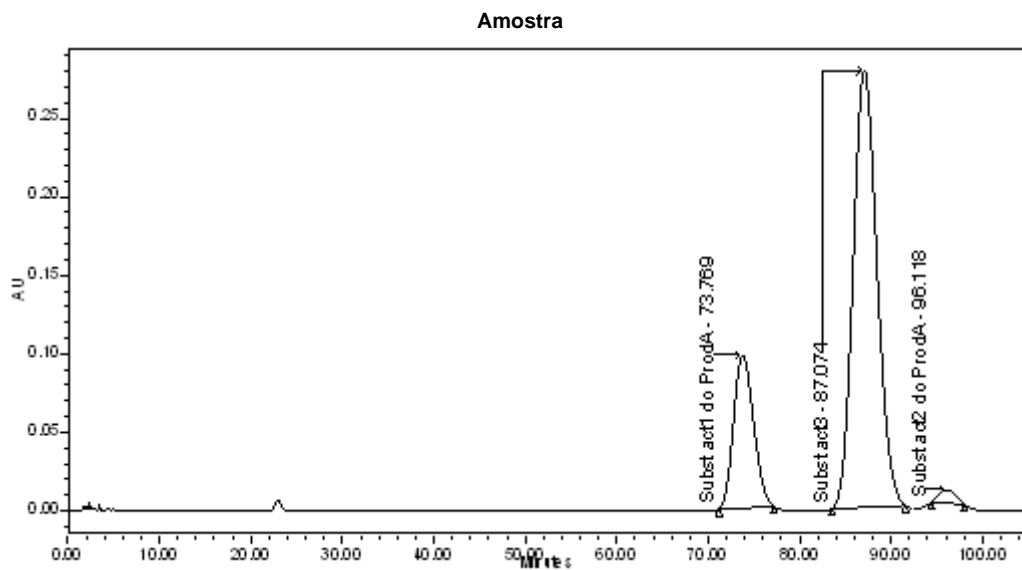


Figura 23: Cromatograma obtido de amostra na otimização do método analítico do ensaio de "recovery" da substância ativa 3 no produto A (Teste 5)

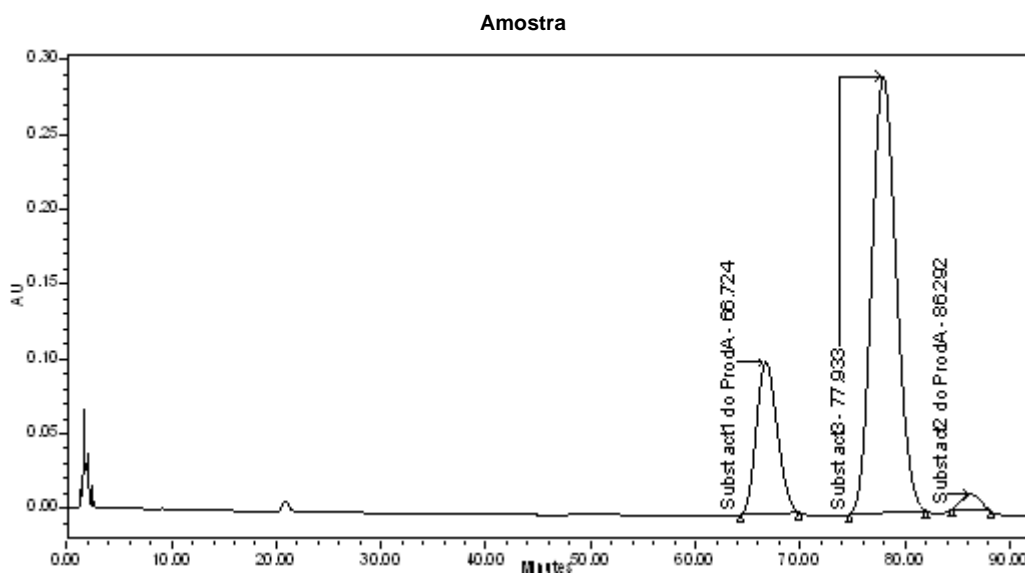


Figura 24: Cromatograma obtido de amostra na otimização do método analítico do ensaio de "recovery" da substância ativa 3 no produto A (Teste 6)

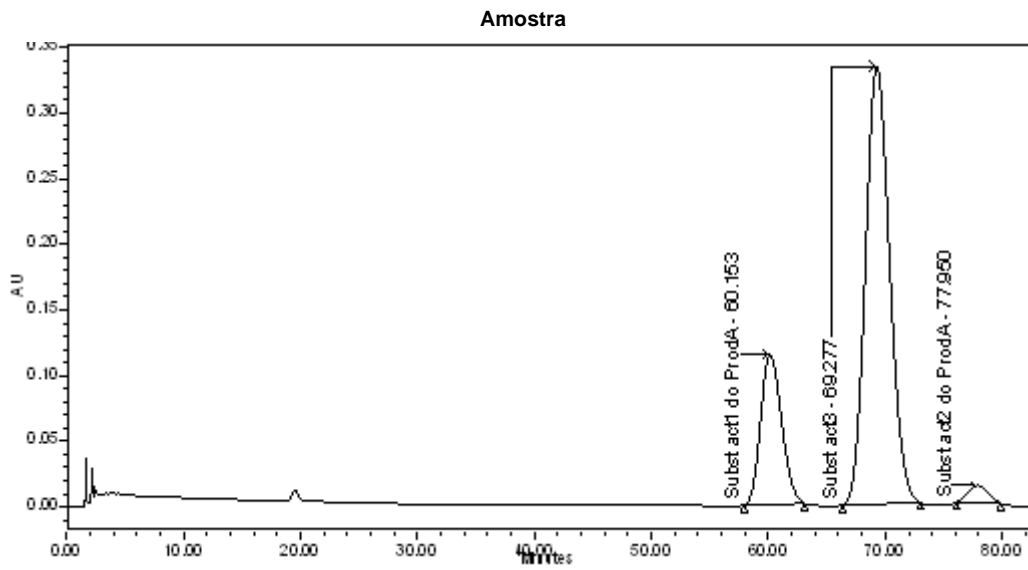


Figura 25: Cromatograma obtido de amostra na otimização do método analítico do ensaio de “recovery” da substância ativa 3 no produto A (Teste 7)

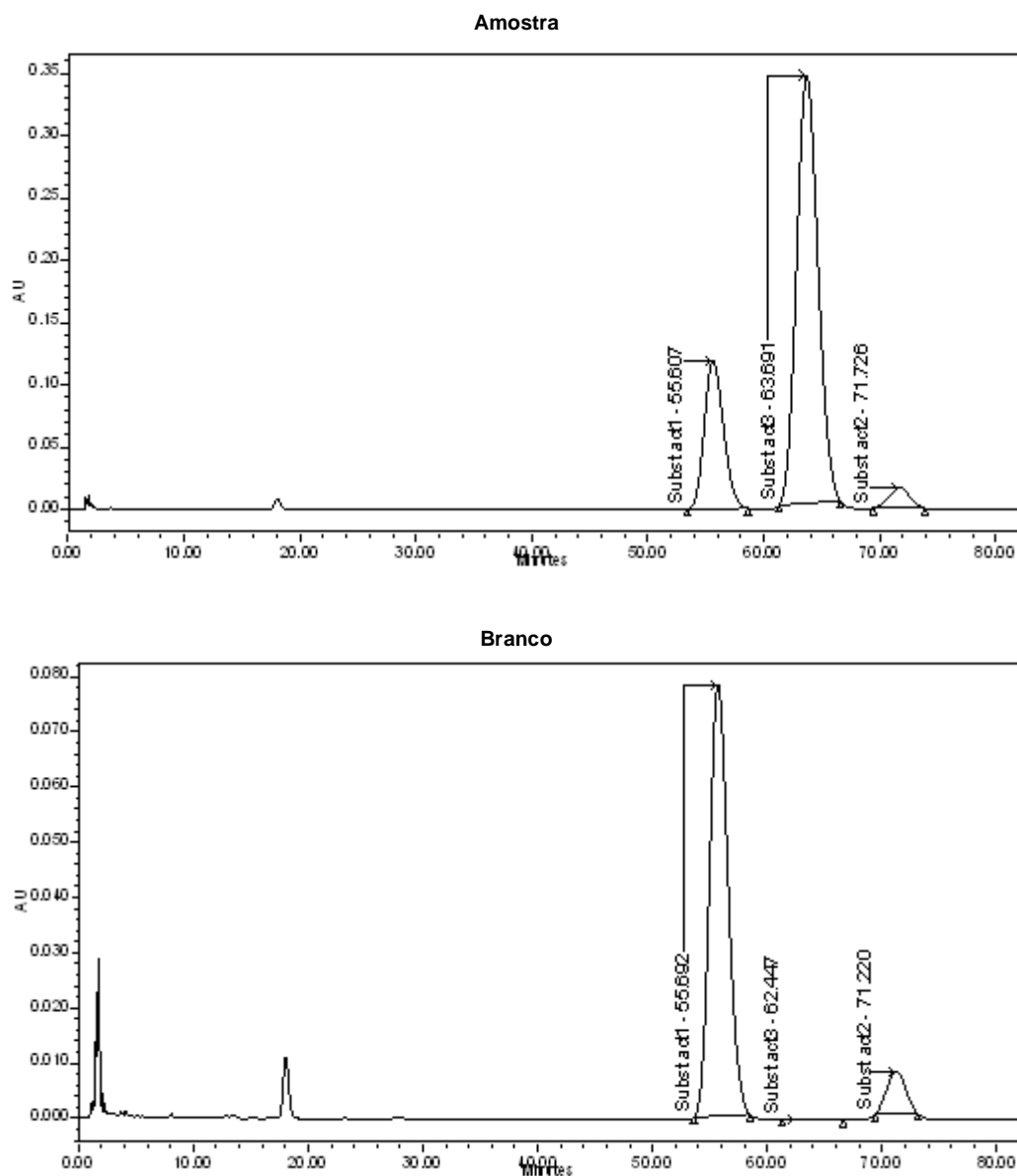


Figura 26: Cromatogramas obtidos de amostra e branco na otimização do método analítico do ensaio de “recovery” da substância ativa 3 no produto A (Teste 8)

No teste 8 obtiveram-se valores de factor de tailing de 1,2; 1,0 e 1,1 para as substâncias ativas 1, 2 e 3, respectivamente. Os fatores de resolução obtidos foram de 2,5 entre a substância ativa 1 e 3 e de 2,4 entre a substância ativa 3 e 2.

Da otimização efetuada ao método analítico do ensaio de “recovery” da substância ativa 3 no produto A, verifica-se que os quatro parâmetros, fluxo, temperatura, proporções da fase móvel e a coluna foram alterados. Estas novas condições cromatográficas foram assim utilizadas no ensaio de “recovery” da substância ativa 3 no produto A, e no ensaio de determinação da quantidade da mesma substância existente no produto A da validação de limpeza.

3.4.3. Ensaios de determinação da quantidade de resíduos contaminantes

3.4.3.1. Determinação da quantidade de EDTA nos produtos A e B

Reagentes

Água destilada, solução de hidróxido de tetra-n-butilamónio 1M e solução de sulfato cúprico a 0,2%, a qual foi preparada através da dissolução de 3 g de sulfato cúprico num litro de água destilada.

Condições cromatográficas

A coluna usada foi uma “*Waters μ Bondapak, C-18*”, com partículas de 10 μ m de diâmetro; 3,9 mm de diâmetro interno e 30 cm de comprimento, com uma fase móvel composta por solução de hidróxido de tetra-n-butilamónio 1M e água destilada, mistura esta ajustada a um pH de 7,5; e metanol (10:910:80 v/v/v).

A razão de fluxo usada foi de 2,0 mL/minuto e o comprimento de onda de 254 nm. 10 μ L foi o volume de injeção usado e 30°C a temperatura da coluna.

Preparação da fase móvel

A fase móvel consistiu em adicionar 10 mL de solução de hidróxido de tetra-n-butilamónio 1M a 910 mL de água destilada. De seguida foi ajustada a um pH de 7,5 com ácido fosfórico, misturada com 80 mL de metanol e desgaseificada num banho de ultrassons durante 20 minutos.

Preparação da solução padrão interno

Pesaram-se 201,7 mg de ácido nitrilotriacético para um balão volumétrico de 100 mL, o qual foi dissolvido em água destilada e diluído para este volume com o mesmo solvente.

Preparação da solução padrão de EDTA

Foram pesadas 151,0 mg de EDTA, cuja pureza é de 99%, que foram transferidas para um balão volumétrico de 50 mL. Dissolveu-se e diluiu-se para este volume com a solução de sulfato cúprico a 0,2%. Retiraram-se 5 mL desta solução para um balão volumétrico de 25 mL, adicionaram-se 5 mL da solução padrão interno e diluiu-se para este volume com a solução de sulfato cúprico a 0,2%.

A concentração resultante desta solução padrão de EDTA foi de 14,949 mg/g.

Preparação das soluções amostra

Na determinação da quantidade de EDTA no produto A as soluções amostra foram preparadas através da pesagem de 1,0117 g; 1,0318 g e 1,0232 g de produto A dos lotes 2, 4 e 6, respectivamente, às quais se adicionaram 10 mL de solução de sulfato cúprico a 0,2%. De cada solução retirou-se 1 mL para balões volumétricos de 25 mL, adicionaram-se 5 mL da solução padrão interno e diluiu-se para este volume com a solução de sulfato cúprico a 0,2%.

Na tabela de amostras foram inseridos os fatores de multiplicação de 1/1,0117; 1/1,0318 e 1/1,0232 das soluções amostra dos lotes 2, 4 e 6 de produto A, respectivamente.

Na determinação da quantidade de EDTA no produto B as soluções amostra foram preparadas através da pesagem de 1,0313 g; 1,0452 g e 1,0046 g de produto A dos lotes 3, 5 e 7, respectivamente, às quais se adicionaram 10 mL de solução de sulfato cúprico a 0,2%. De cada solução retirou-se 1 mL para balões volumétricos de 25 mL, adicionaram-se 5 mL da solução padrão interno e diluiu-se para este volume com a solução de sulfato cúprico a 0,2%.

Na tabela de amostras foram inseridos os fatores de multiplicação de 1/1,0313; 1/1,0452 e 1/1,0046 das soluções amostra dos lotes 3, 5 e 7 de produto B, respectivamente.

Preparação da solução do branco

Solução de sulfato cúprico a 0,2% ^[19, 20].

3.4.3.2. Determinação da quantidade de substância ativa 1 e 2 no produto B

Reagentes

Água destilada, isooctano, acetonitrilo e metanol para HPLC.

Condições cromatográficas

A coluna usada foi uma "Waters μ Bondapack, C-18", com partículas de 10 μ m de diâmetro; 3,9 mm de diâmetro interno e 30 cm de comprimento, com uma fase móvel composta por solução tampão de fosfato de amônio dibásico (pH a 5,2) e acetonitrilo (61:47 v/v).

A razão de fluxo usada foi de 1,6 mL/minuto e o comprimento de onda de 254 nm. 15 μ L foi o volume de injeção usado e 25°C a temperatura da coluna.

Preparação da fase móvel

A solução tampão foi preparada com 6,6089 g de fosfato de amónio dibásico e diluída para 1000 mL com água destilada. Posteriormente, foi ajustada a um pH de 5,2 com ácido fosfórico.

A fase móvel consistiu na mistura de 610 mL de solução tampão com 470 mL de acetonitrilo, a qual foi desgaseificada num banho de ultrassons durante 10 minutos.

Preparação das soluções padrão das substâncias ativas 1, 2 e final

A solução padrão da substância ativa 1 foi preparada através da pesagem de 42,2 mg desta substância, cujo valor de pureza é de 99,3%; a qual foi dissolvida em metanol e diluída para um volume de 50 mL com o mesmo solvente. De seguida foi retirado 1 mL desta solução que foi diluído para 100 mL com metanol.

A preparação da solução padrão da substância ativa 2 consistiu na pesagem de 45,1 mg desta substância que apresenta um grau de pureza de 99,8%. Foi dissolvida em metanol e diluída para 50 mL com o mesmo solvente.

