



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Determinação do teor de Carbono Orgânico Total (TOC):
Metodologia analítica e Aplicações na Indústria Farmacêutica

MARIA ROSEANE DOS ANJOS CLEMENTINO

RECIFE – 2006



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Determinação do teor de Carbono Orgânico Total (TOC):
Metodologia analítica e Aplicações na Indústria Farmacêutica

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas com área de concentração em Produção e Controle de Qualidade de Medicamentos.

MARIA ROSEANE DOS ANJOS CLEMENTINO

Mestranda

PROFº. Dr. PEDRO J. ROLIM NETO

Orientador

RECIFE – 2006



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

LABORATÓRIO DE INVESTIGAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Determinação do teor de Carbono Orgânico Total (TOC)

Métodos analíticos e Aplicações na Indústria Farmacêutica

Clementino, Maria Roseane dos Anjos

Determinação do teor de carbono orgânico total (TOC): metodologia analítica e aplicações na indústria farmacêutica / Maria Roseane dos Anjos Clementino.

– Recife: O Autor, 2006.

77 folhas : il., tab., fig.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Ciências Farmacêuticas, 2006.

Inclui bibliografia, anexo.

1. Água purificada - Análise. 2. Carbono Orgânico Total (TOC). 3. Medicamentos – análise técnica I. Título.

543.3
363.739 4

CDU (2.ed.)
CDD (20.ed.)

UFPE
CCS2006-022



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Recife, 21 de Agosto de 2006.

Dissertação de Mestrado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 21 de Agosto de 2006 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto (**Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco**).

Assinatura: _____

EXAMINADOR INTERNO: Profa. Dra. Miracy Muniz de Albuquerque (**Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco**).

Assinatura: _____

EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Adriano Antunes de Souza Araújo (**Universidade Federal de Sergipe**).

Assinatura: _____



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Celso Pinto de Melo

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

José Thadeu Pinheiro

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Jane Sheila Higino

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Samuel Daniel de Souza Filho

**COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Miracy Muniz de Albuquerque

**VICE-COORDENADOR DE PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Pedro José Rolim Neto

Dedico este trabalho a todos que amo,
Aos meus pais pelo exemplo de força e honestidade
Às minhas irmãs pelo carinho e dedicação ao longo da nossa caminhada
Aos meus sobrinhos que me fazem lembrar todos os dias de como é bom viver
A Napoleão pelo apoio, carinho e incentivo em todos os momentos.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus que me conduz todos os dias.

À minha Família por estarem sempre perto, apesar da distância física que nos separa, em todos os momentos da minha vida.

A Lara por ser um anjo, pelo seu companheirismo, paciência e exemplo de fé.

A Napoleão pela grande ajuda, incentivo, companhia e compreensão durante todo esse tempo que estamos juntos, sempre demonstrando o seu carinho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Pedro Rolim pelo acolhimento, orientação e confiança.

Ao meu co-orientador, Mestre Rui Alencar que me acompanhou e orientou durante este trabalho, concedendo o máximo de informações possível, sempre carinhoso e disponível.

Ao LAFEPE pelo incentivo a pesquisa e disponibilização de materiais e infraestrutura.

A Amanda Oliveira, Coordenadora de Boas Práticas de Fabricação, pelo apoio e amizade.

Aos colaboradores da Divisão de Líquidos e Microbiologia do LAFEPE pela gentileza e apoio ao trabalho.

Um agradecimento especial a Júnior, pela grande ajuda na pesquisa, sempre atencioso e prestativo.

Aos meus amigos André Martins, Elcy Araújo, Sílvia Renata e Vandessa Monteiro pelo apoio e amizade.

A todos que fazem o LAFEPE pelo carinho e convivência. Em especial a André Albuquerque, Flávia Morais, Rosali Ferreira e Zênia Lavra pela colaboração em muitos momentos.

Ao Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE.

A toda equipe do Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos pelo acolhimento.

A todas as pessoas que contribuíram direta ou indiretamente para meu crescimento profissional e pessoal.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
Introdução.....	13
Objetivos.....	15
Revisão Bibliográfica.....	16
Artigo I.....	22
Validação de Limpeza de Equipamentos numa indústria de medicamentos: Estratégia para escolha do “pior caso”	
Artigo II.....	28
Carbono Orgânico Total: Metodologia Analítica e Aplicações para Indústria Farmacêutica	
Artigo III.....	51
Validação do Processo de Limpeza dos Equipamentos na produção da Linha de Gotas	
Conclusões.....	75
Perspectivas.....	76
Referências Bibliográficas.....	77
Anexos.....	
Fluxograma dos Pontos de Amostragem	
Esquema do analisador de TOC	
Certificado de Qualificação do Analisador de TOC	

LISTA DE TABELAS

Artigo I: Validação de Limpeza de Equipamentos numa indústria de medicamentos: Estratégia para escolha do “pior caso”

Tabela 01 – Fator Toxicidade f_T em função da DL_{50}	24
Tabela 02 – Fator Solubilidade em Água f_S em ppm.....	24
Tabela 03 – Fator Dificuldade f_D	24
Tabela 04 – Fator Ocupação f_O	24
Tabela 05 – Número de Medicamentos Fabricados por Área de Produção.....	24
Tabela 06 – Cálculo do WCI – Área de Formas Farmacêuticas Sólidas.....	25
Tabela 07 – Cálculo do WCI – Área de Formas Farmacêuticas Sólidas Antiretrovirais.....	25
Tabela 08 – Cálculo do WCI – Área de Formas Farmacêuticas Líquidas Não Antibióticos.....	25
Tabela 09 – Cálculo do WCI – Área de Formas Farmacêuticas Líquidas – Gotas.....	25
Tabela 10 – Cálculo do WCI – Área de Formas Farmacêuticas Líquidos Antibióticos.....	25
Tabela 11 – Produtos “Pior Caso” para Validação de Limpeza por Área de Produção.....	25

Artigo II: Carbono Orgânico Total: Metodologia Analítica e Aplicação para Indústria Farmacêutica

Tabela 01 – Análise da água ultrapura para condicionamento do aparelho.....	37
Tabela 02 – Resultados da análise do padrão Benzoquinona.....	38
Tabela 03 – Resultados da análise da água ultrapura e da solução padrão de Sucrose 500 µg/L.....	38
Tabela 04 – Resultados das áreas nas análises da água e dos padrões de sucrose e benzoquinona.....	39
Tabela 05 – Resultados da análise da solução padrão de hidrogenoftalato de potássio.....	40
Tabela 06 – Resultados da análise da solução padrão de bicarbonato e carbonato de sódio.....	41
Tabela 07 – Resultados da análise da solução padrão de sucrose pelo método NPOC.....	42
Tabela 08 – Resultados das leituras do TOC da solução contida nos frascos.....	44
Tabela 09 – Porcentagens de recuperação de TOC no béquer e swab.....	45
Tabela 10 – Porcentagens de recuperação do princípio ativo no béquer e swab.....	45
Tabela 11 – Resultados teóricos dos valores de TOC para o paracetamol.....	47
Tabela 12 – Resultados do TOC teórico e prático da solução de Paracetamol.....	47

Artigo III: Validação do Processo de Limpeza dos Equipamentos na produção da Linha de Gotas

Tabela 01 - Dose letal e solubilidade dos produtos fabricados na linha de gotas do LAFEPE.....	64
Tabela 02 - Contagem microbiológica da água de enxágüe da limpeza na linha de produção do paracetamol Lote 1.....	65
Tabela 03 - Contagem microbiológica da água de enxágüe da limpeza na linha de produção do paracetamol Lote 2.....	66
Tabela 04 - Contagem microbiológica da água de enxágüe da limpeza na linha de produção do paracetamol Lote 3.....	66
Tabela 05 – Quantificação do TOC em amostras da água de enxágüe da limpeza na linha de produção do paracetamol dos Lotes 1, 2 e 3.....	67
Tabela 06 – Medidas do pH da água de enxágüe dos equipamentos da linha produção do paracetamol - Lotes 1, 2 e 3.....	68
Tabela 07 – Análise estatística ANOVA das medidas do pH da água de enxágüe dos equipamentos da linha produção do paracetamol - Lotes 1, 2 e 3.....	68
Tabela 08 - Medidas da condutividade da água de enxágüe dos equipamentos da linha produção do paracetamol - Lotes 1, 2 e 3.....	69
Tabela 09 – Análise estatística ANOVA das medidas da condutividade da água de enxágüe dos equipamentos da linha produção do paracetamol Lotes 1, 2 e 3...	69
Tabela 10 - Doseamento por espectrofotometria do resíduo de princípio ativo nas oito amostras dos três lotes analisados.....	71

LISTA DE FIGURAS

Artigo II: Carbono Orgânico Total: Metodologia Analítica e Aplicação para Indústria Farmacêutica

Figura 01 – Curva de calibração obtida durante o teste de calibração com solução de 500 ppb de sucrose.....	39
Figura 02 – Gráfico do resultado da calibração da solução TC de hidrogenoftalato de potássio 1000 mg/mL.....	41
Figura 03 – Gráfico do resultado da calibração da solução padrão IC composta por bicarbonato e carbonato de sódio 1000 µg/L.....	42
Figura 04 - Gráfico do resultado da calibração da solução padrão de sucrose 10.000 µg/L pelo Método NPOC.....	43
Figura 05 – Monitoramento da água purificada (PW) em diversos setores da indústria farmacêutica e contemplando as três estações do ano.....	48

Artigo III: Validação do Processo de Limpeza dos Equipamentos na produção da Linha de Gotas

Figura 01 - Escolha dos pontos de coleta da água de enxágüe.....	57
Figura 02 - Média de TOC da água de enxágüe dos equipamentos da linha produção do paracetamol Lotes 1, 2 e 3.....	67
Figura 3 - Média da variação da concentração dos resíduos do princípio ativo nos diferentes pontos analisados.....	71