A solução padrão final foi preparada através da mistura de 2 mL de substância ativa 1, 2 mL de substância ativa 2, 6 mL de metanol e 10 mL de isooctano. De seguida foi agitada e a fase inferior foi a usada como solução a injetar no cromatógrafo.

A concentração resultante da solução padrão final foi de $1,676184 \times 10^{-2}$ mg/g para a substância ativa 1 e de 1,800392 mg/g para a substância ativa 2.

Preparação das soluções amostra

As soluções amostra foram preparadas através da pesagem de 1,0007 g; 1,0458 g e 1,0004 g de produto B dos lotes 3, 5 e 7, respetivamente, as quais foram diluídas para 10 mL de metanol. De seguida foram aquecidas em banho de água a 60 °C por 10 minutos, tendo sido agitadas de 3 em 3 minutos. Foram retiradas do banho e agitadas mecanicamente até atingirem a temperatura ambiente. Posteriormente, retiraram-se 5 mL de cada solução e adicionaram-se 5 mL de isooctano, foram agitadas e a fase inferior foi a usada como solução a injetar no cromatógrafo.

Na tabela de amostras foram inseridos os fatores de multiplicação de 1/1,0007; 1/1,0458 e 1/1,0004 das soluções amostra dos lotes 3, 5 e 7 de produto B, respetivamente.

Preparação da solução do branco

Misturaram-se 5 mL de metanol com 5 mL de isooctano, agitou-se e a fase inferior foi usada como solução a injetar no cromatógrafo.

3.4.3.3. Determinação da quantidade de substância ativa 3 no produto A

Reagentes

Água destilada, ácido fosfórico, tetrahydrofurano e acetonitrilo para HPLC.

Condições cromatográficas

A coluna usada foi uma "Waters μ Bondapack, C-18", com partículas de 10 μ m de diâmetro; 3,9 mm de diâmetro interno e 30 cm de comprimento, com uma fase móvel composta por água destilada e acetonitrilo nas proporções de 90 para 45 (v/v).

A razão de fluxo usada foi de 1,7 mL/minuto, o comprimento de onda de detecção UV de 254 nm e 100 μ L o volume de injeção. A temperatura do forno usada foi de 33°C.

Preparação da fase móvel

A fase móvel consistiu em adicionar 900 mL de água destilada com 450 mL de acetonitrilo, a qual foi desgaseificada num banho de ultrassons durante 15 minutos.

Preparação da solução diluente

Misturaram-se 1000 mL de água destilada com 1 mL de ácido fosfórico, e a 650 mL desta solução adicionaram-se 350 mL de acetonitrilo. De seguida foi desgaseificada num banho de ultrassons durante 15 minutos.

Preparação da solução padrão de substância ativa 3

Foram pesadas 25,0 mg de substância ativa 3, cuja pureza é de 99,9%, que foram transferidas para um balão volumétrico de 50 mL. Dissolveu-se e diluiu-se para este volume com tetrahydrofurano. Retiraram-se 10 mL desta solução e diluiu-se para 25 mL com o mesmo solvente. A 5 mL da solução anterior foram adicionados 5 mL de tetrahydrofurano e 30 mL de solução diluente. Desta solução foi retirado 1 mL que foi diluído para 100 mL com solução diluente, e desta foram retirados 10 mL para um balão volumétrico de 100 mL, que foi ajustado para este volume com o mesmo solvente.

A concentração resultante desta solução padrão de substância ativa 3 foi de $2,4975 \times 10^{-5}$ mg/mL.

Preparação das soluções amostra

As soluções amostra foram preparadas através da pesagem de 1,0412 g; 1,0003 g e 1,0281 g de produto A dos lotes 2, 4 e 6, respectivamente, às quais se adicionaram 10 mL de tetrahidrofurano e depois 30 mL de solução diluente.

Na tabela de amostras foram inseridos os fatores de multiplicação de 1/1,0412; 1/1,0003 e 1/1,0281 das soluções amostra dos lotes 2, 4 e 6 de produto A, respectivamente.

Preparação da solução do branco

Misturaram-se 10 mL de tetrahidrofurano com 30 mL de solução diluente.

3.5. Critérios de Aceitação

3.5.1. Agente de limpeza – EDTA

Inferior a 10 ppm no produto A e B ^[5].

3.5.2. Substâncias ativas 1 e 2 do produto A

Com base na dose terapêutica diária, o limite máximo a que este produto pode estar presente no produto B, é o calculado de acordo com a seguinte equação ^[17]:

$$\text{MACO} = \frac{\text{TDD}_{\text{antes}} \times \text{MBS}}{\text{SF} \times \text{TDD}_{\text{depois}}}$$

Em que:

MACO – Contaminação Máxima Permitida: montante transferido considerado aceitável do produto investigado ("antes")

TDD_{antes} - Dose terapêutica diária do produto investigado ("antes") (na mesma forma de dosagem do TDD_{depois})

TDD_{depois} - Dose terapêutica diária do produto seguinte ("depois")

MBS - Tamanho mínimo do lote do produto seguinte ("depois")

SF - Fator de segurança (normalmente é usado o valor de 1000 em cálculos baseados no TDD)

Considerou-se que:

TDD_{antes} – 3,8 g (Produto A)

TDD_{depois} – 3,8 g (Produto B)

MBS – 200 000 g (Produto B)

SF – 1000

Logo,

$$\text{MACO} = \frac{3,8 \times 200\,000}{1\,000 \times 3,8} = 200 \text{ g Produto A}$$

Com base nos valores de dosagem das substâncias ativas do produto A, obtém-se 128 mg para a substância ativa 1 e 2000 mg para a 2, como limites máximos permissíveis de resíduos destas substâncias no produto B. Uma vez que a determinação de resíduos contaminantes é feita numa grama de produto B, teremos como valores de especificação máximos, $6,4 \times 10^{-4}$ mg para a substância ativa 1 e $1,0 \times 10^{-2}$ mg para a substância ativa 2.

3.5.3. Substância ativa 3 do produto B

Com base na dose terapêutica diária, o limite máximo a que este produto pode estar presente no produto A, é o calculado de acordo com a seguinte equação ^[17]:

$$\text{MACO} = \frac{\text{TDD}_{\text{antes}} \times \text{MBS}}{\text{SF} \times \text{TDD}_{\text{depois}}}$$

Em que:

MACO – Contaminação Máxima Permitida: montante transferido considerado aceitável do produto investigado ("antes")

TDD_{antes} - Dose terapêutica diária do produto investigado ("antes") (na mesma forma de dosagem do TDD_{depois})

TDD_{depois} - Dose terapêutica diária do produto seguinte ("depois")

MBS - Tamanho mínimo do lote do produto seguinte ("depois")

SF - Fator de segurança (normalmente é usado o valor de 1000 em cálculos baseados no TDD)

Sendo que,

TDD_{antes} – 3,8 g (Produto B)

TDD_{depois} – 3,8 g (Produto A)

MBS – 220 000 g (Produto A)

SF – 1000

Logo,

$$\text{MACO} = \frac{3,8 \times 220\,000}{1\,000 \times 3,8} = 220 \text{ g Produto B}$$

Com base no valor de dosagem da substância ativa do produto B, obtém-se 220 mg para a substância ativa 3, como limite máximo permissível de resíduo desta substância no produto A. Uma vez que a determinação de resíduo contaminante é feita numa grama de produto A, teremos como valor de especificação máximo, $1,0 \times 10^{-3}$ mg para a substância ativa 3.

Na tabela que se segue, apresentam-se de forma resumida, os critérios de aceitação obtidos para todos os resíduos contaminantes:

Tabela 8: Critérios de aceitação dos resíduos contaminantes

Substância ativa	Critério de aceitação
EDTA	10 ppm
Substância ativa 1	$6,4 \times 10^{-4}$ mg/g
Substância ativa 2	$1,0 \times 10^{-2}$ mg/g
Substância ativa 3	$1,0 \times 10^{-3}$ mg/g

4. Apresentação e Tratamento de Resultados

4.1. Ensaio de “recovery”

Para os vários estudos de “recovery” realizados, apresentam-se os valores obtidos dos parâmetros (fator de tailing, fator de resolução e RSD (“*Relative standard deviation*”)) que demonstram a conformidade do sistema, e os resultados, em percentagem, de recuperação do EDTA e de cada substância ativa. São também apresentados os cromatogramas obtidos de padrão, da amostra e do branco dos vários ensaios de “recovery”.

4.1.1. “Recovery” de EDTA no produto A

No ensaio de “recovery” de EDTA no produto A, a sequência de injeções foi composta por seis injeções de solução padrão (padrões de calibração), duas de solução amostra seguidas de duas de solução padrão, e por fim uma injeção de solução do branco. O valor de calibração dos padrões de calibração foi de 2,97594 mg/mL.

Na tabela a seguir apresentam-se os valores obtidos para o fator de tailing do primeiro padrão de calibração e do RSD para os cinco padrões calibrados e para os sete padrões (cinco padrões de calibração mais os dois padrões finais).

Tabela 9: Resultados obtidos do fator de tailing e do RSD no ensaio de “recovery” de EDTA no produto A

	Fator de Tailing (0,8 – 1,5) ^[8]	RSD (5 padrões de calibração) (≤ 2,0 %) ^[8]	RSD (7 padrões) (≤ 2,0 %) ^[8]
Resultados	1,5	0,1	0,1

A figura 27 apresentada a seguir ilustra os cromatogramas obtidos do primeiro padrão de calibração, das duas injeções de amostra e do branco.

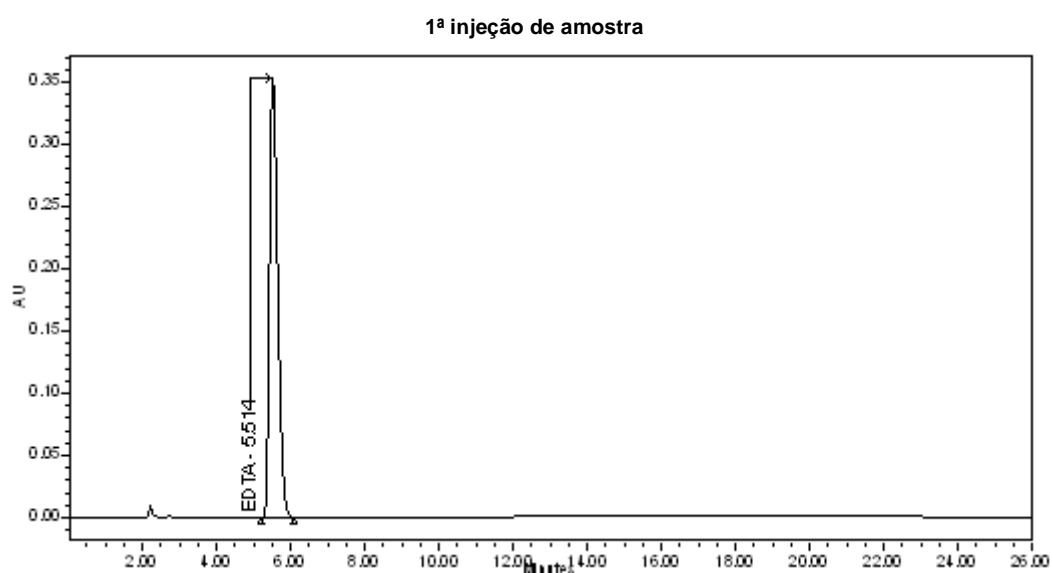
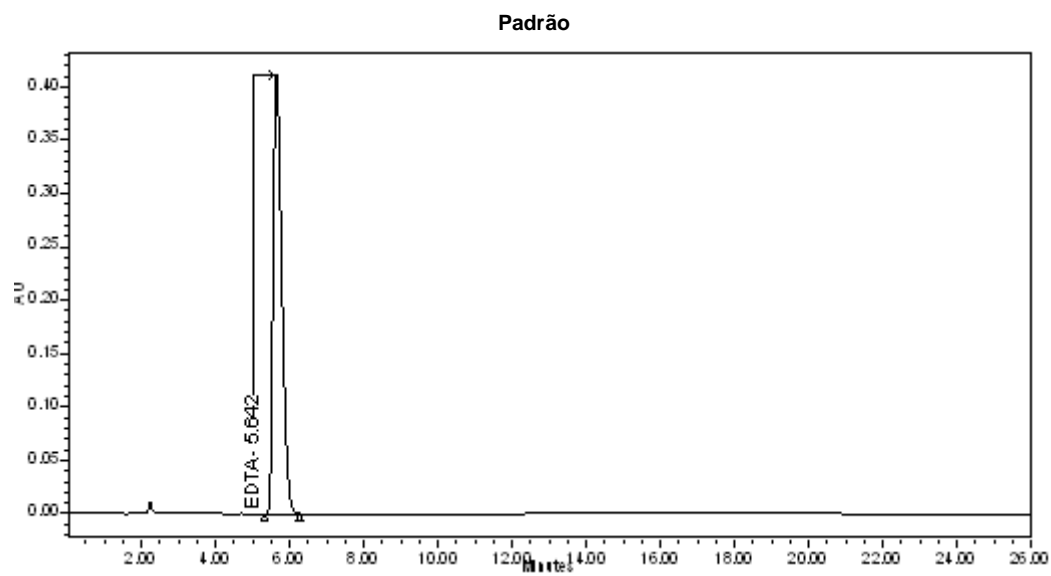


Figura 27: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de "recovery" de EDTA no produto A (cont.)

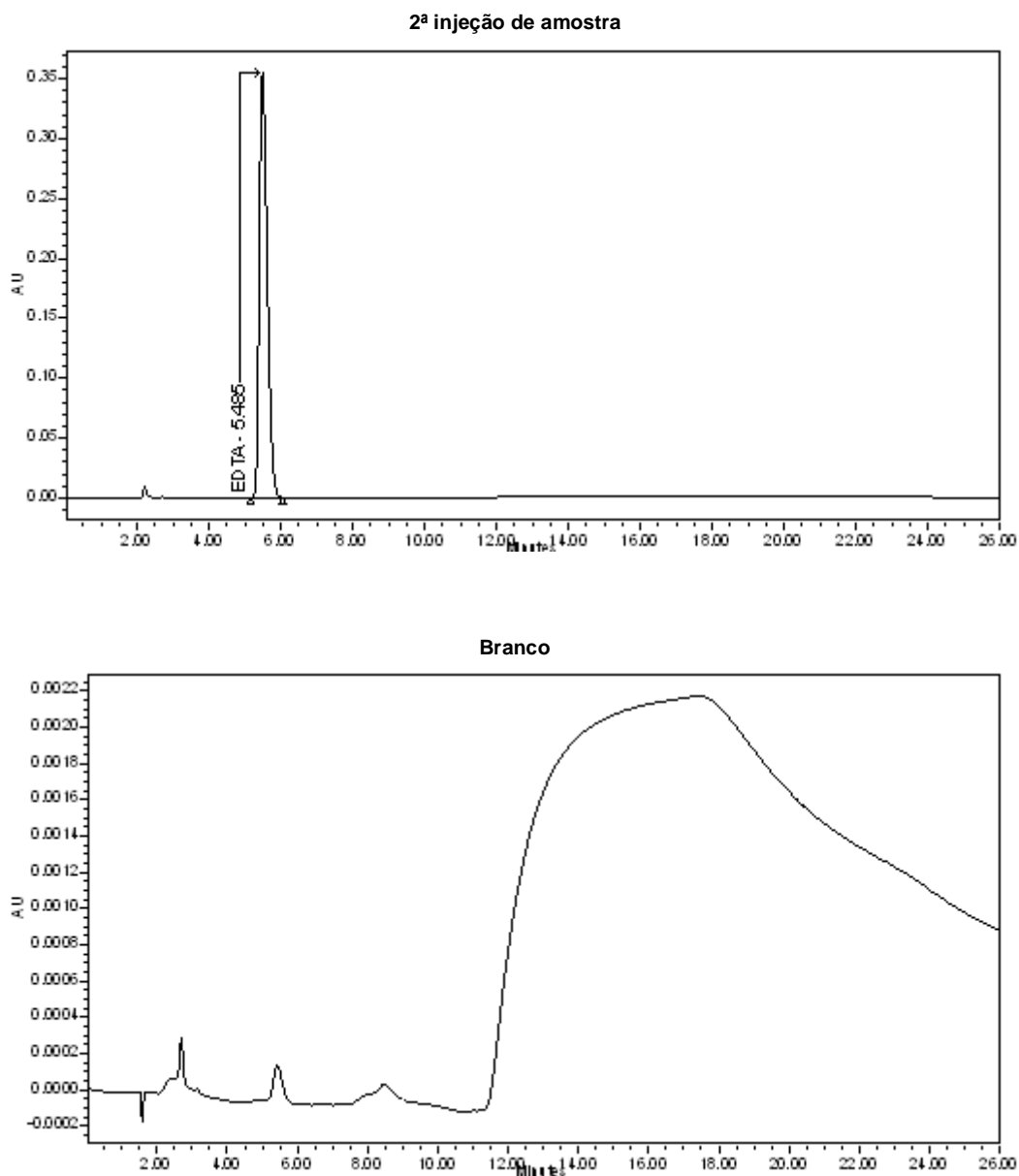


Figura 27.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de "recovery" de EDTA no produto A

Na tabela abaixo apresentam-se as quantidades de EDTA recuperadas na amostra, respectiva média e a quantidade de EDTA recuperada, em percentagem, tendo em conta a quantidade de EDTA que se deveria recuperar (valor teórico).