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

LAFEPE – Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco

WCI – Índice do Pior Caso

ppm – partes por milhão

ppb – partes por bilhão

TOC – *Total Organic Carbon*

CO₂ – Dióxido de Carbono

PW – Água purificada

WFI – Água para injetáveis

USP – *United States Pharmacopeia*

LD – Limite de Detecção

LQ – Limite de Quantificação

OC – Carbono Orgânico

IC – Carbono Inorgânico

NDIR - infravermelho não-dispersível

NPOC – Carbono Orgânico Não-Purgável

rw - Área da água

rs – Área da Sucrose

rss – Área da Benzoquinona

BPF – Boas Práticas de Fabricação

PMV – Plano Mestre de Validação

RDC - Resolução da Diretoria Colegiada

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

FDA – *Food and Drugs Administration*

CV – Coeficiente de Variação

DP – Desvio Padrão

RESUMO

A água purificada é um insumo de utilização imprescindível em indústrias farmacêuticas e organizações de pesquisas científicas. Uma das maiores dificuldades para os usuários desse tipo de água é saber a sua qualidade. Como cumprimento à exigência legal, de garantir a ausência de contaminantes na água, um conjunto de análises foi substituída pelo uso do monitor de TOC, sigla em inglês para Carbono Orgânico Total, que visa identificar a contaminação da água com a presença de impurezas orgânicas. Método não-específico, técnica rápida e efetiva, as análises do TOC envolvem a oxidação de substâncias orgânicas e a detecção do CO_2 . Este estudo teve por objetivo aplicar o método do TOC no monitoramento da qualidade da água na Indústria Farmacêutica. Desde 1999, a farmacopéia americana United States Pharmacopeia (USP), incluiu como um dos itens de análise de água purificada, a quantificação do TOC, apresentando com limite máximo, 500 ppb ou 0,5 ppm de TOC. O trabalho também contemplou o uso do TOC nas análises para Validação de Limpeza, usada em conjunto a métodos específicos, para testar resíduos de produtos fabricados anteriormente, detergentes químicos, solventes dos produtos, degradantes e contaminantes microbiológicos. Conceituada como parte integrante das Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos – BPF, a validação de limpeza de equipamentos é exigida pela Resolução 210 (Resolução da Diretoria Colegiada), da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Palavras-Chave: Carbono Orgânico Total, água purificada, validação de limpeza, pior-caso

ABSTRACT

The purified water is a component of mandatory use in pharmaceutical industries and scientific research organizations. One of the major difficulties for the users of this type of water is to know its quality. In compliance with the legal requirement of assuring the absence of contaminants in the water, a set of analysis was substituted by the use of the TOC monitor, English initials for Total Organic Carbon, which aims at identifying the water contamination with the presence of organic impurities. Non specific method, rapid and effective technique, TOC analysis oxidates organic substances leads to the formation of CO₂ and the detection. This study have objective to apply the method of TOC to monitoring the water quality in the pharmacist industry. Since 1999, the US American pharmacopoeia (United States Pharmacopoeia), includes as one of the items of water analysis, the TOC quantification, presenting a maximum limit of 500 ppb or 0,5 ppm TOC. This is work also considered the use of TOC in the analysis for validation of equipment cleaning, used in whole the specific method, may be used to test residues of products previously manufactured, chemical detergents, solvents of the products, degradings and microbiological contaminants. Conceived as a part of the Good Medication Manufacturing Practices – BPF, the validation of equipment cleaning for the production of medications is demanded by Resolution 210 (Resolution of the Collegiate Board), of ANVISA (Brazilian National Sanitary Surveillance Agency).

Key-words: Total Organic Carbon, purified water, cleaning validation, worst case.

INTRODUÇÃO

INTRODUÇÃO

A água tem importância fundamental para a indústria farmacêutica, pois além de participar dos processos de limpeza de materiais e superfícies ela pode ser utilizada como veículo em formulações, o que exige uma maior atenção e conhecimento (RIGOLIN/2004).

Nestas indústrias, a tecnologia em sistemas de tratamento de água tem evoluído, para garantir água com grau de pureza cada vez maior, os equipamentos mais comuns para o tratamento da água são os sistemas de deionização, osmose reversa, equipamentos de bi-destilação, porém nenhum destes sistemas são capazes de garantir totalmente a qualidade da água fornecida, e pelo contrário, quando falamos de TOC, sigla em inglês para Carbono Orgânico Total, alguns deles constituem uma fonte deste tipo de contaminação (COUTO/2005).

Análises de TOC envolvem a oxidação de carbono e a detecção do dióxido de carbono produzido pela oxidação. Essa oxidação pode ser induzida por alguns métodos incluindo, oxidação fotocatalítica, oxidação química e combustão por alta temperatura (ARMSTRONG et al/1996).

Este trabalho utilizou o analisador de TOC para monitorar a qualidade da água disponível no sistema de tratamento de água e em pontos de distribuição na indústria. No sistema de tratamento, a água passa por processo de purificação, com a combinação de tecnologias que permite atingir os níveis de qualidade de água necessários. O tempo de estocagem pode ocasionar desenvolvimento de microrganismos e absorção de gás carbônico, o tipo de conexão e o percurso da água podem afetar a qualidade, pois existem pontos em que pode haver estagnação da água (RIGOLIN/2004).

Outro ponto abordado foi o desenvolvimento de uma metodologia para análises do TOC na Validação dos Processos de Limpeza. Na indústria farmacêutica, as Boas Práticas de Fabricação (BPF) exige que a limpeza de equipamentos de produção de medicamentos seja validada (BRASIL/2003). Métodos específicos como Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e Espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta (UV/Vis) são usadas em conjunto com o TOC, que se trata de um método não-específico, pois detecta todos os compostos que contém carbono (CLARK/2001).

Devido ao extenso elenco de produtos fabricados no Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco – LAFEPE, foi necessário agrupar produtos e equipamentos em famílias e

Clementino, M.R.A., Determinação do teor de Carbono Orgânico Total (TOC): Metodologia analítica e Aplicações na Indústria Farmacêutica

escolher o “pior caso” em cada uma delas. Para escolha do “pior caso”, deve atender simultaneamente a aquele de menor solubilidade (fator solubilidade – fs), maior toxicidade (fator toxicidade – ft), maior dificuldade de limpeza (fator dificuldade – fd), além do outro fator relacionado com a ocupação de cada produto da planta (fator ocupação – fo). Nessa dissertação, foi escolhida a linha de gotas para desenvolver a validação do processo de limpeza dos equipamentos.

OBJETIVOS

OBJETIVOS

Objetivo Geral

Verificar a eficiência do método de determinação do TOC como uma técnica de rotina na indústria farmacêutica.

Objetivos Específicos

- Escolha dos produtos para Validação de Limpeza dos Equipamentos na indústria farmacêutica.
- Desenvolver metodologia de análise do Carbono Orgânico Total (TOC) para aplicação no monitoramento da água purificada e na Validação de Limpeza dos equipamentos.
- Validação do Processo de Limpeza dos Equipamentos na produção da Linha de Gotas.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

No atual mercado em que a indústria farmacêutica está inserida, a segurança e eficácia terapêutica são alvos de preocupações constantes das autoridades sanitárias em vários países.

A legislação que rege as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos (BPF) no Brasil é a Resolução da Diretoria Colegiada 210 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, de 04 de agosto de 2003. De acordo com a RDC 210, BPF é o componente da Garantia da Qualidade que assegura que os produtos são consistentemente produzidos e controlados, com padrões de qualidade apropriados para o uso pretendido e requerido pelo registro destes junto ao órgão federal de vigilância sanitária (BRASIL/2003). Relaciona-se a todos os aspectos dentro de uma indústria farmacêutica, desde as instalações e equipamentos até a produção e distribuição, visando assegurar a eficácia e segurança dos produtos. Determina, também, que as etapas críticas dos processos de fabricação e quaisquer modificações significativas devam ser sistematicamente validadas, incluindo processos e procedimentos de limpeza (BRASIL/2003).

O ato de validar garante que o processo produza resultados esperados, dentro das especificações pré-estabelecidas. Dentro desse âmbito destaca-se a Validação dos Procedimentos de Limpeza que desempenha um papel importante, pois, além de atender as exigências legais, visa assegurar que possíveis elementos contaminantes não cheguem ao produto final, evitando a contaminação cruzada entre produtos e a contaminação microbiológica ou por partículas (PERES/2001, ROMANACH/1999, LE BLANC/1999).

O processo de limpeza em uma indústria envolve tanto os equipamentos quanto à área produtiva e é realizada com finalidade de evitar contaminações com o produto anterior, com resíduos da própria limpeza e contaminação microbiológica. O controle da contaminação cruzada é importante, pois ocorrendo tem o potencial de se multiplicar em grande escala (PERES/2001, ROMANACH/1999, LABAN/1997).

De acordo com ROBIN FREDERIC, limpeza pode ser definida como a remoção dos resíduos e contaminantes. Estes podem ser o produto fabricado no equipamento ou os resíduos que se originam do procedimento de limpeza (detergentes/saneantes) ou produtos da degradação resultante do próprio processo de limpeza (FREDRIC/2005).

A validação deve considerar outras situações críticas ou “piores-casos” entre os produtos ou processos representativos para um grupo similar (ZARDO/2003). Elaborar uma lista de todos os produtos em fabricação ou a serem fabricados na unidade industrial. A estratégia é baseada no cálculo do índice *Worst Case Index* (WCI) que considera, simultaneamente, informações de toxicidade, solubilidade, dificuldade de limpeza além da taxa de ocupação de cada produto em cada unidade (ALENCAR et al/2006). Tipicamente, os produtos são agrupados de acordo com a formulação e dosagem, incluindo considerações de potência, toxicidade e solubilidade (JÖNCK/2002).

A verificação da limpeza pode ser feita pelo método visual e pela coleta de amostras do enxágüe ou com o uso de *swab* (LE BLANC/1999, ROMANACH/1999).

A inspeção visual é recomendada como primeiro passo antes de qualquer fabricação e depende da habilidade dos inspetores em perceber a presença de resíduos a olho nu. Se os pontos difíceis de limpar são de difícil acesso para a inspeção visual, o uso de enxágüe ou *swab* é recomendado (ZARDO/2003, COOPER/2004). Para se fazer a escolha do método de coleta alguns artigos mostram que amostras retiradas na última lavagem são as mais adequadas para a análise. A sua principal vantagem é que cobre grandes áreas e torna possível, portanto, a amostragem em locais de difícil alcance. Os solventes utilizados para uso com o *swab* são selecionados de acordo com a solubilidade e a estabilidade química do material a ser limpo, enquanto seus volumes são estabelecidos de acordo com as dimensões do equipamento (COOPER/2004).

Os métodos de análise devem levar em consideração não somente as substâncias ativas, mas também a possível interferência dos excipientes, agentes de limpeza, temperatura, e outras condições utilizadas durante o processo de limpeza (KAISER/2005, McLAUGHLIN/2002).

A escolha da técnica usada para analisar uma amostra particular é primordial, ela deve ser apropriada para medir o analito abaixo do limite de aceitação. Para isso têm-se métodos específicos e não-específicos muitos destes são complementares entre si (KAISER/2005).

Um método específico é aquele que detecta um composto original na presença de contaminantes potenciais. Alguns exemplos de métodos específicos são CLAE, cromatografia iônica, espectrofotometria, eletroforese capilar e outros métodos cromatográficos (McLAUGHLIN/2002). Já os métodos não-específicos são aqueles que detectam compostos

que produzem uma determinada resposta. Alguns exemplos são o carbono orgânico total (TOC), o pH e a condutividade (KAISER/2005).

Outra questão crítica da validação de limpeza é a definição do limite de aceitação. Este dado deve ser calculado levando em consideração o produto manipulado, os agentes de limpeza utilizados, o produto subsequente e o método de amostragem. Estes critérios não devem ser alterados no decorrer da realização dos testes, pois caso isso ocorra, o processo é invalidado (JÖNCK/2002).

TOC é um método não-específico, rápido e efetivo que além de testar a eficiência da limpeza de resíduos de produtos fabricados anteriormente, detergentes químicos, solventes dos produtos, degradantes e contaminantes microbiológicos é usado para monitorar a qualidade da água (BISUTTI/2004).

A validação de processos críticos dentro da indústria farmacêutica é requisito imprescindível dentro das Boas Práticas de Fabricação de medicamentos e para garantia de qualidade dos produtos fabricados. Dentre estes processos críticos estão os sistemas de tratamento de água e processos de validação de limpeza. No primeiro caso, devido à água ser um dos maiores insumos usados pela indústria farmacêutica e pode estar presente como um veículo, ou usada para reconstituição de produtos, durante síntese, produção, produto final ou como um agente de limpeza para equipamentos, materiais de embalagem primária, etc. (FDA/2006, LE BLANC/1999).

Na indústria farmacêutica a água ultrapura é geralmente produzida pelo tratamento de múltiplos estágios no fornecimento da água potável. Durante o tratamento da água de suprimento para produzir água ultrapura, os compostos orgânicos são removidos através de uma combinação de alguns ou todas as seguintes técnicas: osmose reversa, microfiltração, troca de íons. Estes removerão uma grande parte dos contaminantes, deixando pequenas quantidades de uma ampla variedade de impurezas (VENERANDA/2004, WHITEHEAD/2005).

Os compostos orgânicos na água fornecida ocorrem tanto naturalmente quanto são produzidos pelo homem. As fontes dos compostos produzidos pelo homem incluem o lixo industrial e o lixo doméstico, como detergentes, solventes e óleos, juntamente com produtos agroquímicos como fertilizantes, herbicidas e pesticidas (BRASIL/2002, FILHO/2004, WHITEHEAD/2005).

Visto que a água é tratada para torná-la adequada ao uso doméstico ou industrial, muitas das impurezas são removidas, porém outras são introduzidas, por exemplo, plastificantes de tubos e tanques plásticos. Outros compostos são introduzidos através de produtos químicos de tratamento, como cloro ou ozônio (JENKINS et al/1996, FILHO/2004, WHITEHEAD/2005).

O TOC substitui os testes de impurezas (metais pesados, cloreto, nitrogênio de nitrato, nitrogênio de nitrito, sulfato, amônia, substâncias redutoras) acidez, alcalinidade e resíduo pela evaporação (USP/2002).

A análise de TOC representa a verificação de um terceiro aspecto de qualidade até então não quantificado, o aspecto orgânico da água (COUTO/2005).

TOC é uma medida indireta do carbono, através de moléculas orgânicas presentes em água ultrapura. O TOC possui limite para água purificada determinado pela USP para ser 500 ppb e o limite para água injetável de 50 ppb (ALEIXO/2005, JENKINS et al/1996, USP/2002).

As análises de TOC envolvem a completa oxidação de orgânicos e medição do dióxido de carbono (CO_2) produzido (BISUTTI et al/2004, CLARK/2001, THOMAS et al/1999).

Vários métodos de oxidação e de medição de CO_2 são usados em diferentes combinações em alguns analisadores de TOC. Essa oxidação pode ser induzida por alguns métodos incluindo oxidação fotocatalítica, oxidação química e combustão por alta temperatura (JENKINS/1996).

Na oxidação química são usadas soluções de cromato ou persulfato para oxidar o carbono orgânico (BISUTTI et al/2004). A primeira é a oxidação fotocatalítica, onde é adicionado ácido fosfórico para reduzir o pH em aproximadamente 2 a 3. Com essa baixa do pH, é liberado o carbono inorgânico presente em forma de CO_2 , que é levado pelo gás carreador e então detectado pelo infravermelho não-dispersível (NDIR). Uma solução de persulfato é adicionada a amostra, na presença de radiação UV, o carbono restante é oxidado a CO_2 , que altera a condutividade da água, registrada por condutivímetro, convertido em TOC e detectado pelo NDIR. A oxidação por UV usa a radiação para oxidar o composto orgânico presente na amostra (BRASIL/2003, McLAUGHLIN/2002).

A oxidação catalítica por alta temperatura (680 – 1000°C) que oxida a amostra pelo aquecimento, junto com um ácido. O carbono obtido é arrastado por gás até um detector NDIR,

para efetuar a leitura e o envio do resultado para um processador para informar o resultado da análise (McLAUGHLIN/2002, WALLACE/2004).

No método direto, o TOC presente na amostra é quantificado em duas etapas. A primeira remove o Carbono Inorgânico (Inorganic Carbon - IC) por meio de tratamento ácido para quantificar o Carbono Orgânico (OC). A segunda etapa é usada a oxidação química para determinar o conteúdo de OC. No método indireto, a quantidade de TOC é obtida pela subtração matemática do conteúdo de IC da medida de Carbono Total (Total Carbon - TC). TC é quantificado pela oxidação de todo o carbono presente, onde IC é medido após tratamento ácido ou pela decomposição após eliminação de OC.

Da mesma maneira, porém em outras palavras JENKINS et al, descreveram as análises realizadas pelo equipamento de TOC, que podem ser feitas usando um dos dois métodos: TOC ou Carbono Orgânico Não-Purgável (NPOC). No método TOC a concentração de TOC pode ser determinada pela subtração da concentração de IC pela de TC. Essa subtração é feita pelo equipamento de análise de TOC (Equação 01).

No método NPOC, a concentração de TOC pode ser determinada diretamente, usando outro procedimento. Nesse caso, a amostra é acidificada e borbulhada com gás purificado para remover o componente IC (Equação 02). A amostra é então analisada para obter a concentração de TC, como descrito a seguir. NPOC refere especialmente a carbono orgânico não-volátil, que não é eliminado pela evaporação durante o processo de borbulhamento (CLARK/2001, USP/2002).

$$TC = TOC + IC$$

Equação 01

$$NPOC = TOC - \text{purgáveis}$$

Equação 02

Na quantificação do TC, o tubo da combustão é preenchido pelo catalisador e aquecido a 680°C. O gás de arraste é fornecido neste tubo com taxa de fluxo de 150 ml/min. Quando a amostra é introduzida no tubo de combustão TC pelo injetor, o componente TC da amostra (TOC e IC) sofrem combustão para formar CO₂. O gás de arraste leva o produto da combustão (CO₂) percorre a embarcação da reação do IC e é esfriado e secado por um desumidificador. É retirado o cloro pela célula de halogênio e então o CO₂ é detectado pelo NDIR. O detector gera um sinal

que forma um pico e a área é calculada por um processador de dados. O pico é proporcional à concentração do TC na amostra (Anexo 01).

Para quantificar o IC, a amostra é introduzida pelo injetor dentro do vaso de reagente IC (contém reagente IC – ácido fosfórico). Apenas o componente IC na amostra é decomposto para formar CO_2 que será detectado (Anexo 01).

Para utilização na indústria farmacêutica os níveis de IC são geralmente muito baixos e processos que o removem não são usualmente requisitados. Apesar da multiplicidade de técnicas de medição do TOC, cada metodologia deverá demonstrar que é apropriada para a finalidade pretendida e, portanto deverá cumprir requisitos de confiabilidade dos resultados (JENKINS et al/1996).

Os instrumentos para medição do TOC devem, de acordo com a USP 29, passar pelo comumente denominado “System Suitability Test”, que consiste em analisar soluções com o valor conhecido do TOC. Tais soluções são preparadas para se obter uma amostra de 500 ppb de sacarose (facilmente oxidável) e 500 ppb de *p*benzoquinona (difícil de oxidar, pelo fato de conter anéis aromáticos em sua fórmula estrutural) (ALEIXO/2005).

O TOC não fornecerá a composição exata das impurezas na água, nem o grau de uma impureza específica. Porém, o TOC é o mais perto que se pode chegar no momento, de um indicador universal para a presença de impurezas orgânicas. Assim, um valor de TOC oferecerá uma medida confiável de que a contaminação orgânica está abaixo de um determinado nível (WHITEHEAD/2005).

Em alguns tipos de analisadores a luz UV oxida a maioria das substâncias orgânicas presentes, transformando-as em espécies condutoras. Este aumento na condutividade é utilizado para monitorar o TOC da água fornecida. As grandes vantagens práticas desta abordagem são que a totalidade da água é monitorada e as leituras são contínuas e quase instantâneas (WHITEHEAD/2005).

O monitoramento de TOC deve refletir a pureza imediata da água que está preste a ser coletada da unidade. Isto é fácil com monitores de resistividade que possuem uma resposta muito rápida, porém não é o caso dos monitores de TOC de corrente lateral originados de projetos industriais que coletam amostras separadas para o processamento (VENERANDA/2004).

ARTIGO I

Publicado:

Revista Brasileira de Farmácia, 87(1): 2, 2006

Validação da limpeza de equipamentos numa indústria de medicamentos: estratégia para escolha do "pior caso"

Cleaning validation of equipments in medicines industry: strategy to select the "worst case"

¹João Rui Barbosa de Alencar^{1,2}, Maria Roseane dos Anjos Clementino^{1,3} & Pedro José Rolim Neto³

RESUMO – A validação do processo de limpeza é parte integrante do conjunto de normas que compõem as boas práticas de fabricação de medicamentos. Processos de validação de limpeza são conduzidos de modo a assegurar que resíduos de produtos fabricados estejam dentro dos limites aceitáveis após a execução dos procedimentos de limpeza. Estratégias de agrupamento por produtos na validação de limpeza têm sido utilizadas, onde um grande número de produtos similares são fabricados nos mesmos equipamentos e que utilizam os mesmos procedimentos de limpeza. Este trabalho apresenta uma estratégia para escolha do produto "pior caso" em uma indústria farmacêutica (LAFEPE* (Recife - PE, Brazil)) formada por várias unidades de produção. A estratégia é baseada no cálculo de um índice que usa simultaneamente informações de toxicidade, solubilidade, dificuldade de limpeza além da taxa de ocupação de cada produto em cada unidade. Os produtos selecionados como pior caso foram mebendazol comprimidos para a unidade de formas farmacêuticas sólidas, zidovudina+lamivudina para a unidade de formas sólidas anti-retrovirais, paracetamol para a unidade de formas líquidas-gotas, sulfametoxazol+trimetoprima para a unidade de formas líquidas antibióticas e mebendazol para a unidade de formas líquidas não antibióticas.

PALAVRAS-CHAVE – Validação de limpeza, medicamentos, pior-caso, estratégias de agrupamento de produtos.