Tabela 10: Resultado obtido de EDTA recuperado, em percentagem, no ensaio de “recovery” de EDTA no produto A

	Quantidade de EDTA recuperada (mg/mL)	Média (mg/mL)	Quantidade de EDTA que se deveria recuperar (mg/mL)	Percentagem de EDTA recuperada (%)
1ª injeção amostra	2,447	2,4415	2,97396	82
2ª injeção amostra	2,436			

Verifica-se assim que os valores obtidos de fator de tailing e de RSD (“*Relative standard deviation*”) se encontram de acordo com as especificações. E a percentagem de recuperação de EDTA obtida (82%) encontra-se acima dos 70%, não havendo a necessidade de realizar ensaios adicionais de “recovery” de EDTA no produto A.

4.1.2. “Recovery” de EDTA no produto B

No ensaio de “recovery” de EDTA no produto B, a sequência de injeções foi composta por seis injeções de solução padrão (padrões de calibração), duas de solução amostra seguidas de duas de solução padrão, e por fim uma injeção de solução do branco. O valor de calibração dos padrões de calibração foi de 2,97594 mg/mL.

Na tabela a seguir apresentam-se os valores obtidos para o fator de tailing do primeiro padrão de calibração e do RSD para os cinco padrões calibrados e para os sete padrões (cinco padrões de calibração mais os dois padrões finais).

Tabela 11: Resultados obtidos do fator de tailing e do RSD no ensaio de “recovery” de EDTA no produto B

	Fator de Tailing (0,8 – 1,5) ^[8]	RSD (5 padrões de calibração) (≤ 2,0 %) ^[8]	RSD (7 padrões) (≤ 2,0 %) ^[8]
Resultados	1,5	0,1	0,1

A figura 28 apresentada a seguir ilustra os cromatogramas obtidos do primeiro padrão de calibração, das duas injeções de amostra e do branco.

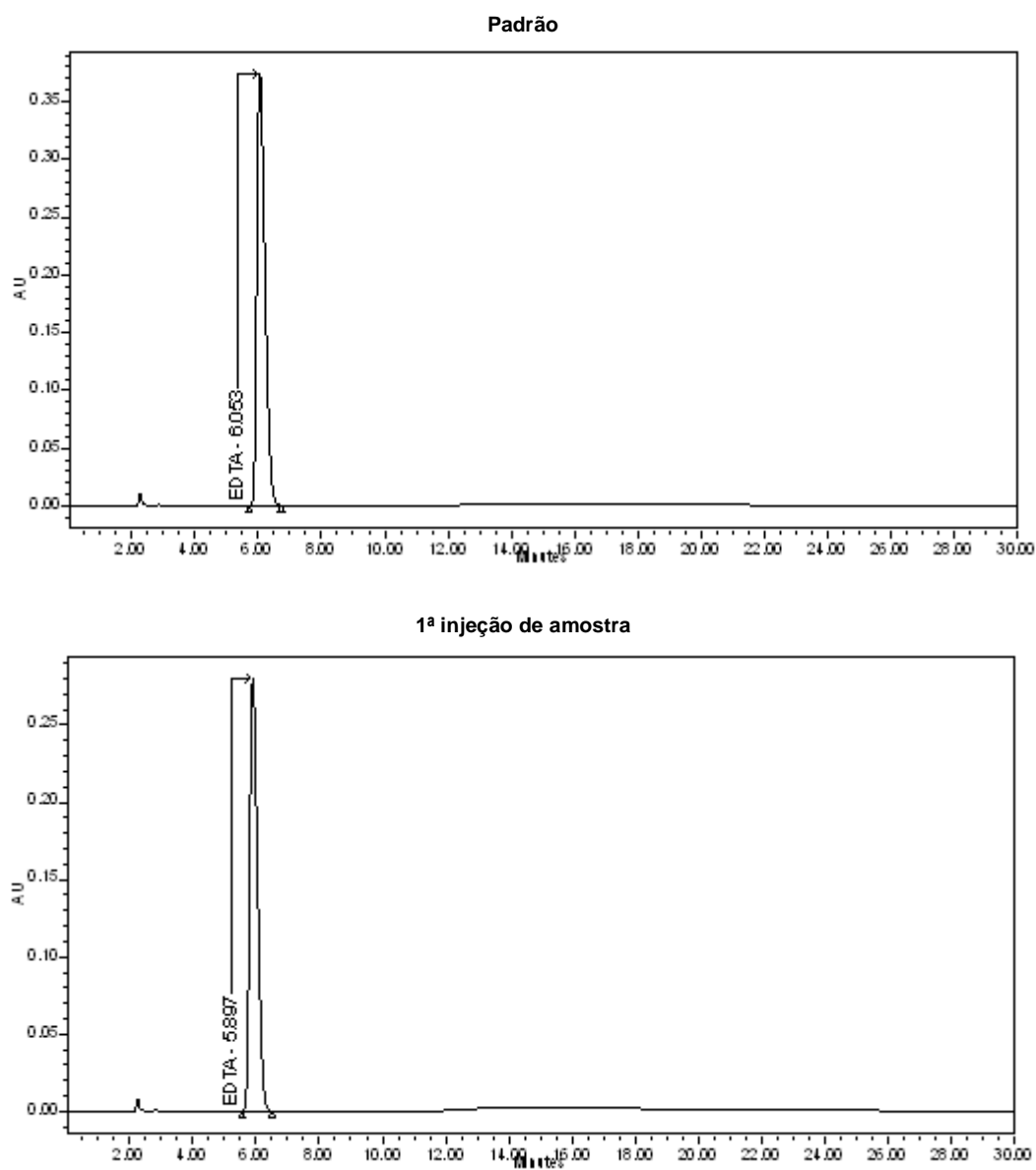


Figura 28: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de "recovery" de EDTA no produto B (cont.)

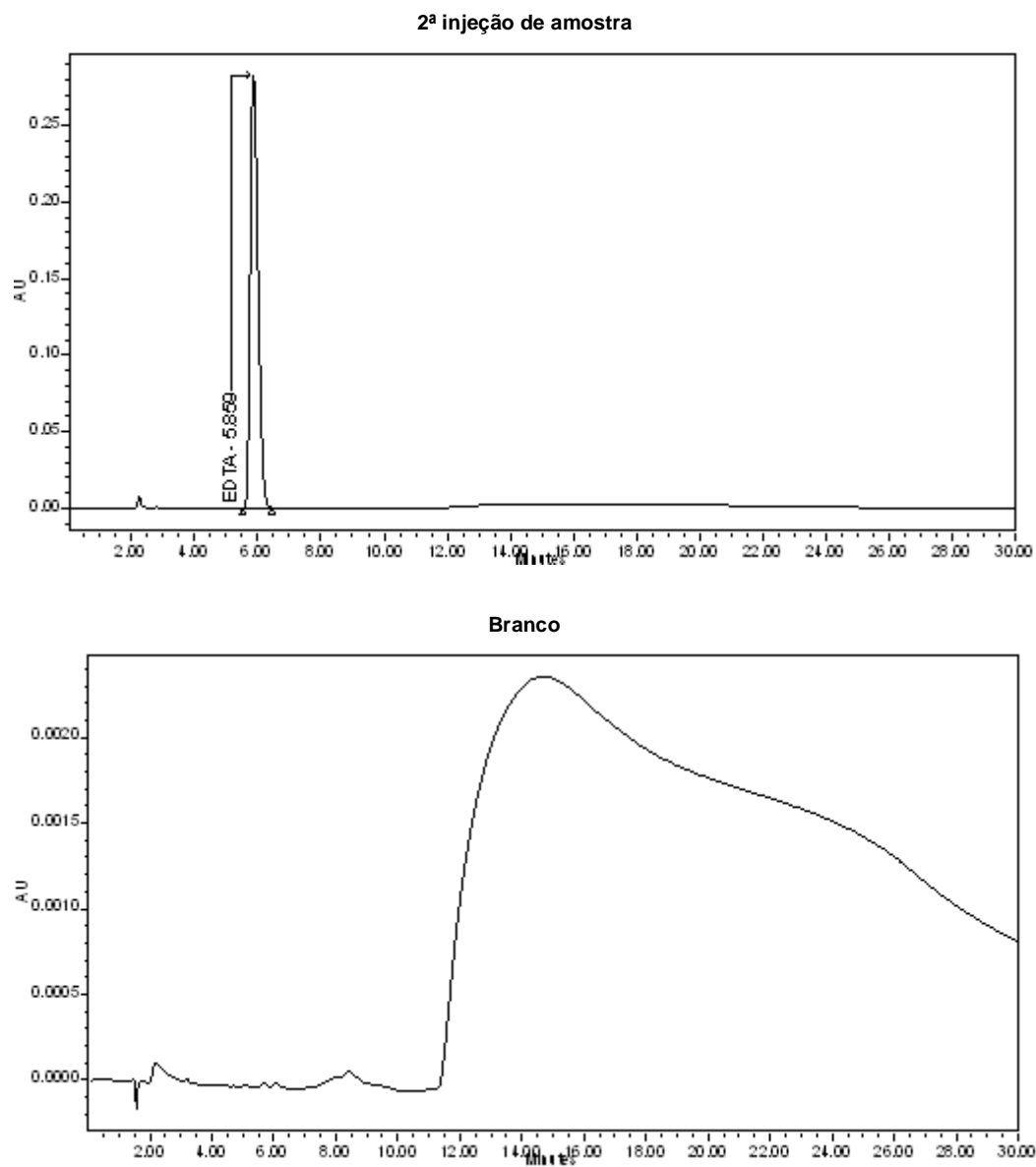


Figura 28.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de “recovery” de EDTA no produto B

Na tabela abaixo apresentam-se as quantidades de EDTA recuperadas na amostra, respectiva média e a quantidade de EDTA recuperada, em percentagem, tendo em conta a quantidade de EDTA que se deveria recuperar (valor teórico).

Tabela 12: Resultado obtido de EDTA recuperado, em percentagem, no ensaio de “recovery” de EDTA no produto B

	Quantidade de EDTA recuperada (mg/mL)	Média (mg/mL)	Quantidade de EDTA que se deveria recuperar (mg/mL)	Percentagem de EDTA recuperada (%)
1ª injeção amostra	2,173	2,172	2,9799	73
2ª injeção amostra	2,171			

Verifica-se assim que os valores obtidos de fator de tailing e de RSD (“*Relative standard deviation*”) se encontram de acordo com as especificações. E a percentagem de recuperação de EDTA obtida (73%) encontra-se acima dos 70%, não havendo a necessidade de realizar ensaios adicionais de “recovery” de EDTA no produto B.

4.1.3. “Recovery” da substância ativa 1 no produto B

No ensaio de “recovery” da substância ativa 1 no produto B, a sequência de injeções foi composta por seis injeções de solução padrão (padrões de calibração), duas de solução amostra seguidas de duas de solução padrão, e por fim uma injeção de solução do branco. O valor de calibração dos padrões de calibração foi de $8,3809 \times 10^{-4}$ mg/mL.

Na tabela a seguir apresentam-se os valores obtidos para o fator de tailing do primeiro padrão de calibração e do RSD para os cinco padrões calibrados e para os sete padrões (cinco padrões de calibração mais os dois padrões finais).

Tabela 13: Resultados obtidos do fator de tailing e do RSD no ensaio de “recovery” da substância ativa 1 no produto B

	Fator de Tailing (0,8 – 1,5) ^[8]	RSD (5 padrões de calibração) ($\leq 2,0 \%$) ^[8]	RSD (7 padrões) ($\leq 2,0 \%$) ^[8]
Resultados	1,2	0,6	0,7

A figura 29 apresentada a seguir ilustra os cromatogramas obtidos do primeiro padrão de calibração, das duas injeções de amostra e do branco.

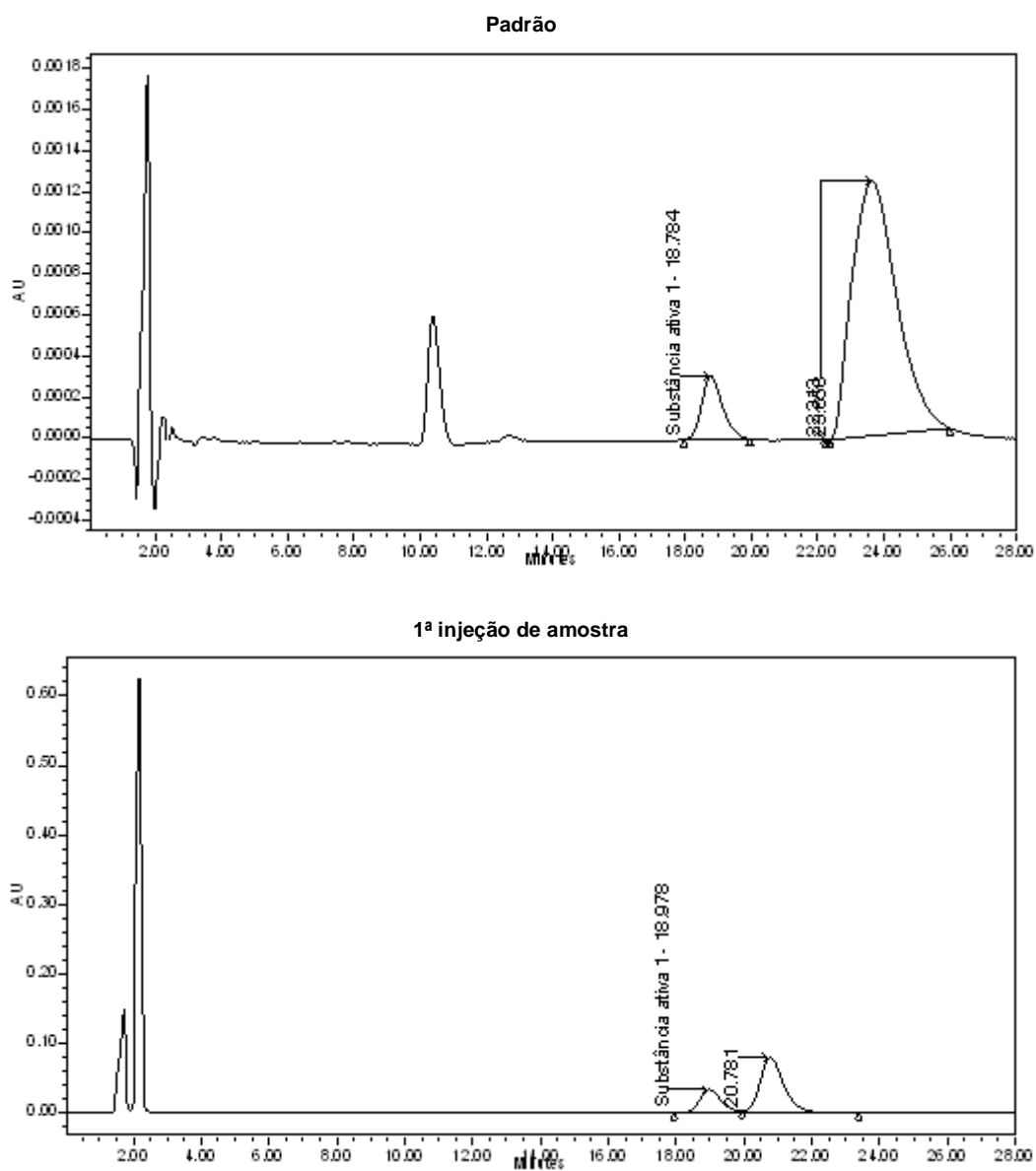


Figura 29: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de "recovery" de EDTA no produto B (cont.)