SUMMARY – The cleaning validation is integrant part of the laws of good manufacturing practices of medicines. Cleaning validation procedures are carried out in order to assure that residues of are within acceptable limits after the cleaning process. Product grouping strategies for cleaning validation it has been utilized where there are a large number of similar products made on the same equipment and cleaned using the same cleaning standard operating procedures. This work presents a strategy to choice the "worst case" product in a pharmaceutical industry (LAFEPE* (Recife - PE, Brazil)) formed by several units of production. The strategy is based calculating an index that uses simultaneously information of toxicity, solubility, cleaning difficulty besides the occupation tax of each product in the unit. The products selected as "worse case" were: mebendazole tablets to solid pharmaceutical forms unit, zidovudine+lamivudine to antiretroviral unit, paracetamol to liquid pharmaceutical forms-drops, sulfamethoxazole + trimethoprim to antibiotic liquid pharmaceutical forms unit and mebendazole to liquid pharmaceutical not antibiotics forms unit.

KEYWORDS – Cleaning validation, medicines, worst-case, product grouping strategies.

INTRODUÇÃO

Os processos farmacêuticos utilizam unidades de fabricação multipropósito que como tais, utilizam uma mesma unidade de fabricação ou conjunto de equipamentos para a produção de vários medicamentos. Nestas unidades deve estar assegurado que os resíduos do produto recém-fabricado, ainda porventura existentes após a limpeza dos equipamentos, não contaminem o produto seguinte. Este é um requisito imprescindível

dentro das boas práticas de fabricação de medicamentos, a validação de limpeza dos equipamentos e garantia da ausência de contaminação cruzada. Uma das características principais da validação de limpeza é que ela envolve tanto o produto finalizado quanto próximo produto a ser fabricado no equipamento já limpo. Logo, a sequência com que se fabricam os produtos nestas unidades, influência a validação de limpeza da unidade multipropósito. Trata-se de um processo complexo, moroso, que envolve investimentos e resultados a longo prazo.

Recebido em 08/9/2005

¹Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A - LAFEPE, Recife - PE, Brasil

²Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ - Centro de Tecnologia - Escola de Química- Ilha do Fundão, Bloco E, 21949-900 - Rio de Janeiro - RJ - Brasil

³Universidade Federal de Pernambuco - UFPE - Depto. Ciências Farmacêuticas - Av. Prof. Artur de Sá, S/N - Cidade Universitária - 50740-521 - Recife - PE-Brasil

Numa planta farmacêutica onde são fabricados n produtos, é natural que se pretenda validar a limpeza de todos os processos. Porém a dificuldade se avulta à medida que n cresce, uma vez que, crescem as possibilidades de novas seqüências de fabricação e com elas inúmeras situações distintas ao se considerar o produto fabricado e o produto subsequente. Estima-se que, numa planta onde são fabricados n produtos, o número de possibilidades para se validar a limpeza de equipamentos seja da ordem de $n! / (n-2)!$, onde $n!$ é o fatorial do número n dado por $n.(n-1).(n-2)$. 3.2.1. Numa unidade que fabrica 5 produtos, o número de possibilidades para se validar a limpeza de todos os processos é 120 situações.

Diante do vultoso trabalho de se validar a limpeza de todos os processos de fabricação, passou-se a admitir a escolha de um produto, chamado de "pior caso" para representar a limpeza de todos os equipamentos da unidade; neste caso, assume-se que a aprovação da limpeza para o pior caso, ensinará a aprovação dos demais produtos fabricados na unidade. Trata de uma simplificação da validação dos processos de limpeza, atualmente aceitos dentro dos requisitos de boas práticas de fabricação.

Várias metodologias de validação de limpeza de equipamentos têm sido testadas (Mazonakis *et al*, 2002; Westman & Karisson, 2000; Mirza *et al*, 1999; Segretario *et al*, 1998; Hwang, R-C. *et al*, 1998; Shea *et al*, 1996; Alencar *et al*, 2004; Alencar *et al*, 2005), porém cada indústria tem desenvolvido seus próprios critérios e metodologias (Agalloco, 1992). Muitos critérios são utilizados para a escolha do pior caso, como o produto menos solúvel, ou o mais tóxico, ou o mais difícil de limpar, ou a inclusão de novos produtos, etc. Poucos trabalhos abordam a sistemática de se escolher um produto para representar o pior caso numa validação de limpeza. Em raríssimos estudos tratando sobre o assunto, LeBlanc (2001a, 2001b, 2004) aborda o assunto de forma sistemática e discute as vantagens e desvantagens de se eleger produtos para representar um grupo de outros. O objetivo deste trabalho é apresentar uma estratégia utilizada para seleção do "pior caso" na validação de limpeza dos equipamentos dos processos de fabricação do LAFEPÉ* - Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A (Recife - PE, Brasil) reunindo simultaneamente vários critérios de seleção e possibilitando a redução do tempo para validação de limpeza dos seus processos e conseqüente redução dos custos envolvidos.

METODOLOGIA

A estratégia para escolha do pior caso para validação de limpeza adotada neste trabalho, se baseia na idéia de Rodricks (1984) que estabeleceu uma classificação para dar prioridade no gerenciamento dos riscos do uso de substâncias químicas. Naquele trabalho, um índice de risco foi criado, baseado num sistema de pontos que classifica as substâncias químicas segundo os seguintes fatores de avaliação: toxicidade aguda, carcinogenicidade, mutagenicidade, teratogenicidade, persistência no meio ambiente, bioacumulação, efeitos estéticos e efeitos adversos crônicos. Para cada um destes fatores uma escala de pontos foi atribuída em função da magnitude do fator e a sua repercussão no índice de risco final. Multiplicando-se os pontos obtidos nas

escalas indicadas um índice de risco é calculado. Quanto maior o valor numérico obtido, maior o potencial de dano e maior a necessidade de uma ação, isto é, o índice de risco fornece uma base para a classificação e o estabelecimento de medidas prioritárias de controle. No presente trabalho, reuniu-se fatores que foram julgados importantes na validação de limpeza de um processo de produção de medicamentos. Da mesma forma que no trabalho de Rodricks (1984), uma escala de pontos foi atribuída a cada um destes fatores representando a magnitude de cada um dentro de uma escala. Ao final os fatores foram reunidos em torno de um índice, o qual chamamos de índice WCI (*Worst Case Index*), cuja magnitude do número obtido, representa o quanto um determinado produto pode ser representar a validação de limpeza de um grupo de medicamentos fabricados numa unidade multipropósito. Os fatores considerados importantes para escolha do pior caso na validação de limpeza, foram:

fS - Solubilidade do fármaco em água expresso em ppm

fT - Toxicidade do fármaco representado pela dose letal (DL50)

fD - Fator representando o grau de dificuldade de limpeza dos equipamentos

fO - Fator de ocupação de um determinado medicamento na linha de produção

Os dois primeiros falam por si e estão relacionados com a validação de limpeza uma vez que quanto menos solúvel em água for um determinado fármaco maior será a sua contribuição no índice WCI e vice versa; da mesma forma, quanto mais tóxico (menor DL50) for um determinado fármaco, maior sua contribuição no índice final WCI. Os parâmetros toxicidade e solubilidade nem sempre estiveram disponíveis na forma numérica nas fontes consultadas. As solubilidades, por exemplo, normalmente são expressas nas farmacopéias (Brasil, 1998; USA, 1999) de forma descritiva e em função da quantidade de solvente para solubilizar uma determinada quantidade de soluto. Para uniformizar números e expressões relativas a solubilidade, e em seguida aplicar a tabela de pontuação dos fatores, fez-se necessário definir e estabelecer uma tabela de referência para enquadrar ou cada expressões descritivas de solubilidade para depois poder-se aplicar a tabela de pontuação requerida para o cálculo de WCI. A toxicidade dos fármacos foi comparada através da DL50, cujos dados estiveram quase sempre disponíveis para ratos ou camundongos.

Com relação aos demais fatores, *fD* e *fO*, a relação não é tão óbvia. No caso de *fD*, este refere-se a experiência acumulada pelos operadores com cada produto ao se executar os procedimentos de limpeza, sendo que a pontuação atribuída pelos próprios operadores se relaciona com a dificuldade de limpar os equipamentos, isto é, quanto maior a pontuação atribuída a determinado produto, maior a dificuldade operacional de se executar os procedimentos de limpeza para o mesmo. No caso de *fO*, este se refere a um fator relacionado com o quanto um produto ocupa determinada linha de produção, isto é, está relacionado ao número de lotes produzidos de um determinado medicamento, o que indiretamente, dá uma idéia do quanto os procedimentos de limpeza foram executados para um determinado produto e ainda da probabilidade que um produto que se fabrica muito de possibilitar contaminação cruzada

de outros produtos, uma vez que um produto que pouco se fabrica possui uma probabilidade menor de contaminação de outros produtos que aqueles cuja produção é menor. Esta é a lógica da escolha deste fator.

As Tabelas I, II, III e IV apresentam a pontuação a ser atribuída para cada fator dentro da escala de cada parâmetro.

Tendo definido os fatores, o índice WCI pode ser calculado de acordo com a equação 1.

$$WCI = \frac{f_r \cdot f_o \cdot f_d}{f_s} \quad \text{Equação (1)}$$

O processo farmacêutico estudado

A indústria farmacêutica envolvida no presente estudo - LAFEPE® (Recife - PE - Brasil), possui no seu elenco de produção 48 medicamentos distribuídos conforme as áreas de produção especificadas na Tabela V (LAFEPE, 2004). Por imposição da legislação sanitária (Brasil, 2003), alguns medicamentos só podem ser produzidos em áreas específicas e segregadas, como

é o caso dos penicilâmicos, cefalosprínicos, não beta lactâmicos. Na indústria estudada, em cada uma destas áreas especiais só é fabricado um único produto, razão pela qual, estas áreas não serão consideradas na determinação do pior caso, uma vez que não há como considerar contaminação cruzada nestas áreas, ou melhor, o pior caso é o próprio produto fabricado. Também não foi considerada a área de tuberculostáticos, uma vez que, nesta unidade também só é fabricado um produto, em concentrações distintas. Na determinação do "pior caso" serão consideradas as áreas de sólidos, sólidos antirretrovirais, líquidos não antibióticos, líquidos não antibióticos na forma de gotas e líquidos antibióticos e será eleito um produto para cada uma dessas áreas como "pior caso" para validação de limpeza. Com isso espera-se que o número de produtos, cuja validação de limpeza deve ser efetuada, deverá ter 9 produtos, um por área de produção ao invés de 48 possíveis.

RESULTADOS

Inicialmente foi feita uma compilação de todos os dados necessários para a determinação dos fatores quem compõem o índice WCI. O Anexo 1 (pág. 18) deste trabalho apresenta estes dados. De posse des-

TABELA I
Fator Toxicidade f_r em função da DL_{50}

DL_{50} (oral-ratos) - mg/kg	Classificação	Pontos - f_r
$DL_{50} < 200$	Alta Toxicidade	3
$200 < DL_{50} < 2000$	Moderada Toxicidade	2
$DL_{50} > 2000$	Baixa Toxicidade	1

TABELA II
Fator Solubilidade em Água f_s em ppm

Termo Descritivo	Solubilidade (S) em água (em ppm)	Classificação	Pontos - f_s
Muito Solúvel	$S > 1.000.000$	Alta Solubilidade	3
Facilmente Solúvel	$100.000 < S < 1.000.000$		
Solúvel	$33.000 < S < 100.000$		
Ligeiramente Solúvel	$10.000 < S < 33.000$	Moderada Solubilidade	2
Pouco Solúvel	$1.000 < S < 10.000$		
Muito Pouco Solúvel	$100 < S < 1.000$	Baixa Solubilidade	1
Praticamente Insolúvel ou Insolúvel	$S < 100$		

TABELA III
Fator Dificuldade f_d

Pontos - f_d	Dificuldade de Limpar
4	Muito difícil de limpar
3	Difícil de limpar
2	Dificuldade média de limpar
1	Fácil de limpar

TABELA IV
Fator Ocupação f_o

Pontos - f_o	Quantidade (lotes / ano)
5	Acima de 200 lotes
4	Entre 151 e 200 lotes
3	Entre 101 e 150 lotes
2	Entre 51 e 100 lotes
1	Até 50 lotes

TABELA V
Número de Medicamentos Fabricados por Área de Produção

Área	Número de Produtos Fabricados
Sólidos	18
Sólidos Anti-retrovirais	8
Tuberculostáticos	2
Sólidos Penicilâmicos	1
Sólidos Cefalosporínicos	1
Sólidos Não Beta lactâmicos	1
Líquidos Não Antibióticos	7
Líquidos Não Antibióticos - Gotas	3
Líquidos Antibióticos	7
Total de Produtos: 48	

TABELA VI
Cálculo do WCI – Área de Formas farmacêuticas Sólidas

Produto	f_s	f_t	f_o	f_d	WCI
Mebendazol	1	3	3	1	9,0
Captopril	3	1	2	5	3,33
Sulfametoxazol + Trimetoprima	1	1	3	1	3,0
Glibenclamida	1	1	2	1	2,0
Ácido Ascórbico	1	1	1	2	2,0
Carbonato de Cálcio	1	1	2	1	2,0
Hidroclorotiazida	2	1	2	2	2,0
Metoclopramida	1	1	2	1	2,0
Clorpropamida	2	1	2	1	1,0
Metildopa	2	1	2	1	1,0
Cimetidina	3	1	2	1	0,67
Dipirona	3	1	2	1	0,67
Furosemida	3	1	2	1	0,67
Isoniazida	3	1	2	1	0,67
Pirazinamida	3	1	2	1	0,67
Propranolol	3	1	2	1	0,67
Ácido Acetilsalicílico	2	1	1	1	0,5

TABELA VIII
Cálculo do WCI – Área de Formas Farmacêuticas Líquidas Não Antibióticos

Produto	f_s	f_t	f_o	f_d	WCI
Mebendazol	1	3	3	1	9,0
Hidróxido de Alumínio	1	1	3	1	3,0
Polivitaminas	3	1	2	2	1,33
Salbutamol	3	1	2	2	1,33
Pirazinamida	3		2	1	0,67
Zidovudina	3	1	2	1	0,67

TABELA X
Cálculo do WCI – Área de Formas Farmacêuticas Líquidos Antibióticos

Produto	f_s	f_t	f_o	f_d	WCI
Sulfametoxazol + Trimetoprima	1	1	3	1	3,0
Eritromicina	1	1	2	1	2,0
Metronidazol	2	1	2	1	1,0
Cloranfenicol	2	1	2	1	1,0
Rifampicina	3	1	2	1	0,67

ta compilação foi feito o enquadramento de cada parâmetro e de cada produto nas Tabelas I, II, III e IV. As Tabelas VI, VII, VIII, IX e X apresentam o valor

TABELA VII
Cálculo do WCI – Área de Formas Farmacêuticas Sólidas Antiretrovirais

Produto	f_s	f_t	f_o	f_d	WCI
Zidovudina + Lamivudina	2	1	2	2	2,0
Zidovudina	2	1	2	1	1,0
Didanosina	3	1	2	1	0,67
Estavudina	3	1	2	1	0,67
Indinavir (Sulfato)	3	1	2	1	0,67
Lamivudina	3	1	2	1	0,67
Zalcitabina	3	1	2	1	0,67

TABELA IX
Cálculo do WCI – Área de Formas Farmacêuticas Líquidas - Gotas

Produto	f_s	f_t	f_o	f_d	WCI
Paracetamol	1	1	2	2	4,0
Metoclopramida	1	1	2	1	2,0
Dipirona	3	1	2	1	0,67

TABELA XI
Produtos "Pior Caso" para Validação de Limpeza por Área de Produção

Área de Fabricação	Produto "Pior caso"
Sólidos	Mebendazol
Sólidos Anti-retrovirais	Zidovudina + Lamivudina
Tuberculostáticos	Isoniazida + Rifampicina
Sólidos Penicilínicos	Ampicilina
Sólidos Cefalosporínicos	Cefalexina
Sólidos Não Beta lactâmicos	Rifampicina
Líquidos Não Antibióticos	Mebendazol
Líquidos Não Antibióticos – Gotas	Paracetamol
Líquidos Antibióticos	Sulfametoxazol + Trimetoprima

de cada fator, f_s , f_t , f_d e f_o , respectivamente para as áreas de produção de formas farmacêuticas sólidas, formas sólidas anti-retrovirais, formas farmacêuticas líquidas não antibióticas, formas farmacêuticas líquidas-gotas e formas farmacêuticas líquidas antibióticas. Nessas tabelas podemos observar também o valor calculado para o índice WCI de cada produto o qual está apresentado em ordem decrescente do maior para o menor valor de WCI. Na Tabela VI, que reúne produtos fabricados na unidade de formas sólidas, o medicamento que apresenta o maior WCI é mebendazol, pesando sobre ele, um produto de toxicidade elevada, baixa solubilidade além de ser um produto de difícil limpeza segundo experiência dos operadores da área. Na sequência, encontra-se o captopril, que a despeito de apresentar baixa toxicida-

de, alta solubilidade e moderada dificuldade de limpeza, apresenta a mais alta taxa de ocupação da unidade.

Na Tabela VII, que reúne produtos fabricados na unidade de formas sólidas anti-retrovirais e o medicamento que apresenta o maior WCI é zidovudina+lamivudina. Nesta unidade os produtos apresentaram fatores bem semelhantes, pesando sobre este produto, principalmente, uma taxa de ocupação diferenciada em relação aos demais produtos. Na sequência, encontra-se a zidovudina, que reúne praticamente as mesmas propriedades da associação zidovudina+lamivudina mas, cujo fator de ocupação foi menor.

A Tabela VIII reúne produtos fabricados na unidade de formas líquidas não antibióticas e o medicamento que apresenta o maior WCI é novamente o mabendazol suspensão, pesando sobre ele os mesmos motivos que na unidade de formas farmacêuticas sólidas: alta toxicidade, baixa solubilidade, dificuldade de limpeza pelos operadores além de uma taxa de ocupação moderada. Na linha de líquidos-gotas, o produto eleito como maior valor do índice WCI foi o paracetamol solução. No valor do WCI, pesou a baixa solubilidade em água e a moderada dificuldade de limpeza dos equipamentos pelos operadores além da alta taxa de ocupação da unidade por este produto. Na unidade de formas líquidas antibióticas, o maior índice WCI recaiu sobre o produto sulfametoxazol+trimetoprima, uma vez que reuniu baixa solubilidade, elevada dificuldade de limpeza dos equipamentos pelos operadores.

De posse da eleição do produto com maior índice WCI em cada área produtiva, a indústria farmacêutica aqui estudada, tem como referência para validação dos processos de limpeza os produtos listados na Tabela XI.

CONCLUSÕES

Estratégias de agrupamento por produtos na validação de limpeza têm sido utilizadas onde um grande número de produtos similares são fabricados nos mesmos equipamentos e que utilizam os mesmos procedimentos de limpeza. Este trabalho apresenta uma estratégia para escolha do produto "piores casos" do complexo industrial farmacêutico - LAFEPE® (Recife - PE, Brasil) formado por várias unidades de produção. A estratégia é baseada no cálculo de um índice - WCI - que considera, simultaneamente, informações de toxicidade, solubilidade, dificuldade de limpeza além da taxa de ocupação de cada produto em cada unidade. Trata-se de uma sistemática simples que aborda e avalia vários parâmetros críticos da validação de limpeza através do cálculo de índice e que certamente possibilita a obtenção de resultados de validação de limpeza dos processos de fabricação a curto, médio e longo prazo além de um menor custo envolvido nestas atividades.

REFERÊNCIAS

1. Agalloco, J., "Points to Consider" in the Validation of Equipment Cleaning Procedures, *Journal of Parenteral Science & Technology*, 46 (5), pp. 163-168, 1992.
2. Alencar, J.R.B., Ramos, S.V.V., Machado, L.B., Oliveira, A.T.C., Mon-

teiro, D. B., Medeiros, F.P.M., Rolim Neto, P.J., Validação de Limpeza de Zidovudina: Estratégia Aplicada ao Processo de Fabricação de Medicamentos anti-retrovirais, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 40(1), pp. 1-8, 2004.