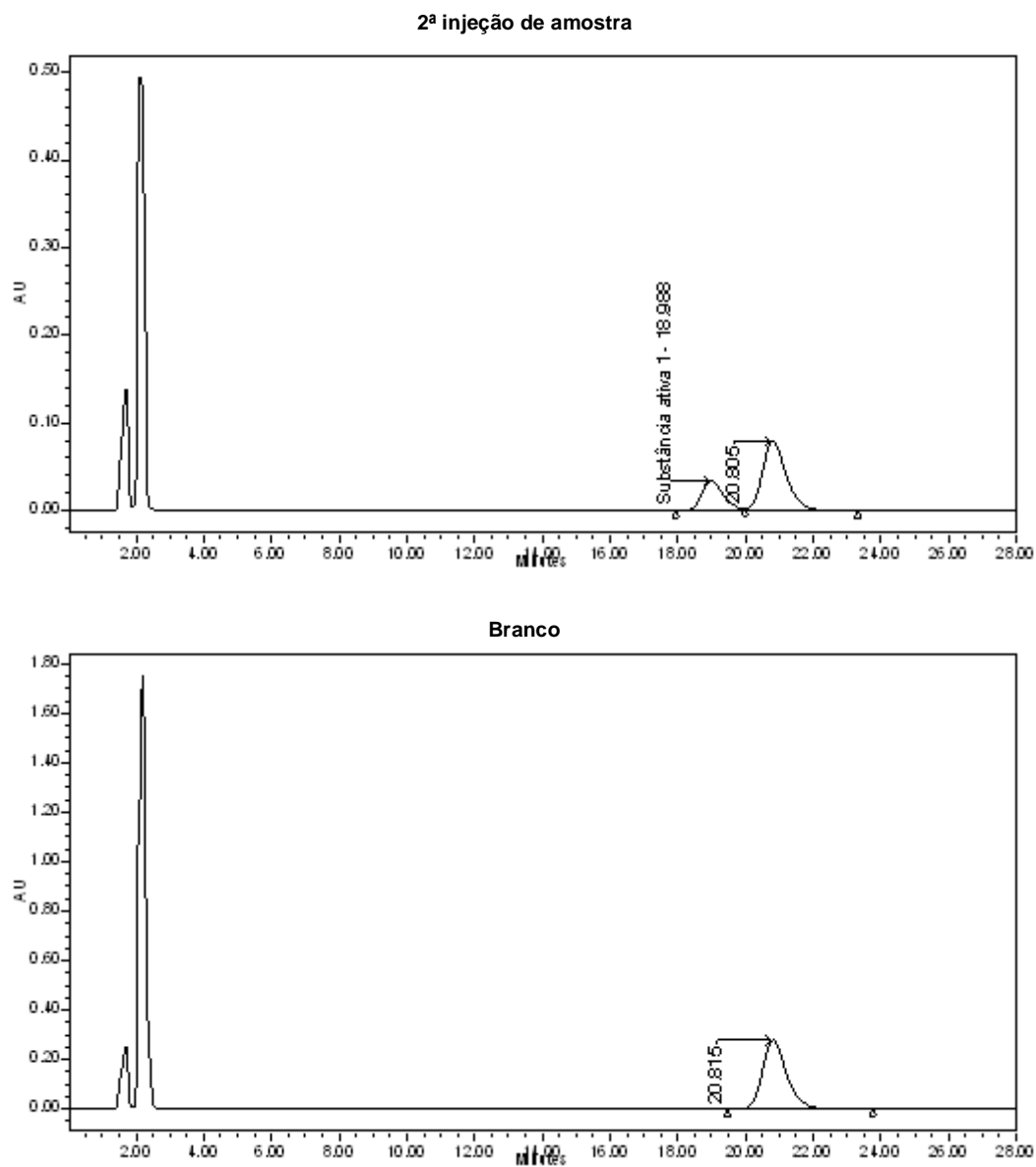


Figura 29.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de “recovery” de EDTA no produto B

Na tabela abaixo apresentam-se as quantidades de substância ativa 1 recuperadas na amostra, respectiva média e a quantidade de substância ativa 1 recuperada, em percentagem, tendo em conta a quantidade de substância ativa 1 que se deveria recuperar (valor teórico).

Tabela 14: Resultado obtido de substância ativa 1 recuperada, em percentagem, no ensaio de “*recovery*” da substância ativa 1 no produto B

	Quantidade de substância ativa 1 recuperada (mg/mL)	Média (mg/mL)	Quantidade de substância ativa 1 que se deveria recuperar (mg/mL)	Percentagem de substância ativa 1 recuperada (%)
1ª injeção amostra	0,091315			
		0,091471	0,101286	90
2ª injeção amostra	0,091627			

Verifica-se assim que os valores obtidos de fator de tailing e de RSD se encontram de acordo com as especificações. E a percentagem de recuperação da substância ativa 1 obtida (90%) encontra-se acima dos 70%, não havendo a necessidade de realizar ensaios adicionais de “*recovery*” da substância ativa 1 no produto B.

4.1.4. “*Recovery*” da substância ativa 2 no produto B

No ensaio de “*recovery*” da substância ativa 2 no produto B, a sequência de injeções foi composta por seis injeções de solução padrão (padrões de calibração), duas de solução amostra seguidas de duas de solução padrão, e por fim uma injeção de solução do branco. O valor de calibração dos padrões de calibração foi de $9,04188 \times 10^{-2}$ mg/mL.

Na tabela a seguir apresentam-se os valores obtidos para o fator de tailing do primeiro padrão de calibração e do RSD para os cinco padrões calibrados e para os sete padrões (cinco padrões de calibração mais os dois padrões finais).

Tabela 15: Resultados obtidos do fator de tailing e do RSD no ensaio de "recovery" da substância ativa 2 no produto B

	Fator de Tailing (0,8 – 1,5) ^[8]	RSD (5 padrões de calibração) (≤ 2,0 %) ^[8]	RSD (7 padrões) (≤ 2,0 %) ^[8]
Resultados	1,7*	0,6	0,6

A figura 30 apresentada a seguir ilustra os cromatogramas obtidos do primeiro padrão de calibração, das duas injeções de amostra e do branco.

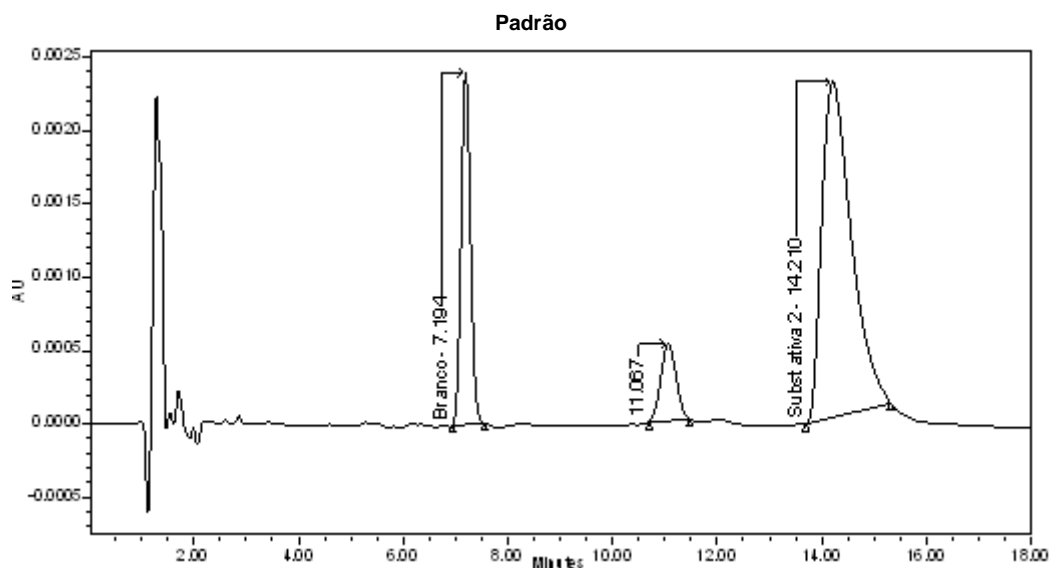
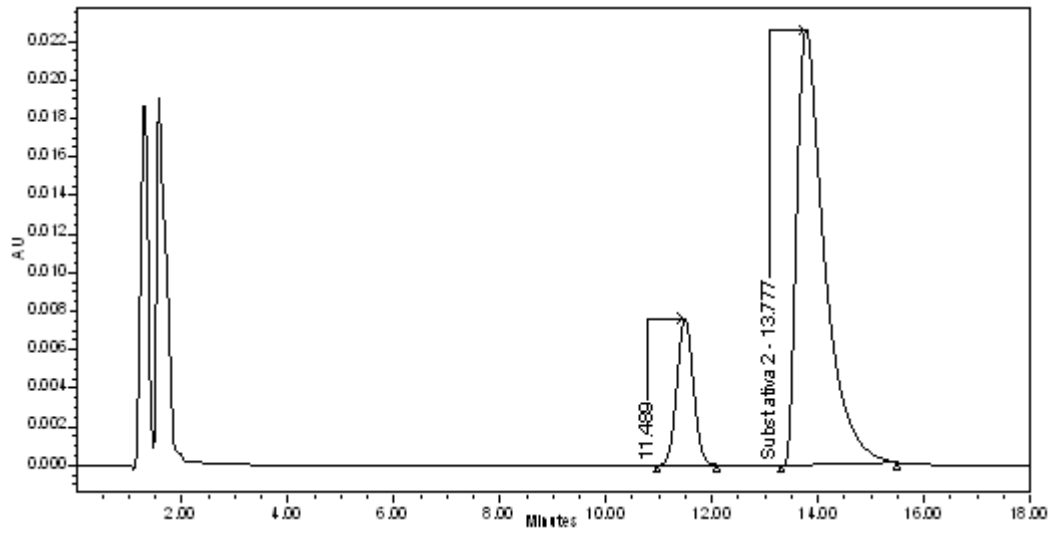


Figura 30: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de "recovery" da substância ativa 2 no produto B (cont.)

1ª injeção de amostra



2ª injeção de amostra

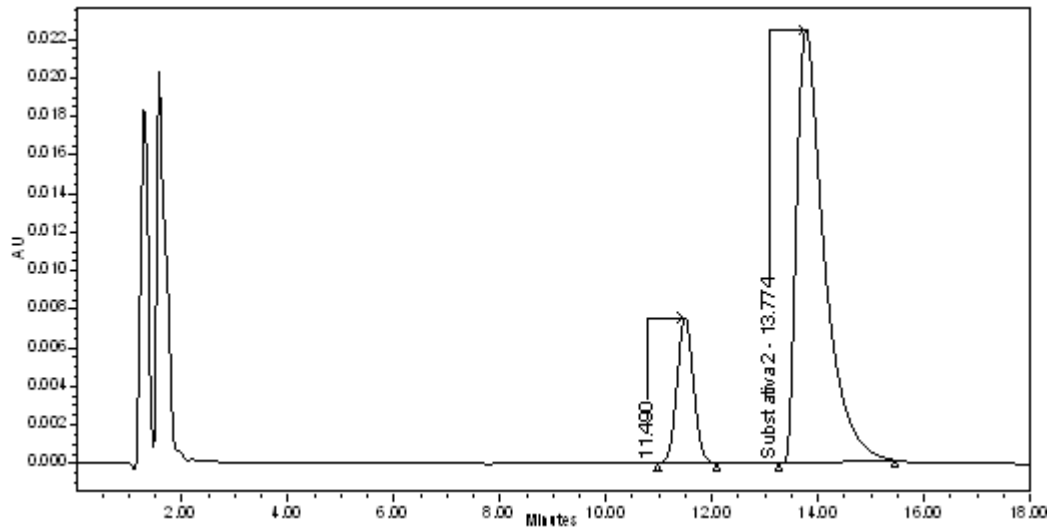


Figura 30.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de "recovery" da substância ativa 2 no produto B (cont.)

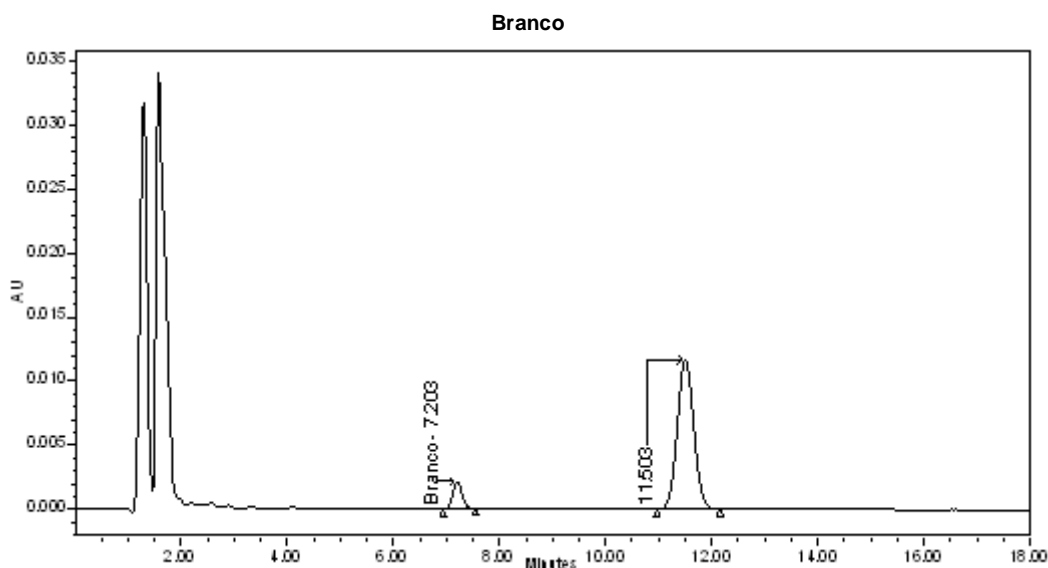


Figura 30.b): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de “recovery” da substância ativa 2 no produto B

Na tabela abaixo apresentam-se as quantidades de substância ativa 2 recuperadas na amostra, respectiva média e a quantidade de substância ativa 2 recuperada, em percentagem, tendo em conta a quantidade de substância ativa 2 que se deveria recuperar (valor teórico).

Tabela 16: Resultado obtido de substância ativa 2 recuperada, em percentagem, no ensaio de “recovery” da substância ativa 2 no produto B

	Quantidade de substância ativa 2 recuperada (mg/mL)	Média (mg/mL)	Quantidade de substância ativa 2 que se deveria recuperar (mg/mL)	Percentagem de substância ativa 2 recuperada (%)
1ª injeção amostra	0,819	0,818	1,01297	81
2ª injeção amostra	0,817			

*O valor obtido de fator de tailing para a substância ativa 2 encontra-se fora do intervalo de especificação, sendo este valor justificável e aceite, uma vez que o método se encontra validado também com um resultado de fator de tailing fora de especificação.

Verifica-se que os valores obtidos de RSD se encontram de acordo com as especificações. E a percentagem de recuperação da substância ativa 2 obtida (81%) encontra-se acima dos 70%, não havendo a necessidade de realizar ensaios adicionais de “recovery” da substância ativa 2 no produto B.

4.1.5. “Recovery” da substância ativa 3 no produto A

No ensaio de “recovery” da substância ativa 3 no produto A, a sequência de injecções foi composta por seis injecções de solução padrão (padrões de calibração), duas de solução amostra seguidas de duas de solução padrão, e por fim uma injecção de solução do branco. O valor de calibração dos padrões de calibração foi de $2,4975 \times 10^{-5}$ mg/mL.

Na tabela a seguir apresentam-se os valores obtidos para o fator de tailing do primeiro padrão de calibração e do RSD para os cinco padrões calibrados e para os seis padrões (cinco padrões de calibração mais um padrão final).