3. Alencar, J.R.B., Jimenez, R.C.C., Santos, R., Ramos, S.V.V., Oliveira, M.A.O., Oliveira, A.T.C., Lima, L.G., Rolim Neto, P.J., Validação de Limpeza de Equipamentos Multipropósito Para Formas Farmacêuticas Líquidas: Estudo de Caso da Zidovudina Xarope, submetido à *Acta Farmacêutica Bonaerense*, ainda não publicado, 2005.
4. Brasil (2003), Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução RDC Nº210 de 04.08.2003, Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos, Diário Oficial da União de 14.08.2003.
5. Brasil (1998), Ministério da Saúde, Decreto Nº96.607 de 30.08.1998, Farmacopéia Brasileira, 4a Ed, Parte 1, Diário Oficial da União de 31.08.1998, Suplemento.
6. Hwang, R.C., Kowalski, D.L., Truelove, J.E., Definição do Processo e Análise dos Dados para Validação de Limpeza, *Pharmaceutical Technology*, Ed. Brasileira, 2 (5), pp 4-8, 1998.
7. Lafepe (2004), Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A, Memento Terapêutico, 2ª Edição, Ed. CEPE, Recife-PE, Brasil, 250p.
8. LeBlanc, D.A., Product Grouping Strategies for Cleaning validation; Cleaning Memo for July 2001, Capturado em 03.set.2001, (2001a). Disponível na Internet <http://www.cleaningvalidation.com>.
9. LeBlanc, D.A., Equipment Grouping Strategies for Cleaning validation; Cleaning Memo for August 2001, Capturado em 03.set.2001, (2001b). Disponível na Internet <http://www.cleaningvalidation.com>.
10. LeBlanc, D.A., Selecting Worst-Case Products for Grouping; Cleaning Memo for October 2004, Capturado em 13.nov.2004. Disponível na Internet <http://www.cleaningvalidation.com>.
11. Mazonakis, N.E., Karathanassi, P.H., Panagiotopoulos, D.P., Harnotakidi, P.G., Melissos, D.A., Cleaning validation in the toiletries industry, *Analytica Chimica Acta*, 467, pp 261-266, 2002.
12. Mirza, T., Lunn, M.J., Keeley, F.J., George, R.C., Bodenmiller, J.R., Cleaning level acceptance criteria and a high pressure liquid chromatography procedure for the assay of Meclizine Hydrochloride residue in swabs collected from pharmaceutical manufacturing equipment surfaces, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 19, pp. 747-756, 1999.
13. Rodricks, J.V.; Risk Assessment At Hazardous Waste Disposal Sites, Hazardous Waste, Vol. 1, Number 3, pp. 333-362, 1984.
14. Románach, R.J.; Garsia, S.F.; Villanueva, O. and Perez, F.; Esforço conjunto na Limpeza de Equipamentos de uma Fábrica de Ingredientes Ativos Farmacêuticos, *Pharmaceutical Technology*, Ed. Brasileira, Fevereiro, pp 30-36, 1999.
15. Segretario, J., Cook, S.C., Umbles, C.L., Walker, J.T., Wooddeshick, R.W., Rubino, J.T., Shea, J.A., Validation of Cleaning Procedures for Highly Potent Drugs. II. Bisnafide, *Pharmaceutical Development and Technology*, 3(4), pp. 471-476, 1998.
16. Shea, J.A., Shamrock, W.F., Abboud, C.A., Wooddeshick, R.W., Nguyen, L.S., Rubino, J.T., Segretario, J., Validation of Cleaning Procedures for Highly Potent Drugs. I. Losoxantrone, *Pharmaceutical Development and Technology*, 1(1), pp. 69-75, 1996.
17. Siri, Safety Information Resources Inc., Siri MSDS Index, Capturado em 21.dez.2004. Disponível na Internet <http://hazard.com>.
18. The Merck Index, Twelfth Edition, Merck & Co. Inc., USA, 1996.
19. USA, United States Pharmacopeial Convention, U.S.P 24, 1999.
20. Westman, L. and Karisson, G., Methods for Detecting Residues of Cleaning Agents During Cleaning Validation, *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology*, Vol 54, No.5, pp. 365-372, 2000.

Endereço para correspondência
João Rui Barbosa de Alencar
Largo de Dois Irmãos, 1117
52171-011 - Recife - PE
e-mail: ruialencar@yahoo.com.br
Tel.: (0xx81)3267-1161
Fax: (0xx81)3441-3375

Validação de limpeza de equipamentos numa indústria de medicamentos: estratégia para escolha do "pior caso"

ANEXO 1 – Dados coletados, relativos aos produtos fabricados, áreas de produção, toxicidade, solubilidade, dificuldade de limpeza, ocupação

Produto	Forma Farmacêutica	Área de Produção	Toxicidade – DL ₅₀ (ratos - mg/kg)	Solubilidade (em água)	Dificuldade	Ocupação (N°Lotes/ano)
Ácido Acetilsalicílico	Comprimidos	Sólidos	1500	10.000 ppm	Fácil	26
Ácido Ascórbico	Comprimidos	Sólidos	11900	800.000 ppm	Fácil	76
Captopril	Comprimidos	Sólidos	6000	Solúvel	Média	206
Carbonato de Cálcio	Comprimidos	Sólidos	7340	Insolúvel	Média	33
Cimetidina	Comprimidos	Sólidos	5000	Solúvel	Média	37
Furosemida	Comprimidos	Sólidos	600	Ligeiramente Solúvel	Média	28
Glibenclamida	Comprimidos	Sólidos	20.000	Insolúvel	Média	44
Hidroclorotiazida (25 e 50mg)	Comprimidos	Sólidos	8000	Muito Pouco Solúvel	Média	87
Isoniazida	Comprimidos	Sólidos	150	Solúvel	Média	4
Mebendazol	Comprimidos	Sólidos	40	Insolúvel	Difícil	9
Metildopa	Comprimidos	Sólidos	5000	10.000 ppm	Média	4
Metoclopramida	Comprimidos	Sólidos	500	20 ppm	Média	0
Pirazinamida	Comprimidos	Sólidos	2200	Ligeiramente solúvel	Média	6
Propranolol	Comprimidos	Sólidos	466	Solúvel	Média	46
Sulfametoxazol + Trimetoprima	Comprimidos	Sólidos	5513	Insolúvel	Difícil	42
Didanosina	Comprimidos / Pó	Sólidos Antiretrovirais	> 2000	Ligeiramente solúvel	Média	40
Estavudina (30 e 40mg)	Cápsulas	Sólidos Antiretrovirais	> 2000	Solúvel	Média	18
Indinavir (Sulfato)	Cápsulas	Sólidos Antiretrovirais	> 2000	100.000 ppm	Média	2
Lamivudina	Comprimidos	Sólidos Antiretrovirais	> 2000	Solúvel	Média	13
Zalcitabina	Comprimidos	Sólidos Antiretrovirais	> 2000	Solúvel	Média	0
Zidovudina	Cápsulas	Sólidos Antiretrovirais	3084	25.000 ppm	Média	11
Zidovudina + Lamivudina	Comprimidos	Sólidos Antiretrovirais	> 2000	Solúvel	Média	66
Dipirona	Solução Oral	Líquidos - Gotas	1700	Solúvel	Média	20
Metoclopramida	Solução Oral	Líquidos - Gotas	500	20 ppm	Média	3
Paracetamol	Solução Oral	Líquidos - Gotas	330	Insolúvel	Média	51
Eritromicina	Suspensão Oral	Líquidos Antibióticos	5000	24 ppm	Média	36
Metronidazol	Suspensão Oral	Líquidos Antibióticos	3000	10.000 ppm	Média	28
Rifampicina	Suspensão Oral	Líquidos Antibióticos	1720	Ligeiramente solúvel	Média	0
Sulfametoxazol + Trimetoprima	Suspensão Oral	Líquidos Antibióticos	5513	Insolúvel	Difícil	22
Cloranfenicol	Suspensão Oral	Líquidos Antibióticos	2500	2500 ppm	Média	0
Hidróxido de Alumínio	Suspensão Oral	Líquidos Não Antibióticos	> 2000	Insolúvel	Difícil	34
Mebendazol	Suspensão Oral	Líquidos Não Antibióticos	40	Insolúvel	Média	36
Pirazinamida	Suspensão Oral	Líquidos Não Antibióticos	2200	Ligeiramente solúvel	Média	1
Polivitaminas	Solução Oral	Líquidos Não Antibióticos	11900	Solúvel	Média	47
Salbutamol	Xarope	Líquidos Não Antibióticos	660	Solúvel	Média	43
Zidovudina	Xarope	Líquidos Não Antibióticos	3084	25.000 ppm	Média	14

Fonte dos dados: Brasil (1998), Merck Index (1996), SIRI (2004)

ARTIGO II

Carbono Orgânico Total: Metodologia Analítica e Aplicações para Indústria Farmacêutica

Maria Roseane dos Anjos Clementino^{1,2}, João Rui B. Alencar³, Pedro J. Rolim Neto^{2,*}

¹Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A – LAFEPE.
Largo de Dois Irmãos, 1117 Dois Irmãos – CEP – 52171- 010 – Recife-PE – Brasil.
Fone: 81.3267.1171, Fax: 81.34413375,
e-mail: roseane.clementino@lafepe.pe.gov.br

²Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Departamento de Ciências Farmacêuticas,
Laboratório de Tecnologia de Medicamentos, Av. Prof. Artur de Sá, S/N, Cidade
Universitária – CEP 50740-521- Recife-PE – Brasil, e-mail: prolim@ufpe.br
(*) Para quem toda correspondência deverá ser enviada

³Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Centro de Tecnologia, Escola de Química.
Ilha do Fundão, Bloco E, Sala 207 – CEP 21949-900, Rio de Janeiro – RJ – Brasil.
Fone: 21.2562.7636, Fax: 21.2562.7616, (*) e-mail: ruialencar@yahoo.com.br

Resumo

Para comprovar a eficiência do aparelho de Carbono Orgânico Total (TOC) foi seguido procedimento exigido pela *United States Pharmacopeia* (USP), que descreve o *System Suitability Test*, como procedimento de qualificação que utiliza padrões primários de Sacrose e 1,4-*p*Benzoquinona. As análises no TOC requerem curvas de calibração com padrões de hidrogenoftalato de potássio representando o Carbono Total e o Carbono Inorgânico representado pelos padrões de carbonato e bicarbonato de sódio. Devido ao seu baixo limite de detecção e técnica rápida, análises de TOC foram aplicadas na metodologia de análise para validação de limpeza. Foram avaliados parâmetros como Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ), Recuperação de Swab e da solução do Béquer e estimativa do número de TOC em solução padrão de Paracetamol. Técnica já utilizada em análises de água, vários pontos de distribuição de água purificada em uma indústria farmacêutica foram monitorados, obedecendo ao limite máximo de 500 ppb de TOC para água purificada.

Palavras-Chave: Validação de Limpeza, Carbono Orgânico Total, Água Purificada.

1. Introdução

A *United States Pharmacopeia* (USP), descreve o *System Suitability Test*, procedimento de qualificação que utiliza padrões primários de Sucrose (ou sacarose) e 1,4-Benzoquinona. Soluções são preparadas com esses padrões para serem analisadas e obter respectivamente a média das áreas da *rw* (água), que é também o limite de detecção, *rss* (benzoquinona) e *rs* (sucrose) e incluir na equação do *System Suitability Test* [1, 2]. Este teste tem como principal objetivo determinar se a metodologia que está sendo usada para quantificar o carbono orgânico é adequada para este fim.

Os métodos TOC e NPOC requerem curvas de calibração para as análises das amostras. Na calibração das curvas são utilizadas soluções padrões, hidrogenoftalato de potássio representando o Carbono Total e o Carbono Inorgânico é representado pela solução padrão de carbonato e bicarbonato de sódio.

A quantificação de contaminantes orgânicos é um novo método aplicado para Validação de Limpeza utilizando o TOC [3]. Foi demonstrado o desenvolvimento da metodologia de análise do TOC para aplicações na validação de limpeza pela avaliação de parâmetros dos Limites de Detecção (LD) e Quantificação (LQ), Recuperação de Swab e da solução do Béquer e estimativa do número de TOC em solução padrão de paracetamol. Método previamente usado nas análises de água para indústria farmacêutica [3]. A USP em 1999, incluiu a quantificação do TOC, como uma das análises da água. Atualmente os limites exigidos pela USP são de no máximo 500 ppb para água purificada e de 50 ppb para água injetável [2]. Baseado nesses critérios foi realizado monitoramento diário do TOC da água purificada de diversos pontos no Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco – LAFEPE.