Tabela 17: Resultados obtidos do fator de tailing e do RSD no ensaio de “recovery” da substância ativa 3 no produto A

	Fator de Tailing (0,8 – 1,5) ^[8]	RSD (5 padrões de calibração) (≤ 10,0 %)	RSD (6 padrões) (≤ 10,0 %)
Resultados	1,0	2,9	5,3

A figura 31 apresentada a seguir ilustra os cromatogramas obtidos do primeiro padrão de calibração, das duas injecções de amostra e do branco.

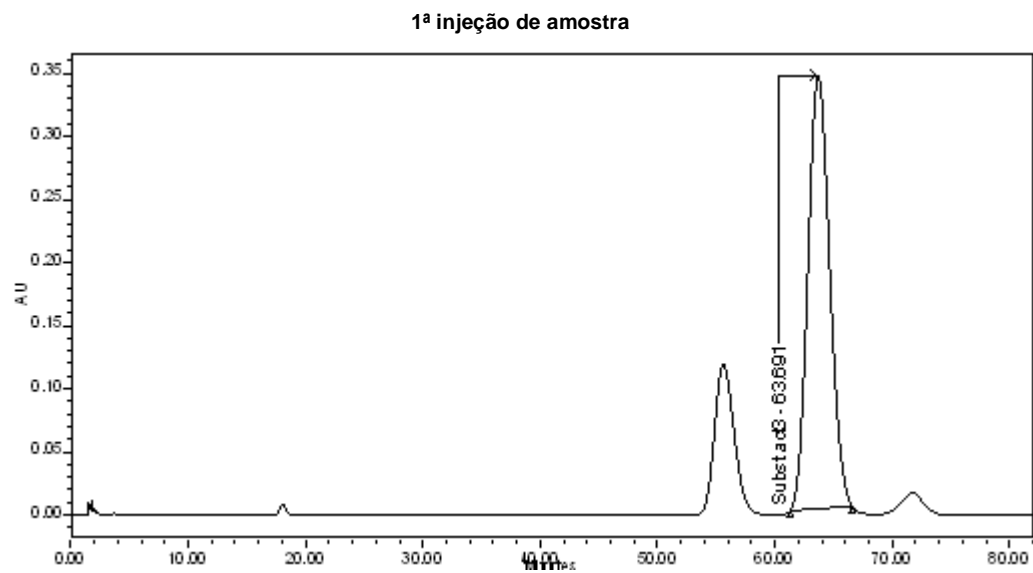
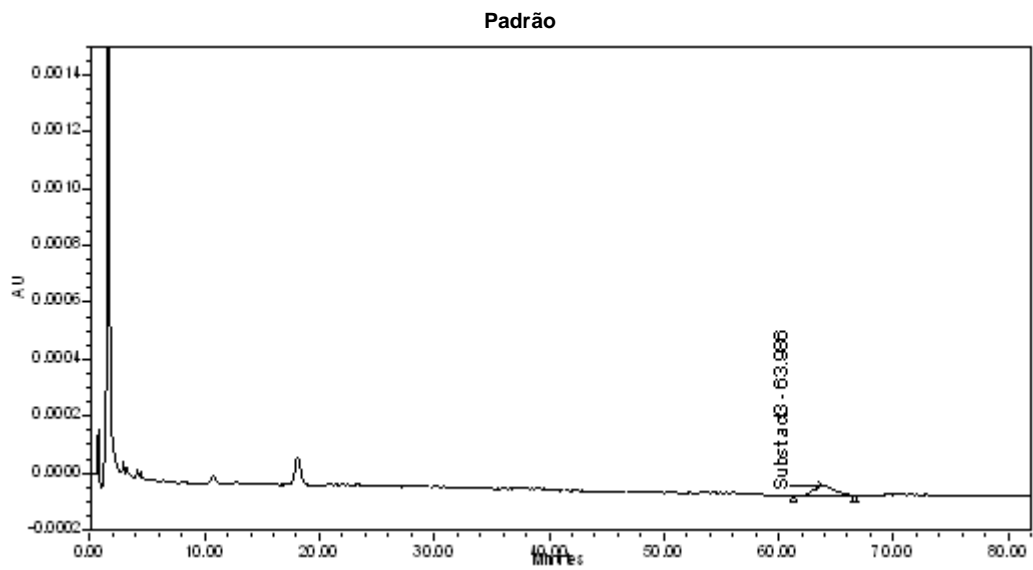


Figura 31: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de "recovery" da substância ativa 3 no produto A (cont.)

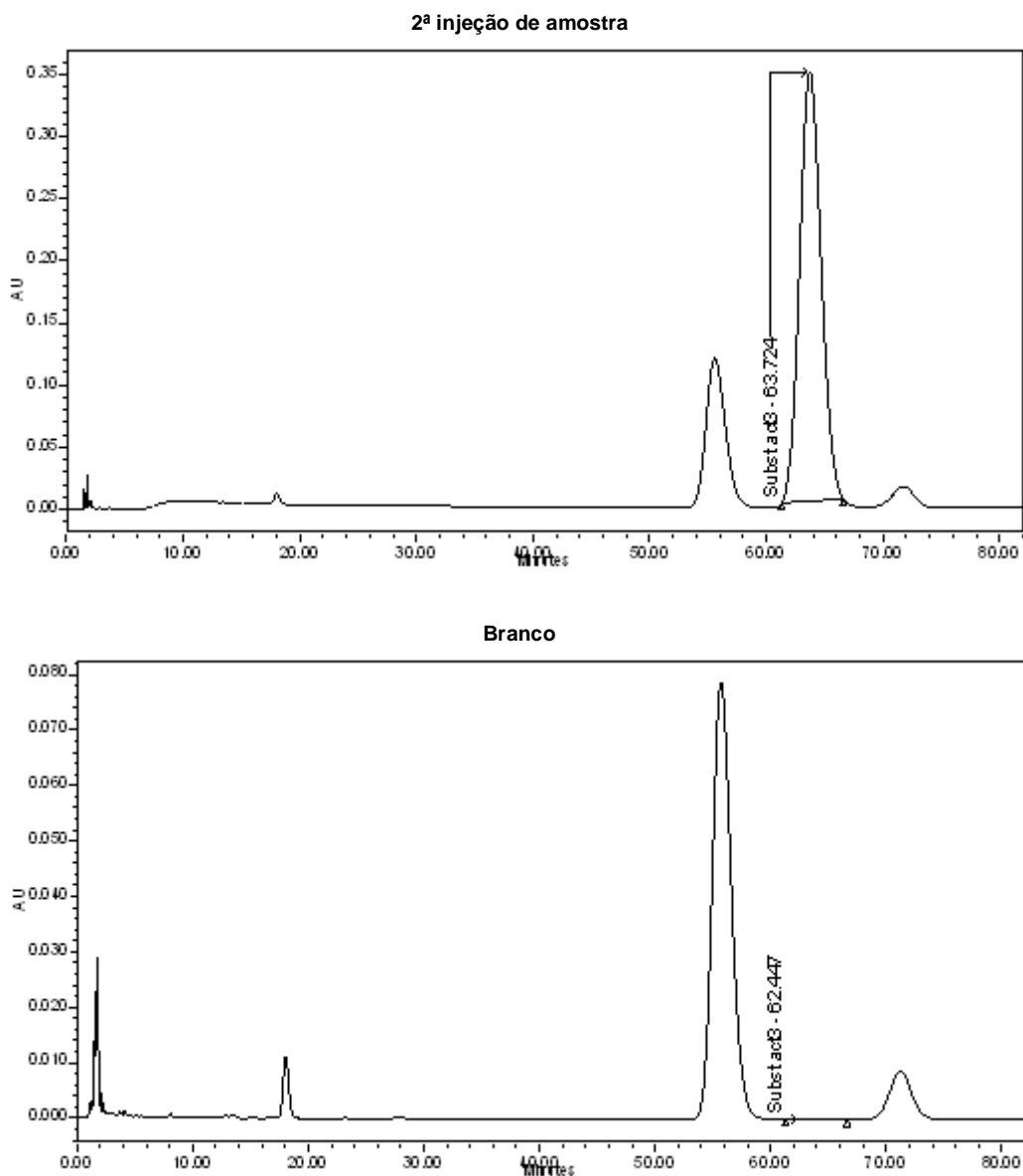


Figura 31.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e da amostra do ensaio de “recovery” da substância ativa 2 no produto B

Na tabela abaixo apresentam-se as quantidades de substância ativa 3 recuperadas na amostra, respectiva média e a quantidade de substância ativa 3 recuperada, em percentagem, tendo em conta a quantidade de substância ativa 3 que se deveria recuperar (valor teórico).

Tabela 18: Resultado obtido de substância ativa 3 recuperada, em percentagem, no ensaio de “recovery” da substância ativa 3 no produto A

	Quantidade de substância ativa 3 recuperada (mg/mL)	Média (mg/mL)	Quantidade de substância ativa 3 que se deveria recuperar (mg/mL)	Percentagem de substância ativa 3 recuperada (%)
1ª injeção amostra	0,251010	0,2513255	0,2522475	100
2ª injeção amostra	0,251641			

Verifica-se que os valores obtidos de fator de tailing e de RSD se encontram de acordo com as especificações, sendo que para este método de análise, o critério de aceitação para o RSD dos padrões preparados no limite de quantificação é inferior a 10,0%. A percentagem de recuperação da substância ativa 3 obtida (100%) encontra-se acima dos 70%, não havendo a necessidade de realizar ensaios adicionais de “recovery” da substância ativa 3 no produto A.

4.2. Ensaio de determinação da quantidade de resíduos contaminantes

Para cada ensaio de determinação da quantidade de resíduo contaminante, apresentam-se os valores obtidos para os parâmetros (fator de tailing, fator de resolução e RSD) que demonstram a conformidade do sistema, e os resultados obtidos para as três amostras (lotes 2, 4 e 6 de produto A e lotes 3, 5 e 7 de produto B), assim como os cromatogramas de um padrão de calibração, das amostras e do branco.

4.2.1. Determinação da quantidade de EDTA no produto A

No ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto A, a sequência de injeções foi composta por seis injeções de solução padrão (padrões de calibração), duas injeções para cada solução amostra, intercaladas por uma de padrão e duas

de padrão após a última amostra, e por fim uma injeção de solução do branco. O valor de calibração dos padrões de calibração foi de 14,949 mg/g.

Na tabela a seguir apresentam-se os valores obtidos para o fator de tailing (pico de EDTA) e de resolução do primeiro padrão de calibração, e do RSD (pico de EDTA) para os seis padrões de calibração, para os sete padrões (seis padrões de calibração mais um padrão intermédio), oito padrões e dez padrões.

Tabela 19: Resultados obtidos do fator de tailing, de resolução e do RSD no ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto A

	Fator de Tailing (0,8 – 1,5) ^[8]	Fator de Resolução (≥ 1,5) ^[8]	RSD dos padrões (≤ 2,0 %) ^[8]			
			6	7	8	10
Resultados	1,1	9,9	0,1	0,1	0,1	0,1

A figura 32 apresentada a seguir ilustra os cromatogramas obtidos do primeiro padrão de calibração, de uma injeção de cada amostra do lote 2, 4 e 6 e do branco.

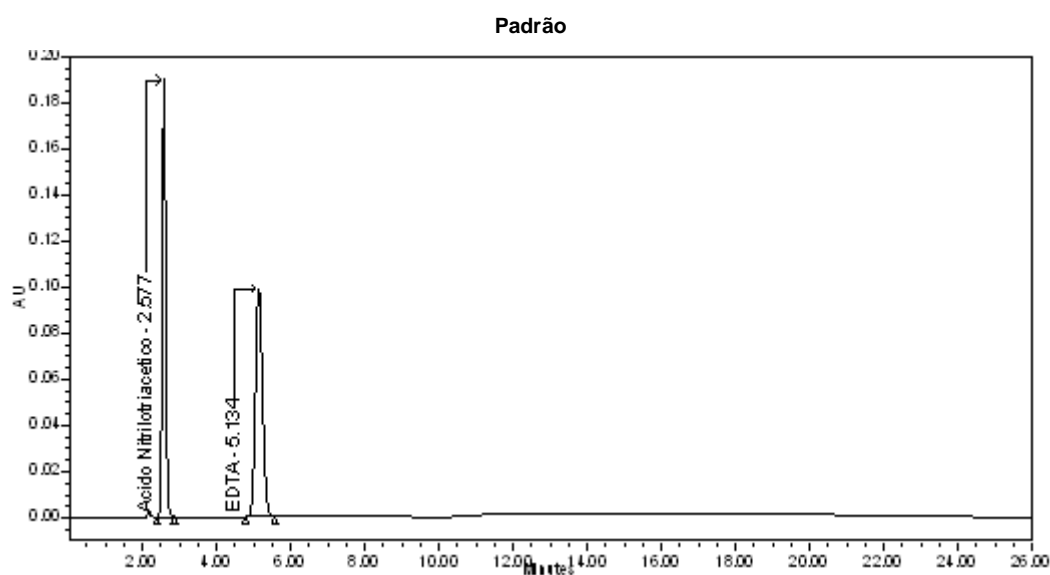


Figura 32: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto A (cont.)

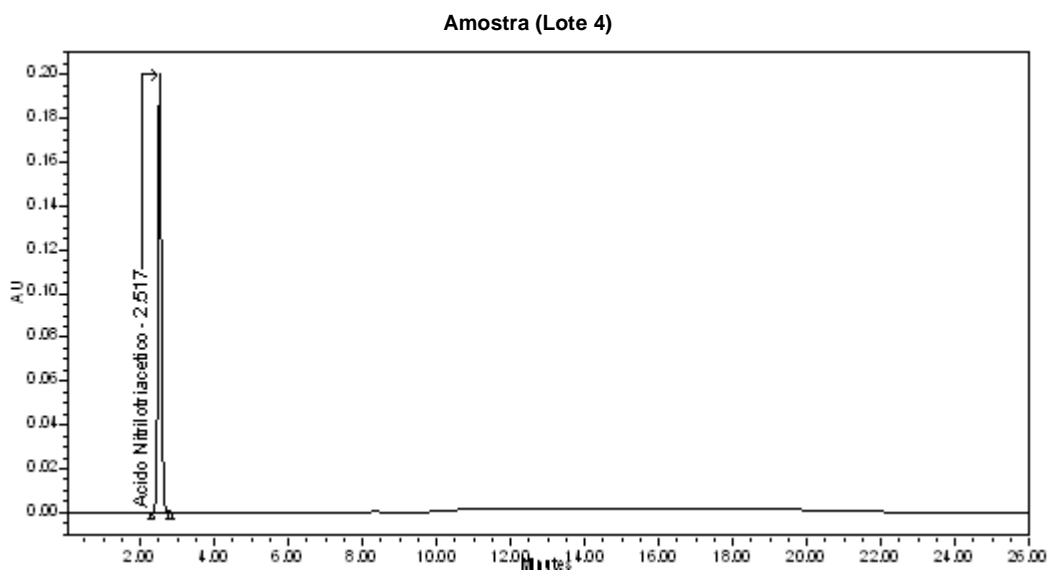
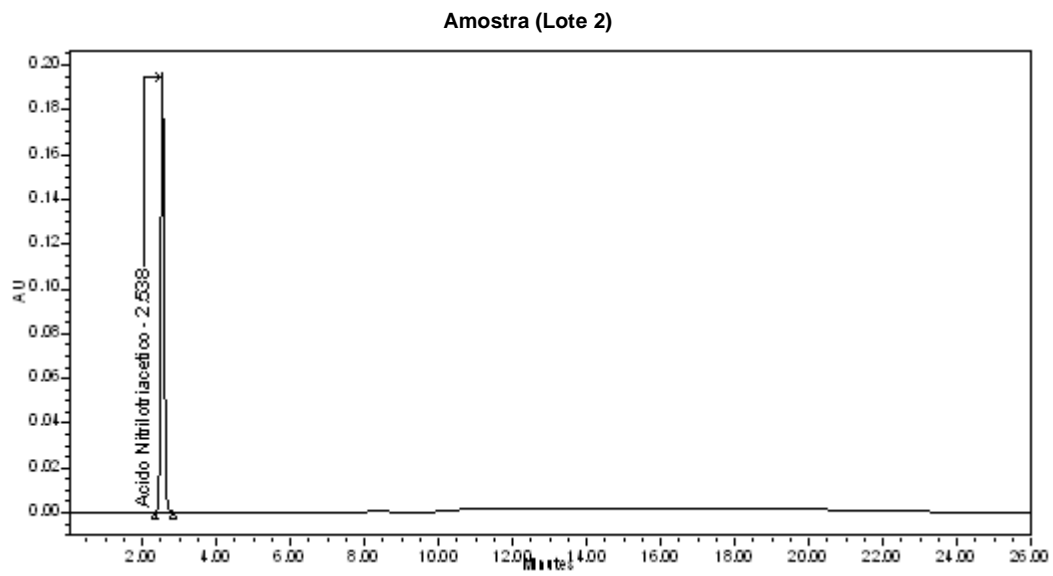


Figura 32.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto A (cont.)