2. Material e Métodos

2.1. Analisador de Carbono Orgânico Total (TOC)

Analisador de Carbono Orgânico Total do fabricante Shimadzu® TOC-VCPH foi utilizado para análises de amostras aquosas. Capaz de analisar Carbono Total (TC), Carbono Inorgânico (IC), Carbono Orgânico Total (TOC) e Carbono Orgânico Não Purgável (NPOC)

Clementino, M.R.A., Determinação do teor de Carbono Orgânico Total (TOC): Metodologia analítica e Aplicações na Indústria Farmacêutica

em concentrações de 400 – 25000 ppm dependendo da configuração do equipamento e dos acessórios instalados. O analisador Shimadzu® TOC – VCPH é adaptado para seguir as exigências da USP 29 Método 643, possui forno a 680°C, catalisador de platina e limite de detecção baixo na ordem de 0,0040 mg por litro (Anexo 01).

2.2. Qualificação e Certificação de Instrumento Analítico TOC

Inicialmente o instrumento foi avaliado se está de acordo com as especificações do fabricante e de acordo com as intenções de uso do instrumento. A qualificação de instalação verifica a instalação do instrumento com conexões e requisitos apropriados. É realizado teste de calibração utilizando o método de NPOC para realização das análises [2].

Para qualificação operacional foram realizados os testes mecânicos, a fim de verificar os sistemas mecânicos do aparelho. Em seguida observou-se o fluxo do gás de arraste que é cerca de ~150 mL/min e por último o teste de calibração pelo método de NPOC, com análises dos parâmetros de linearidade e repetitividade [2].

De acordo com Resolução – RE nº 899, de maio de 2003, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado [4].

Para as análises são utilizadas substâncias químicas de referência Sucrose (Fabricante USP®, Lote 1623637) e 1,4-Benzoquinona (Fabricante USP®, Lote 1056504) certificados para método de NPOC. Água ultrapura Milli – Q Millipore®, vidraria típica para preparação dos padrões, balança analítica com capacidade para pesagem de 0,00001 g. A vidraria foi separada e utilizada apenas para análises em TOC. Na primeira utilização, foram pré-lavadas com solução de ácido nítrico 30% e reservadas em repouso por 24 horas. Antes de iniciar as análises, foram lavadas com água ultrapura e utilizadas rapidamente para que não ocorra contaminação. O mesmo procedimento foi seguido para outras análises com pré-lavagem com solução de ácido nítrico 15%.

Pertencente a família dos dissacarídeos, solúvel em água e de fácil oxidação, a Sucrose (C₁₂H₂₂O₁₁), alfa-D-Glucopiranoside, beta-D-frutofuranosil, é usada como padrão para obter o pico na curva de calibração [2].

1,4-Benzoquinona ($C_6H_4O_2$), 2,5-Ciclohexadieno-1,4-dione, substância de difícil oxidação, pelo fato de conter anéis aromáticos em sua fórmula estrutural, é usada como padrão para verificar a eficiência do sistema [2, 5].

As soluções foram preparadas conforme recomendações da USP. Uma solução 500 ppb de Sucrose é preparada dissolvendo 1,20 mg (exatamente pesado) da substância Sucrose em 1 Litro de água ultrapura e a outra solução de 500 ppb de 1,4 – Benzoquinona é preparada dissolvendo 0,75mg (exatamente pesado) da substância Benzoquinona em 1 Litro de água ultrapura. NOTA: A pureza da água poderá afetar os resultados esperados neste teste. O uso de água ultrapura (TOC menor que 100 ppb) e vidraria extremamente limpa são indispensáveis [1].

Após o preparo das soluções padrões, analisar a água usada nas diluições dos padrões e as soluções padrões de 500 ppb de 1,4 – Benzoquinona e de 500 ppb de Sucrose no instrumento e respectivamente obter a média das áreas da rw (água), que é também o limite de detecção, rss (benzoquinona) e rs (sucrose) e incluir na equação (01) do *System Suitability* para calcular a eficiência do aparelho. O sistema é eficiente se a resposta estiver dentro do limite de $100\% \pm 15\%$ [2].

$$\%R = [(rss - rw) / (rs - rw)] * 100 \quad \text{Equação (01)}$$

Essas análises determinam a adequação do sistema, com testes de linearidade e reprodutibilidade das amostras, através da calibração e registro das áreas encontradas. O critério de aceitação é obter repetibilidade de medições dentro do intervalo estabelecido.

2.3. Curvas de calibração

Os métodos TOC e NPOC requerem curvas de calibração para as análises das amostras. Na calibração das curvas, o hidrogenoftalato de potássio ($C_8H_5O_4K$) de PM=204,22, representa a solução padrão de carbono total. A solução do carbono inorgânico é representada pela solução padrão de carbonato de sódio anidro (Na_2CO_3) de PM = 105.99 e bicarbonato de sódio ($NaHCO_3$) de PM = 84,01.

Hidrogenoftalato de potássio é um padrão primário, e por ser representativo de um grande número de moléculas que são oxidadas quimicamente em condições energéticas, é

utilizado como padrão para medidas de DQO (Demanda Química de Oxigênio) e TOC. Estas características físico-químicas lhes permite ser usado como molécula modelo para estudos de adsorção e em estudos de reações fotocatalisadas [6].

Os carbonatos são sais inorgânicos que apresentam na sua composição química o íon carbonato CO_3^{2-} . Bicarbonatos são sais que contém o ânion HCO_3^- , em água hidrolisam produzindo uma base mais forte [6].

Para o preparo das soluções padrões nas curvas de calibração foram utilizadas as seguintes substâncias químicas de referência: Carbonato de Sódio Anidro (Fabricante Nacalai Tesque®, Lote: M4N1995), bicarbonato de sódio (Fabricante Nacalai Tesque®, Lote: M4P2860) e hidrogenoftalato de potássio (Fabricante Nacalai Tesque®, Lote: M4N1775). Água ultrapura Milli – Q Millipore®, vidraria típica para preparação dos padrões e balança analítica com precisão de 0,00001 g.

A vidraria foi separada e utilizada apenas para análises em TOC. Na primeira utilização, foram necessariamente pré-lavadas com solução de ácido nítrico 30% e reservadas em repouso por 24 horas. Antes de iniciar as análises, foram lavadas com água ultrapura e utilizadas rapidamente para que não ocorra contaminação. O mesmo procedimento foi seguido para outras análises com pré-lavagem com solução de ácido nítrico 15%. A eficiência dessa lavagem foi confirmada na primeira análise, caso os resultados forem satisfatórios a lavagem foi eficiente. Caso contrário, pré-lavar novamente toda a vidraria, seguindo o mesmo processo anterior, porém aumentar o tempo de contato entre o frasco e a solução de ácido nítrico e o número de enxaguadas com água ultrapura.

As soluções padrões preparadas devem ser armazenadas em recipientes âmbar, no refrigerador e fechados, para não absorverem dióxido de carbono da atmosfera. Importante obedecer ao tempo de armazenagem, uma semana para soluções com baixas concentrações. Soluções padrão de altas-concentrações de carbono (1000 mg/L) podem ser armazenadas por dois meses.

• Preparo da Solução TC

No preparo da solução padrão de hidrogenoftalato de potássio:

1. Foi pesado exatamente 2,125 g do reagente hidrogenoftalato de potássio, previamente seco a 105-120°C por uma hora e esfriado no dessecador.

2. Transferiu-se para um balão volumétrico de 1 L e dissolve em água ultrapura.
3. Completou com água ultrapura até a marca de 1 L e proteger a solução com papel alumínio. A concentração de carbono da solução padrão foi de 1000 mg/L (1000 ppm de carbono).
4. Programou o aparelho para diluir a solução padrão de acordo com as concentrações requeridas para as curvas de calibração.

- **Preparo da Solução IC**

No preparo da solução padrão de bicarbonato e carbonato de sódio:

1. Foi pesado exatamente 3,50 g do reagente de bicarbonato de sódio que foi previamente seco por 2 horas em dessecador de sílica gel e 4,41 g de carbonato de sódio previamente seco por 1 hora a 280°C-290°C e esfriado no dessecador.
2. Os materiais pesados foram transferidos para um balão volumétrico de 1 L.
3. Foi adicionada água ultrapura até completar a marca de 1 L.
4. Protegeu com papel alumínio. A concentração de carbono da solução padrão foi de 1000 µg/L.

- **Preparo da Solução NPOC**

Foi preparada uma solução 10.000 µg/L de sucrose dissolvendo 2,40 mg (exatamente pesado) da substância sucrose em 1 L de água ultrapura e analisada pelo método de NPOC.

2.4. Análises para Validação de Limpeza

Existem dois tipos de técnicas de amostragem de TOC para validação de limpeza de equipamentos. Uma é a amostragem direta na superfície do equipamento usando o *swab*. A outra consiste de um enxágüe final do equipamento com água purificada e a coleta da amostra desse enxágüe para análises. Amostragem de superfícies (amostragem por enxágüe ou direto na superfície), em combinação com estudos de recuperação, indica o nível de limpeza da superfície do equipamento de produção [7, 8, 9, 10].

A proposta desse estudo foi demonstrar como desenvolver e validar o método TOC para medir uma variedade de resíduos orgânicos diferentes nas superfícies de aço

inoxidável. Parâmetros analisados incluem limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e recuperação do swab e da água de enxágüe.

- **Limite de Detecção (LD)**

O limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas [11].

O pesquisador KAREN CLARK calculou o Limite de Detecção (LD) pelo método Branco, que consiste em dez frascos de amostragens, contendo swab e água de baixo TOC (<100ppb), pré-lavados com solução de ácido nítrico 30%, deixados em contato com a solução de ácido por 24 horas. Quatro replicatas para cada frasco foram analisadas. Minutos antes da análise os frascos são lavados com água purificada e amostra dessa água é analisada no TOC. Para calcular o LD, o desvio padrão é multiplicado pelo *t Student* para n-1 graus de liberdade [4].

Adaptamos o método seguido por CLARK e foi utilizado oito frascos. São cortadas as pontas de oito swabs do tipo Texwipe Alpha Swab TX761 e colocadas em cada frasco. As soluções são colocadas no vortex por 30 minutos e recolhidas uma hora antes das análises. Quatro replicatas de cada frasco foram analisadas e a média foi calculada.

- **Limite de Quantificação (LQ)**

O limite de quantificação corresponde à menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas [11].

Seguindo os cálculos realizados por KAREN CLARK o LQ é calculado pela multiplicação do resultado do LD por três.