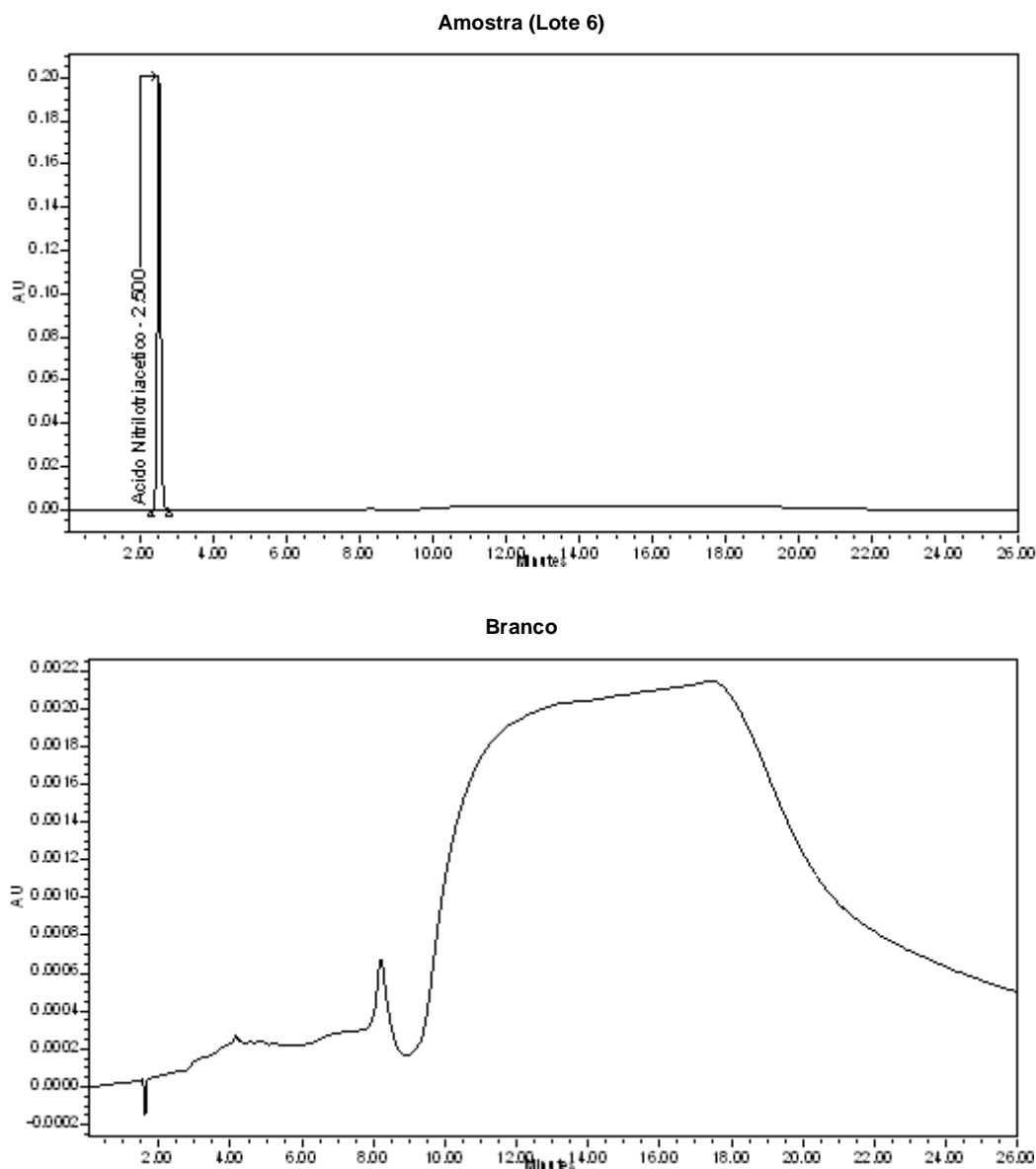


Figura 32.b): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto A

A quantidade de EDTA determinada nas três amostras de produto A foi nula, tal como se pode verificar nos cromatogramas das amostras apresentados atrás.

Os valores obtidos para o fator de tailing e de resolução, assim como de RSD encontram-se de acordo com as especificações.

4.2.2. Determinação da quantidade de EDTA no produto B

No ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto B, a sequência de injecções foi composta por seis injecções de solução padrão (padrões de calibração),

duas injeções para cada solução amostra, intercaladas por uma de padrão e duas de padrão após a última amostra, e por fim uma injeção de solução do branco. O valor de calibração dos padrões de calibração foi de 14,949 mg/g.

Na tabela a seguir apresentam-se os valores obtidos para o fator de tailing (pico de EDTA) e de resolução do primeiro padrão de calibração, e do RSD (pico de EDTA) para os seis padrões de calibração, para os sete padrões (seis padrões de calibração mais um padrão intermédio), oito padrões e dez padrões.

Tabela 20: Resultados obtidos do fator de tailing, de resolução e do RSD no ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto B

	Fator de Tailing (0,8 – 1,5) ^[8]	Fator de Resolução (≥ 1,5) ^[8]	RSD dos padrões (≤ 2,0 %) ^[8]			
			6	7	8	10
Resultados	1,2	10,3	0,1	0,1	0,1	0,1

A figura 33 apresentada a seguir ilustra os cromatogramas obtidos do primeiro padrão de calibração, de uma injeção de cada amostra do lote 2, 4 e 6 e do branco.

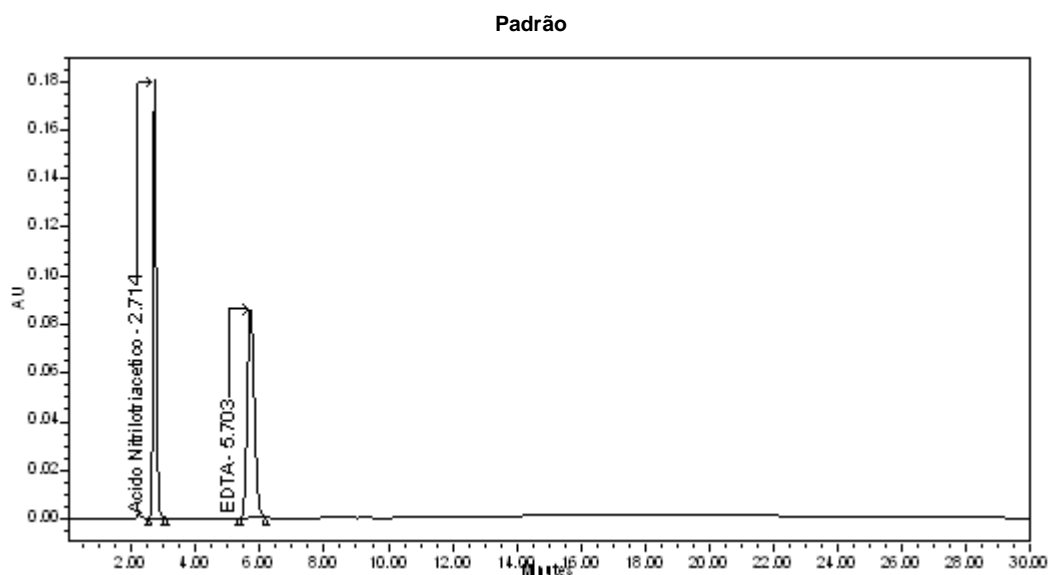


Figura 33: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto B (cont.)

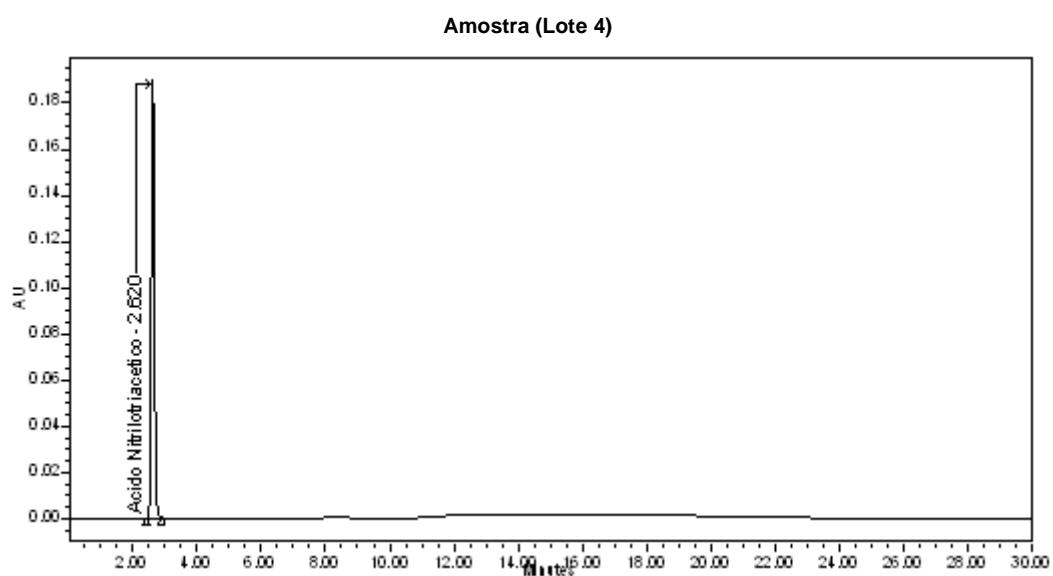
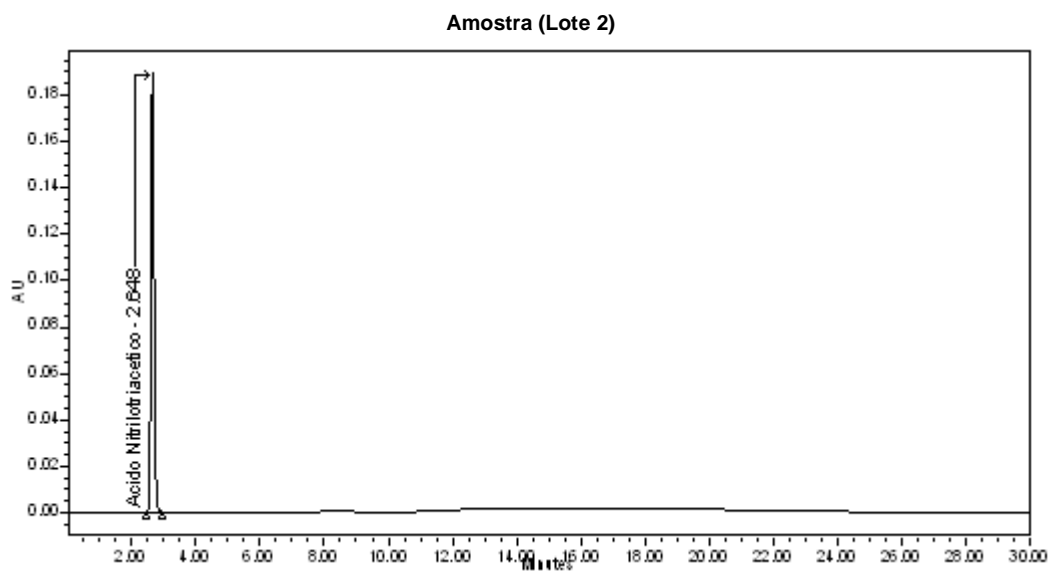


Figura 33.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto B (cont.)

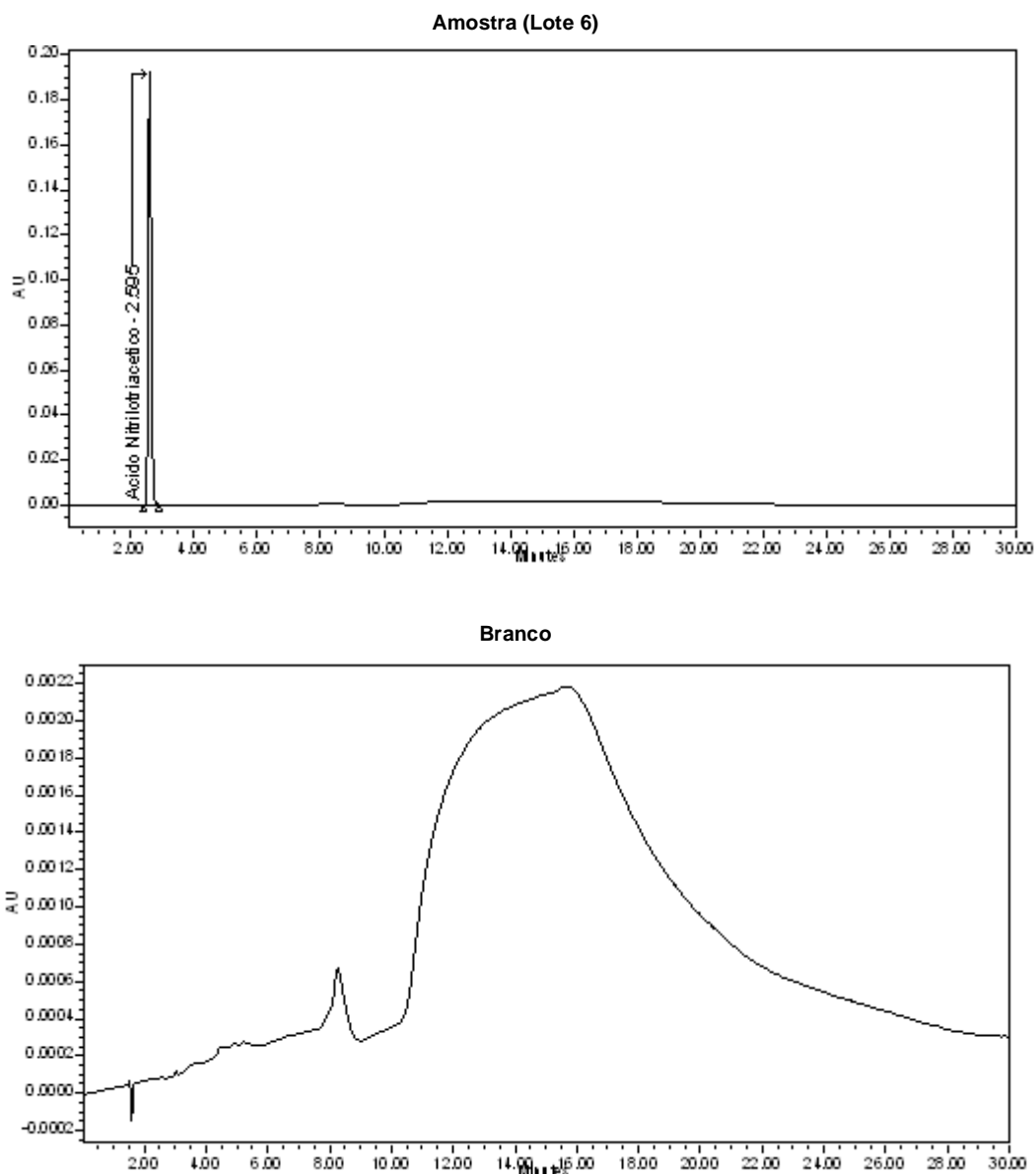


Figura 33.b): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de EDTA no produto B

A quantidade de EDTA determinada nas três amostras de produto B foi nula, tal como se pode verificar nos cromatogramas das amostras apresentados atrás.

Os valores obtidos para o fator de tailing e de resolução, assim como de RSD encontram-se de acordo com as especificações.

4.2.3. Determinação da quantidade de substância ativa 1 e 2 no produto B

No ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 1 e 2 no produto B, a sequência de injeções foi composta por sete injeções de solução padrão (padrões de

calibração), duas injeções para cada solução amostra, sendo estas seguidas cada uma por duas de padrão, e por fim uma injeção de solução do branco. Os padrões de calibração foram calibrados com os valores de $1,676184 \times 10^{-2}$ mg/g para a substância ativa 1 e de 1,800392 mg/g para a substância ativa 2.

Na tabela a seguir apresentam-se os valores obtidos para os fatores de tailing dos picos das substâncias ativas 1 e 2, para o fator de resolução da primeira injeção do padrão de calibração, e para o RSD de ambos os picos dos seis padrões calibrados, oito padrões (seis padrões de calibração mais os dois padrões intermédios), dez padrões e doze padrões.

Tabela 21: Resultados obtidos do fator de tailing, de resolução e do RSD no ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 1 e 2 no produto B

	Fator de Tailing (0,8 – 1,5) ^[8]	Fator de Resolução (≥ 1,5) ^[8]	RSD dos padrões (≤ 2,0 %) ^[8]			
			6	8	10	12
Substância ativa 1	1,0	3,6	0,6	0,7	0,7	0,8
Substância ativa 2	1,5		0,4	0,6	0,7	0,7

A figura 34 apresentada a seguir ilustra os cromatogramas obtidos do primeiro padrão de calibração, de uma injeção de cada amostra do lote 2, 4 e 6 de produto A e do branco.

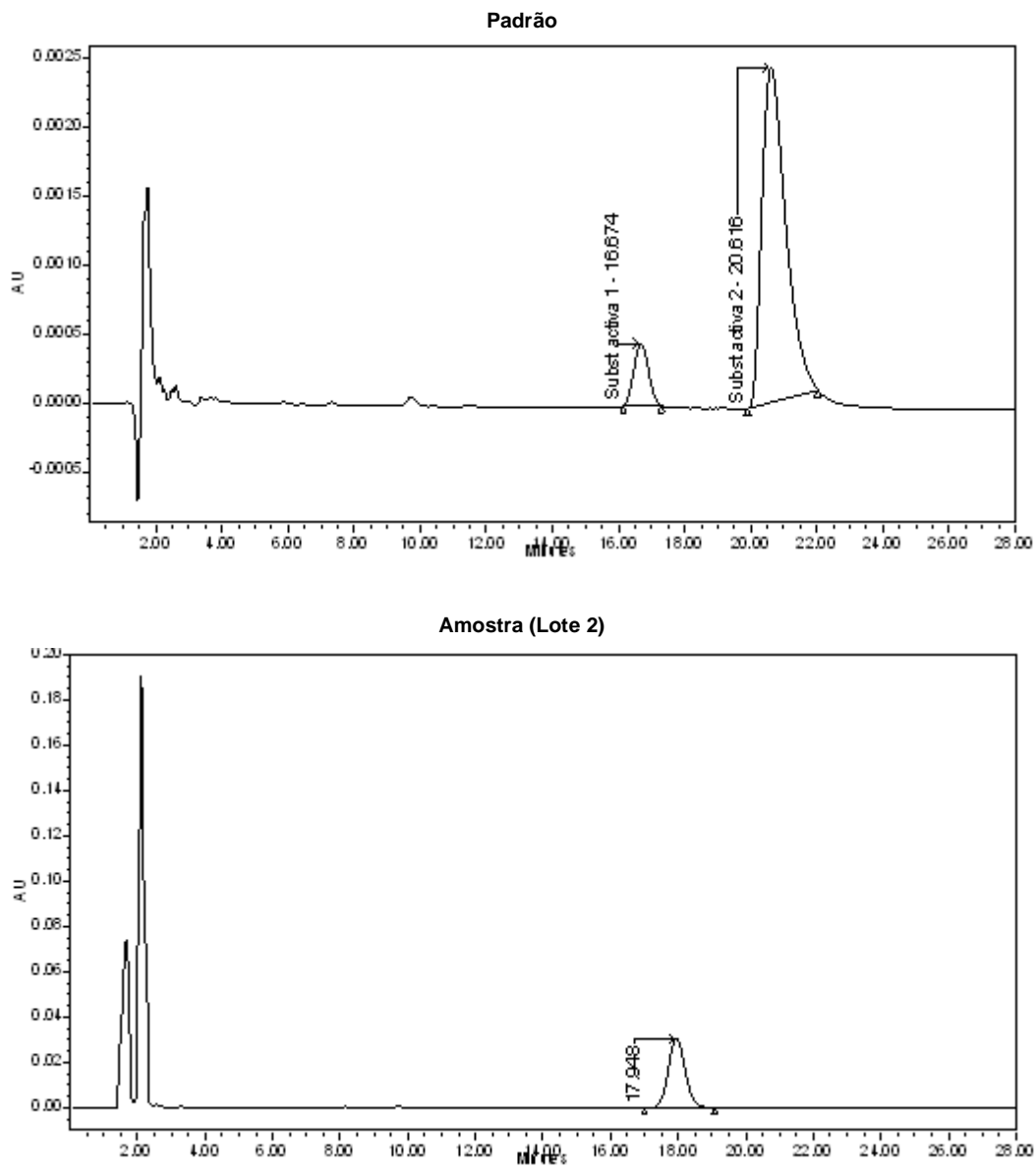


Figura 34: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 1 e 2 no produto B (cont.)

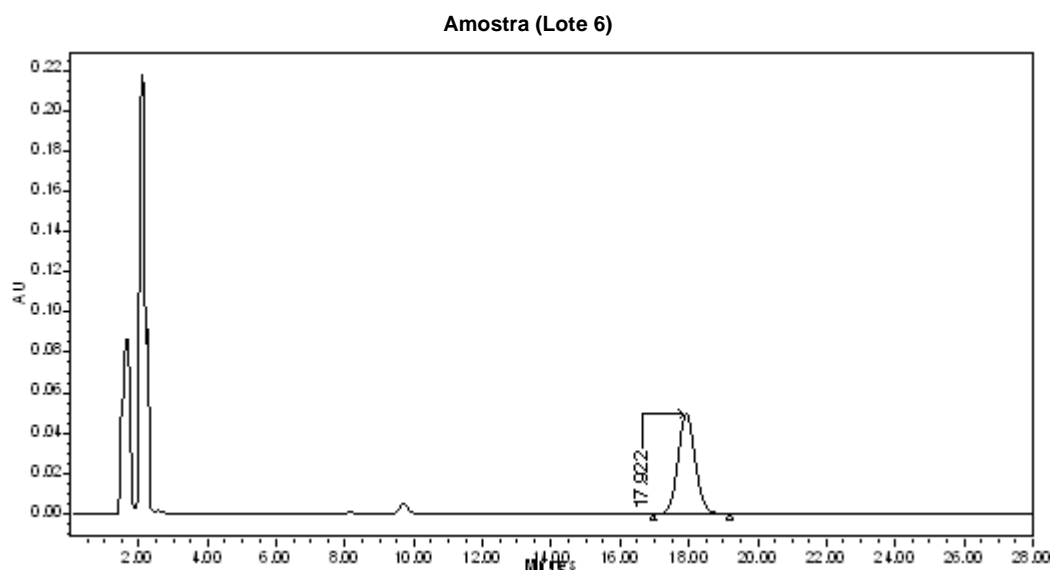
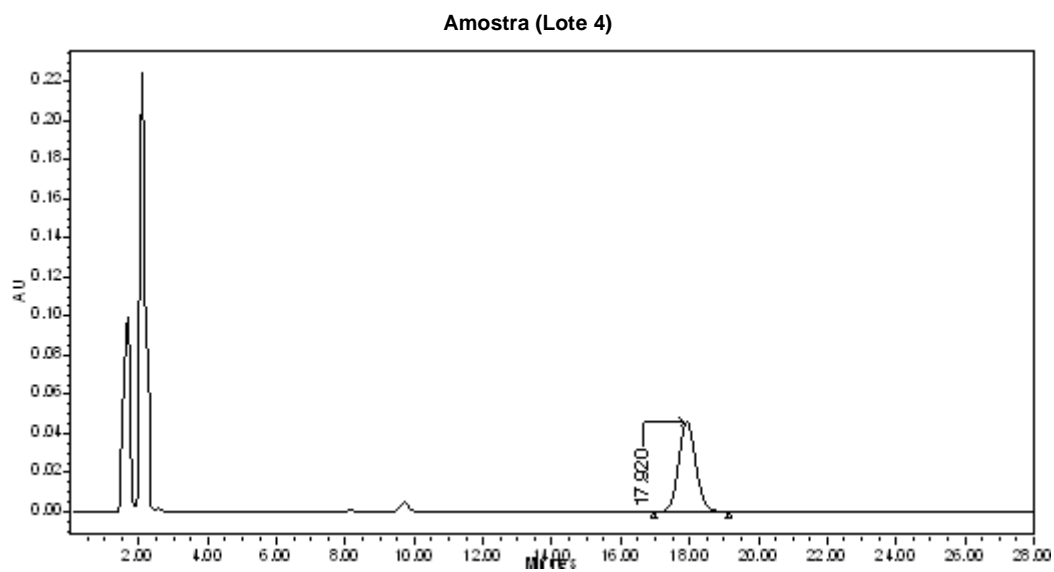


Figura 34.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 1 e 2 no produto B (cont.)

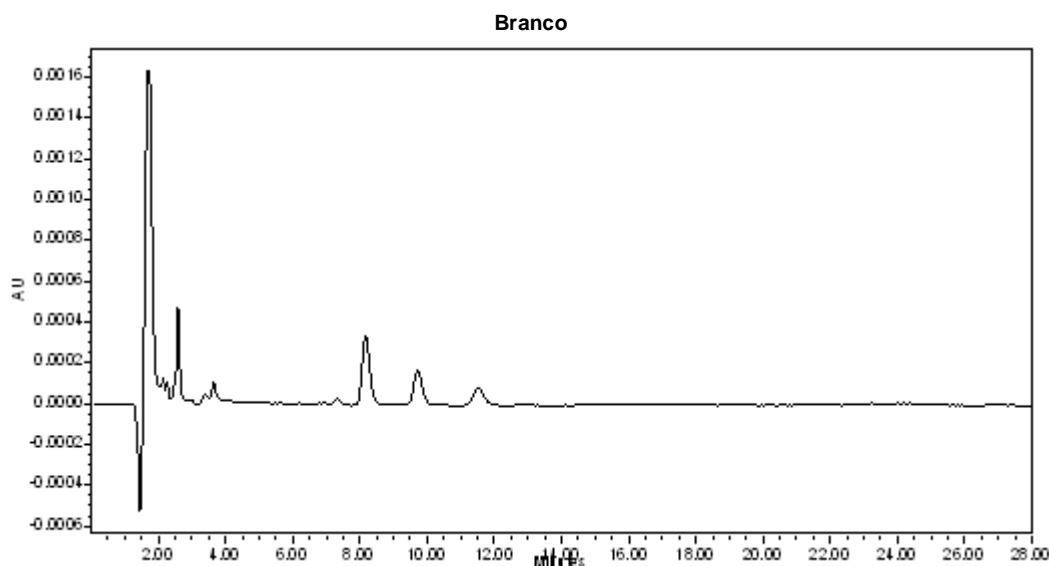


Figura 34.b): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 1 e 2 no produto B

A quantidade de substância ativa 1 e 2 determinada nas três amostras de produto B foi nula, tal como se pode verificar nos cromatogramas das amostras apresentados atrás.

Os valores obtidos para o fator de tailing e de resolução, assim como de RSD encontram-se de acordo com as especificações.

4.2.4. Determinação da quantidade de substância ativa 3 no produto A

No ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 3 no produto A, a sequência de injeções foi composta por sete injeções de solução padrão (padrões de calibração), duas injeções para cada solução amostra, amostras estas seguidas cada uma por duas de padrão, e por fim uma injeção de solução do branco. O valor de calibração dos padrões de calibração foi de $2,4975 \times 10^{-3}$ mg/g.

Na tabela seguinte apresentam-se os valores obtidos para o fator de tailing e para o RSD do pico da substância ativa 3 dos cinco padrões calibrados, seis padrões (cinco padrões de calibração mais um padrão intermédio), sete padrões e oito padrões.

Tabela 22: Resultados obtidos do fator de tailing e do RSD no ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 3 no produto A

	Fator de Tailing	RSD dos padrões			
	(0,8 – 1,5) ^[8]	5	6	7	8
		(≤ 2,0 %) ^[8]			
Resultados	0,9	3,5	3,3	3,2	4,2

A figura 35 apresentada a seguir ilustra os cromatogramas obtidos do primeiro padrão de calibração, do branco e de uma injeção de cada amostra do lote 2, 4 e 6 de produto A.

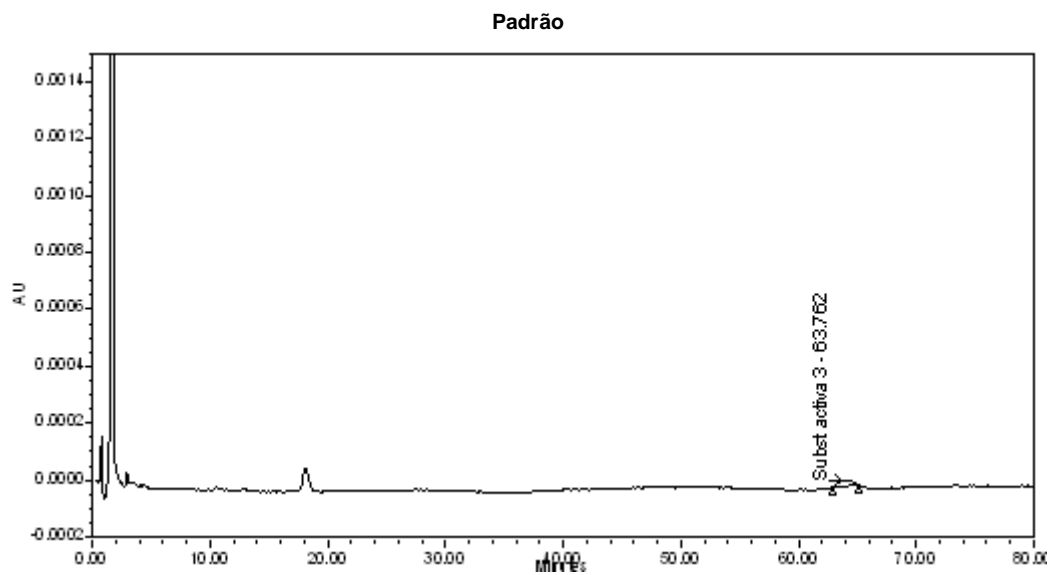


Figura 35: Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 3 no produto A (cont.)

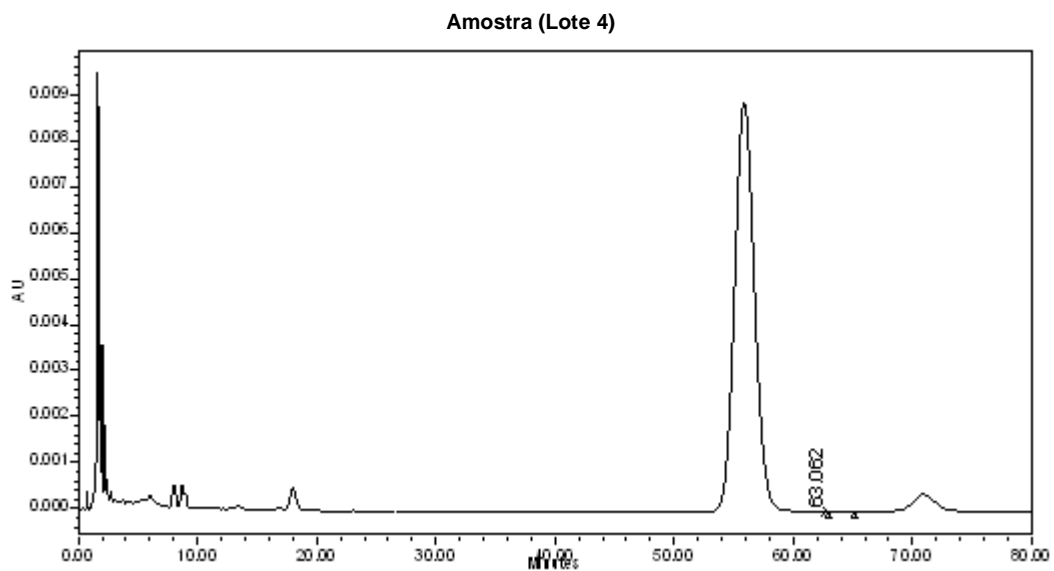
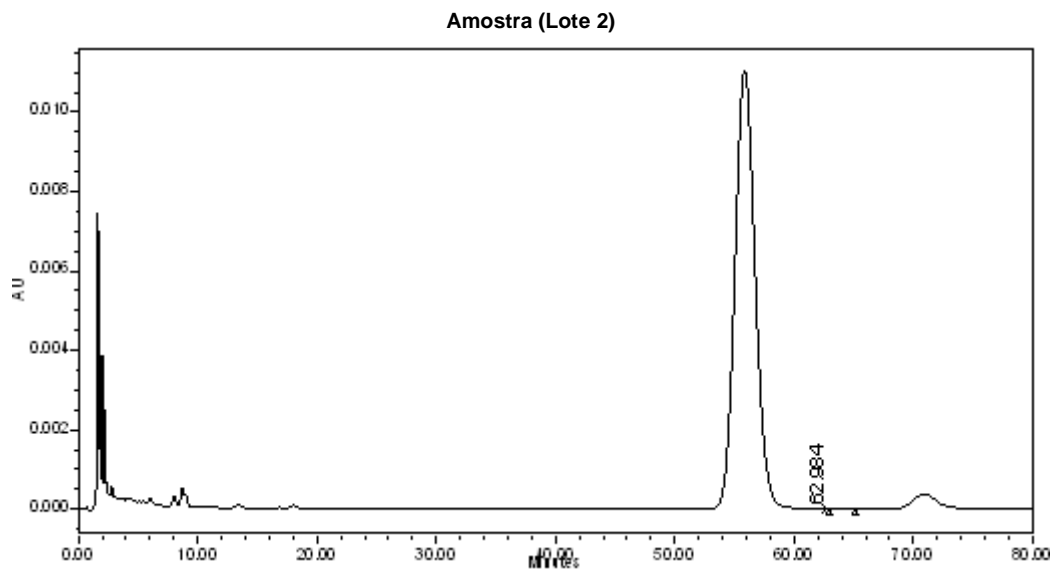


Figura 35.a): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 3 no produto A (cont.)

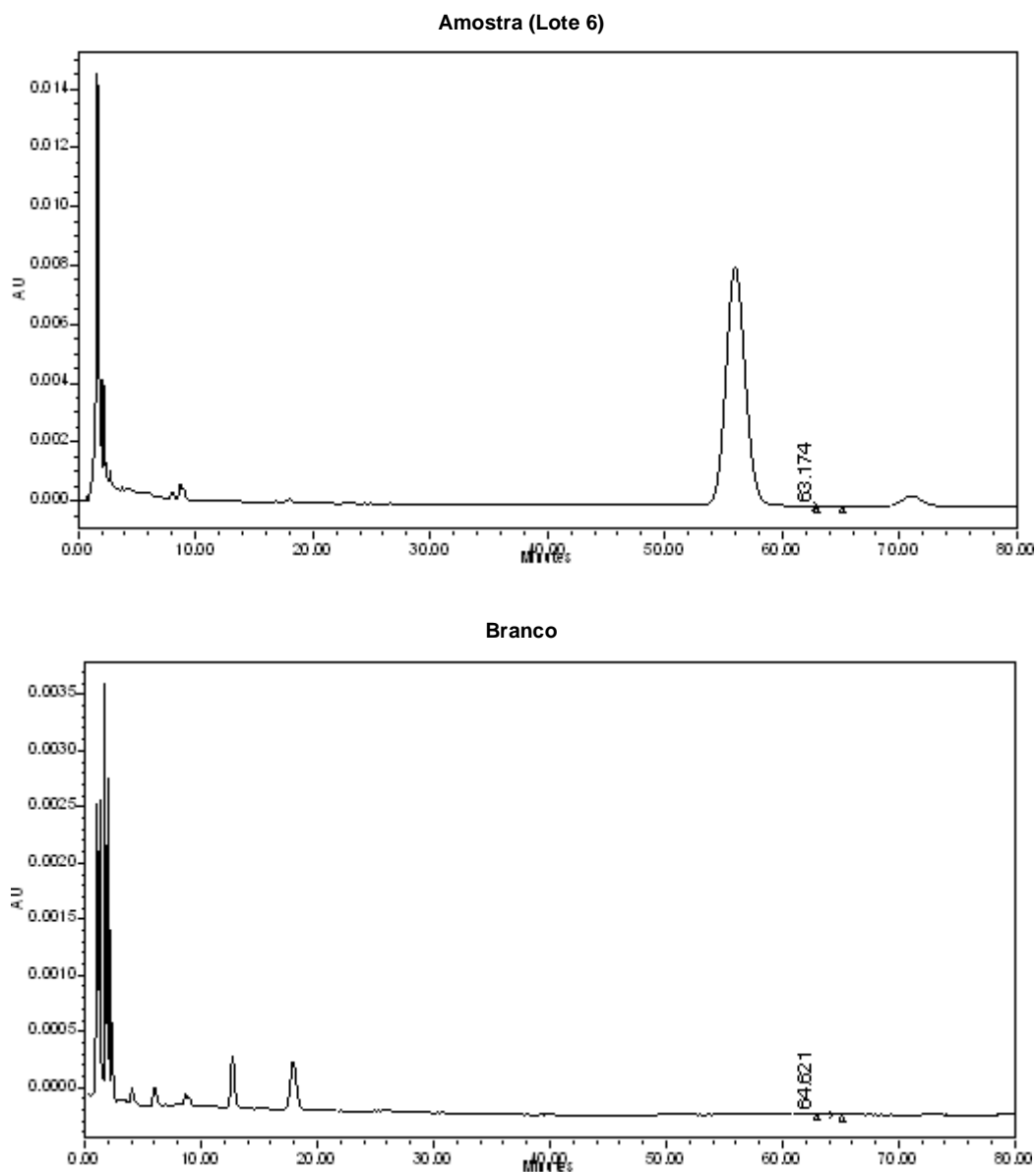


Figura 35.b): Cromatogramas obtidos do padrão, do branco e das amostras do ensaio de determinação da quantidade de substância ativa 3 no produto A

A quantidade de substância ativa 3 determinada nas três amostras de produto A foi nula, tal como se pode verificar nos cromatogramas das amostras apresentados atrás.

Os valores obtidos para o fator de tailing e para o RSD encontram-se de acordo com as especificações, sendo que para este método de análise, o critério de aceitação para o RSD dos padrões preparados no limite de quantificação é inferior a 10,0%.

5. Conclusão

O presente trabalho testou a utilização de um método de amostragem alternativo para a colheita de amostras, e conseqüentemente uma estratégia diferente para a validação de processos de limpeza de equipamentos utilizados no fabrico de formas farmacêuticas semi-sólidas. Esta estratégia baseou-se no uso de um método de amostragem que consistiu na colheita direta de amostra após o seu fabrico, sendo a análise de resíduos feita directamente nesta amostra.

Através de métodos validados por via espectrofotométrica (HPLC), e após a limpeza destes equipamentos, quantificaram-se os níveis residuais contaminantes de dois medicamentos dermatológicos (produtos A e B), apresentados sob a forma de pomada, obtendo-se valores inferiores ao limite de deteção, uma vez que não foram detetados quaisquer resíduos. Estes valores encontram-se de acordo com os critérios de aceitação pré-estabelecidos.

Abaixo apresenta-se uma tabela com os resultados obtidos nesta determinação e respetivos critérios de aceitação.

Tabela 23: Resultados obtidos na determinação de resíduos contaminantes nos produtos A e B e respetivos critérios de aceitação

Produtos	Resíduos Contaminantes			
	EDTA	Substância ativa 1	Substância ativa 2	Substância ativa 3
Produto A	Não detetado			Não detetado
Produto B	Não detetado	Não detetado	Não detetado	
Critérios de Aceitação	10 ppm	$6,4 \times 10^{-4}$ mg/g	$1,0 \times 10^{-2}$ mg/g	$1,0 \times 10^{-3}$ mg/g

Pode-se assim concluir que os possíveis níveis residuais das substâncias ativas e do agente de limpeza (EDTA) transferidos para o produto seguinte, encontram-se em concentrações inferiores relativamente à menor concentração do fármaco capaz de provocar alguma ação terapêutica.

No ensaio de “recovery”, obtiveram-se resultados acima de 70% para as três substâncias ativas e para o agente de limpeza (EDTA) nos dois medicamentos.

Como termo comparativo, apresentam-se na tabela que se segue, tabela 24, os resultados obtidos nos ensaios de “recovery” deste trabalho, e os aquando a técnica de amostragem foi a do método do “swab”.

Tabela 24: Resultados obtidos nos ensaios de “recovery” dos resíduos contaminantes nos produtos A e B, através da estratégia apresentada neste trabalho e do método de amostragem do “swab”

Resultados (%)	Resíduos Contaminantes			
	EDTA	Substância ativa 1	Substância ativa 2	Substância ativa 3
Presente trabalho	82 e 73	90	81	100
Método do “swab”	70	66	77	46

Verifica-se que os valores obtidos de “recovery” neste trabalho são significativamente mais elevados do que os obtidos quando usada a técnica de amostragem tradicional, método do “swab”, oferecendo assim a estratégia utilizada a possibilidade de uma quantificação superior de resíduos contaminantes na validação de limpeza.

A precisão dos resultados, reportada como desvio padrão relativo (RSD), deu abaixo de 2,0%, excepto nos ensaios que envolvem a substância ativa 3, cuja especificação é inferior a 10,0%; ou seja, obtiveram-se valores de acordo com as especificações. Os fatores de tailing e de resolução obtidos também se encontraram de acordo com os critérios de especificação ^[18].

A estratégia utilizada para a validação de limpeza apresenta várias vantagens:

- Obtenção de níveis de “recovery” das substâncias ativas e do agente de limpeza altos
- Eficaz na quantificação de resíduos contaminantes, podendo ser aplicada noutras formas farmacêuticas
- A não necessidade de uso de qualquer material, por exemplo de “swabs”, na amostragem
- Amostragem rápida, não sendo necessária a deslocação extra para o local da colheita
- Não são necessárias paragens por parte da produção para proceder à amostragem

- Não existem custos associados com a amostragem, pois é utilizada a amostra já colhida para a análise do lote

Como desvantagem, constata-se na análise das substâncias ativas, a dificuldade que poderá surgir na separação dos picos correspondentes a estas, uma vez que a amostra contém ativos das duas pomadas sujeitas à validação.

Conclui-se que os resultados obtidos na presente validação do processo de limpeza da unidade de fabrico de vários medicamentos semi-sólidos, asseguram que os procedimentos de limpeza são eficazes, removendo de forma eficiente, até níveis de aceitação pré-determinados, os resíduos de produtos anteriores e resíduos do agente de limpeza, evitando, assim, a contaminação cruzada dos demais produtos da mesma unidade. Deste modo, são asseguradas as Boas Práticas de Fabrico e a segurança dos medicamentos fabricados na mesma unidade.

Bibliografia

1. Guide to inspections validation of cleaning processes, FDA, (<http://www.fda.gov/ICECI/Inspections/InspectionGuides/ucm074922.htm>), consultado a 8 de Novembro de 2011.
2. ([http://www.cpgls.ucg.br/ArquivosUpload/1/File/CPGLS/IV MOSTRA/SADE/SAUDE/Validao dos Processos de Limpeza _ um Olhar na Praticabilidade em Indstrias de Medicamentos.pdf](http://www.cpgls.ucg.br/ArquivosUpload/1/File/CPGLS/IV_MOSTRA/SADE/SAUDE/Validao%20dos%20Processos%20de%20Limpeza%20_%20um%20Olhar%20na%20Praticabilidade%20em%20Indstrias%20de%20Medicamentos.pdf)), consultado a 23 de Novembro de 2011.
3. Tatiana Tatit Fazio, Anil Kumar Singh, Erika Rosa Maria Kedor-Hackmann, Maria Inês Rocha Miritello Santoro, "Quantitative determination and sampling of azathioprine residues for cleaning validation in production área", Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 43 (2007) 1495 – 1498
4. Naoto Fukutsu, Yuichi Sakamaki, Takao Kawasaki, Koichi Saito, Hiroyuki Nakazawa, "LC/MS/MS method for the determination of trace amounts of cefmetazole and cefpodoxime proxetil contaminants in pharmaceutical manufacturing environments", Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 41 (2006) 1243 – 1250
5. Pharmaceutical inspection co-operation scheme, PIC/S, 25 September 2007, ([http://www.gmpcompliance.org/eca_metasearch_search_pics_cleaning validations.html](http://www.gmpcompliance.org/eca_metasearch_search_pics_cleaning_validations.html)), consultado em Janeiro de 2012.
6. ICH Guidance for Industry, Q7A, Good Manufacturing Practice Guidance for Active Pharmaceutical Ingredients, August 2001 (ICH Q7A), (<http://www.fda.gov/downloads/RegulatoryInformation/Guidances/ucm129098.pdf>), consultado a 1 de Dezembro de 2011.
7. O. Sherlock, N. O'Connell, E. Creamer, H. Humphreys, "Is it really clean? An evaluation of the efficacy of four methods for determining hospital cleanliness", Journal of Hospital Infection (2009) 72, 140-146
8. Documentação interna da empresa

9. Wilfredo Resto, Darimar Hernández, Rosamil Rey, Héctor Colón, José Zayas, “Cleaning validation 2: Development and validation of an ion chromatographic method for the detection of traces of CIP-100 detergent”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 44 (2007) 265–269
10. José Zayas, Héctor Colón, Omar Garced, Leyda M. Ramos, “Cleaning validation 1: Development and validation of a chromatographic method for the detection of traces of LpHse detergent”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 41 (2006) 589 – 593
11. EMEA/CHMP/EWP/192217/2009, “Guideline on bioanalytical method validation”, Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP), 21 July 2011
12. Ludwig Huber, USP <1225/1226>/ICH Q2(R1)/GxPcGMP/PIC/S SOP/ ISO 17025/QA/QC/LOD/LOQ/API EP/FDA/OECD/GCP, “Validation of Analytical Methods”, Agilent Technologies
13. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), Center for Veterinary Medicine (CVM), “Bioanalytical Method Validation”, May 2001
14. Madalina Brindusa Boca, Zeno Apostolides, Ethersia Pretoriusa, “A validated HPLC method for determining residues of a dual active ingredient anti-malarial drug on manufacturing equipment surfaces”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 37 (2005) 461 – 468
15. Validação na Indústria Farmacêutica, 3.30.2009, (<http://boaspraticasfarmaceuticas.blogspot.com/2009/03/validacao-na-industria-farmaceutica.html>), consultado em Dezembro de 2011.
16. Guide to inspections of topical drug products, FDA, (<http://www.fda.gov/ICECI/Inspections/InspectionGuides/ucm074933.htm>), consultado a 19 de Novembro de 2011.

17. Guidance on aspects of cleaning validation in active pharmaceutical ingredient plants, APIC, December 2000, (<http://apic.cefic.org/pub/pub-cleaning-validation.pdf>), consultado em Janeiro de 2012.
18. European Pharmacopeia 7.0 – 2.2.46 – “Chromatographic separation techniques”.
19. Xu, Quanyun A.; Trissel, Lawrence A., “Stability - Indicating HPLC Methods for Drug Analysis”, Second Edition, Pharmaceutical press, 2003.
20. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products, “Validation of Analytical Procedure: Methodology”, Step 4, Consensus Guideline, 6 November 1996.
21. Holst, Birgitte; Fugate, Troy e B. LaTart, David; Nassani, Ph. D., Mowafak, “Cleaning Validation”, Institute of Validation Technology, August 2005.
22. Bonner, R. M., “Cleaning, Verification and Validation”, ECA, Documentação de formação em sala dada pela Apifarma.