- **Determinação da Recuperação do Swab e da Água de enxágüe**

Estudos mostraram que *swabs* do tipo TexWipe Alpha são ideais para análises de TOC, pois eliminam possíveis interferentes advindos das fibras de rayon ou de algodão ou ainda da haste de polietileno em contato com o solvente de extração. Além disso, o swab deve ser de tal material que não libere partículas. Por isso foi escolhido o swab do tipo

TexWipe 100% poliéster e demonstrou, em análises que não liberam partículas que interferiram nas análises de TOC [6, 12, 13].

Solução de Paracetamol 100 mg/mL foi diluída e utilizada para os testes de recuperação e as concentrações foram calculadas pela equação de reta (Equação 02) obtida previamente por estudos de linearidade na validação da metodologia analítica para o produto paracetamol gotas para cálculo das concentrações [12].

$$Y = 0,0656X - 0,0087$$

Equação 02

Onde:

Y= Leitura das absorvâncias

X= Concentração do princípio ativo em ppm.

• Amostragens para Recuperações

Placas de aço inoxidável foram usadas no teste de recuperação do swab para simular o equipamento de produção. Em local demarcado de cada placa foi espalhada uma solução de paracetamol. As placas foram reservadas para secar completamente durante 24 horas em temperatura ambiente. O swab Texwipe Alpha TX761 foi umedecido com água de baixo TOC(<100ppb). O procedimento consistiu, inicialmente, da passagem de um dos lados do swab por toda área demarcada, 10 cm², e em seguida a outra face foi utilizada para cobrir a mesma área, porém fazendo a coleta num giro de 90° em relação à primeira. Logo após os swabs foram imersos em 10 mL de uma solução de, que estavam em frascos âmbar, para a determinação analítica. A amostragem foi realizada em uma área de 10 cm², pois em alguns equipamentos seria inviável adotar uma área maior, devido ao pequeno tamanho de seus compartimentos [8, 9].

Foi cortada a ponta de cada swab e colocada dentro do frasco contendo 40 mL de água de baixo TOC. O frasco foi fechado, colocado no vortex e reservado por uma hora para serem analisados.

Para o teste de recuperação da solução do béquer, amostra com a solução de paracetamol foi espalhada em béquer de 40 mL e reservados para secar. Para recuperação foi usado 20 mL da mesma água usada para recuperar o swab.

- **Estimativa do princípio ativo pelo TOC.**

Em solução preparada com o princípio ativo dissolvido em água purificada e concentração de conhecida foi possível encontrar a concentração de TOC nesta solução. Para isso, é necessário considerar a fórmula molecular do princípio ativo, identificar o número de átomos existentes na molécula e calcular a relação estequiométrica. Foi considerado que os níveis de TOC no solvente são ínfimos e que todo o carbono é resultado do princípio ativo. Cuidados, como lavar inicialmente a vidraria com ácido nítrico 30% e utilizar água purificada para as diluições, são indispensáveis.

O princípio ativo escolhido foi o Paracetamol, por ser produto de escolha no pior-caso na linha de gotas da fábrica de líquidos do Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco – LAFEPE. A estratégia é baseada no cálculo de um índice que usa simultaneamente informações de toxicidade, solubilidade, dificuldade de limpeza além da taxa de ocupação de cada produto em cada unidade [5].

2.5. Monitoramento do TOC na água industrial

Insumo indispensável e de grande importância na indústria farmacêutica, possui controle dos órgãos reguladores das Boas práticas de Fabricação de Medicamentos que exige o acompanhamento da sua qualidade.

De acordo com a Resolução RDC 210, da Agência de Vigilância Sanitária – ANVISA, é necessário validar o sistema de tratamento de água, com análises físico-químicas e microbiológicas diárias de todos os pontos de uso na indústria em tempo determinado. Na USP foi incluído o analisador de TOC em suas análises de controle com limites de 500 ppb para água purificada e 50 ppb para injetáveis, substituindo os testes de impurezas, acidez e alcalinidade e resíduo pela evaporação [14].

O monitoramento dos resultados do TOC em uma indústria farmacêutica foi realizado no período de outubro de 2005 à Junho de 2006, contemplando três estações do ano, primavera, verão e outono.

- **Pontos de Amostragem**

O tipo de conexão e o percurso da água também podem afetar a qualidade, pois existem pontos em que pode haver estagnação da água. Quanto maior o tempo de estocagem, maior

a possibilidade de degradação da qualidade da água, ocasionado pelo desenvolvimento de microrganismos e absorção de gás carbônico [3]. O monitoramento foi realizado em dez pontos de amostragens na indústria. No setor do tratamento de água, foram acompanhadas as linhas de retornos L1 e L2, as válvulas após os filtros microbiológicos e após o equipamento de ultravioleta, localizado antes dos filtros microbiológicos e após as colunas mistas (Anexo I).

3. Resultados e Discussões

3.1. Qualificação e Certificação de Instrumento Analítico TOC.

Antes de iniciar análises de alta sensibilidade é necessário condicionar o aparelho para reduzir a presença de picos, relacionados a impurezas. O condicionamento se resume à análise de uma amostra de água ultrapura com três a cinco injeções, obtendo a concentração de TOC da água ultrapura, como descrito na Tabela 01.

Tabela 01 – Análise da água ultrapura para condicionamento do aparelho.

Amostra	Injeções	Área	Concentração	Resultado ($\mu\text{g/L}$)
Água	1	4,645	72,72	71,95
	2	4,594	71,92	
	3	4,128	64,63	
	4	3,844	60,18	
	5	4,548	71,20	
Média		4,596	71,95	
DP		0,04852	0,7596	
CV		1,06	1,06	

Após ajustar os parâmetros para calibração no sistema do aparelho de TOC foram preparadas curvas de calibração com as soluções padrão, que utilizam os mesmos parâmetros e análises pelo método de NPOC.

Os resultados da análise da solução padrão de benzoquinona, estão descritos na Tabela 02.

Tabela 02 – Resultados da análise do padrão Benzoquinona

Benzoquinona	Injeções	Área	Concentração	Resultado (µg/L)
	1	34,73	24258	
	2	36,96	26024	
	3	36,23	25446	
	4	36,84	25929	
Média		36,68	25800	25800
Desvio Padrão		0,3915	309,9	
CV %		1,07	1,20	

O aparelho possui opção de analisar separadamente a água da diluição e a solução de 500 ppb de sucrose. Os resultados obtiveram medições dentro do intervalo entre CV $\leq 2\%$ ou DP $\leq 0,100$, estando de acordo com os critérios de aceitação para linearidade e repetitividade [14]. Os resultados da análise da solução de sucrose estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Resultados da análise da água ultrapura e da solução padrão de Sucrose 500 µg/L.

Sucrose	Concentração Padrão	Injeções	Área
	0,000 µg/L	1	4,126
		2	4,069
		3	4,082
Média			4,092
Desvio Padrão			0,02987
CV %			0,73
	500,0 µg/L	1	35,32
		2	35,89
		3	35,79
Média			35,67
Desvio Padrão			0,3044
CV %			0,85

O resultado pela análise de regressão linear demonstrou um coeficiente de correlação exato, R^2 1.000000, afirmando que há correlação linear entre as variáveis X e Y, o que significa que 100% da variação total em torno da média é explicada pela regressão (Figura 01).

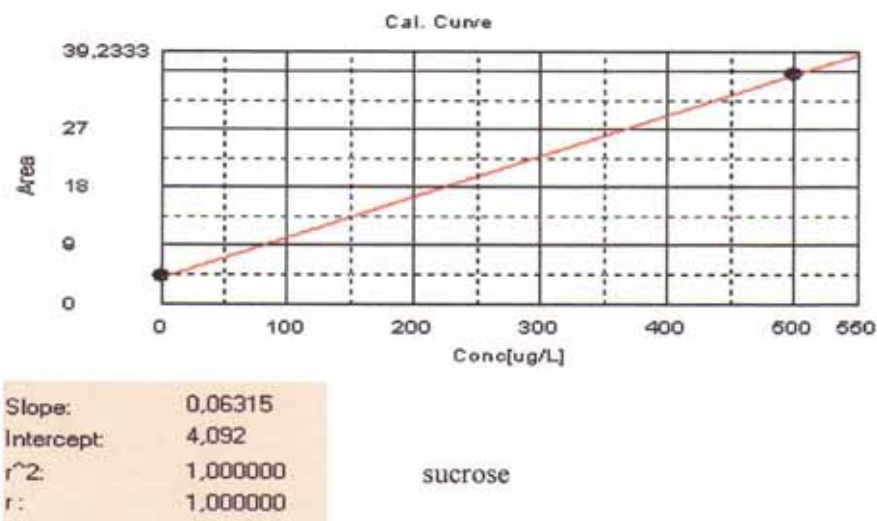


Figura 01 – Curva de Calibração obtida pelo teste de calibração com solução 500 ppb de sucrose.

A média das áreas da água e soluções de sucrose e benzoquinona estão descritas na Tabela 04.

Tabela 04 – Resultados das áreas nas análises da água e dos padrões de sucrose e benzoquinona.

Padrões	Média das áreas
Água (rw)	4,092
Sucrose (rs)	35,67
Benzoquinona (rss)	36,68

Os resultados das áreas são incluídos na Equação 03.

$$\%R = [(rss - rw) / (rs - rw)] * 100 \quad \text{Equação 03}$$

$$\%R = [(36,68 - 4,092) / (35,67 - 4,092)] * 100$$

$$\%R = 103,2\%$$

O valor obtido foi de 103,2%, estando dentro do limite de $100\% \pm 15\%$, especificado pela USP para certificação do aparelho. Análises de TOC mostram excelente repetitividade e relação linear entre a concentração quantificada do composto e a resposta do TOC. De acordo com as exigências da USP, o aparelho da Shimadzu TOC – VCPH está adaptado para análises.

3.2. Curvas de calibração

- **Curva de Calibração TC**

Foi realizada a análise TC da solução padrão hidrogenofalato de potássio 1000 ppm, com quatro concentrações 0 mg/L, 2500 mg/L, 5000 mg/L e 10.000 mg/L, a calibração obteve medições dentro do intervalo entre Coeficiente de Variação (CV) $\leq 2\%$ ou Desvio Padrão (DP) $\leq 0,100$, os resultados estão descritos na Tabela 05.

Tabela 05 – Resultados da análise da solução padrão de hidrogenofalato de potássio.

Concentração da Solução Padrão	Auto Diluição	Concentração Final ($\mu\text{g/L}$)	Média da Área	DP Máx (0,1000)	CV % Máx (2,00)
0	1	0	0,4336	0,0290	6,69
10.000	4	2500	9,736	0,0714	0,73
10.000	2	5000	19,31	0,2551	1,32
10.000	1	10.000	39,03	0,5027	1,29

A análise de regressão linear demonstrou um coeficiente de correlação muito próximo da unidade, R^2 0,999819, mostrando que há forte correlação entre área e concentração, o que significa que 99,98% da variação total em torno da média é explicada pela regressão, restando 0,02% para ser explicado pelos resíduos (Figura 02).

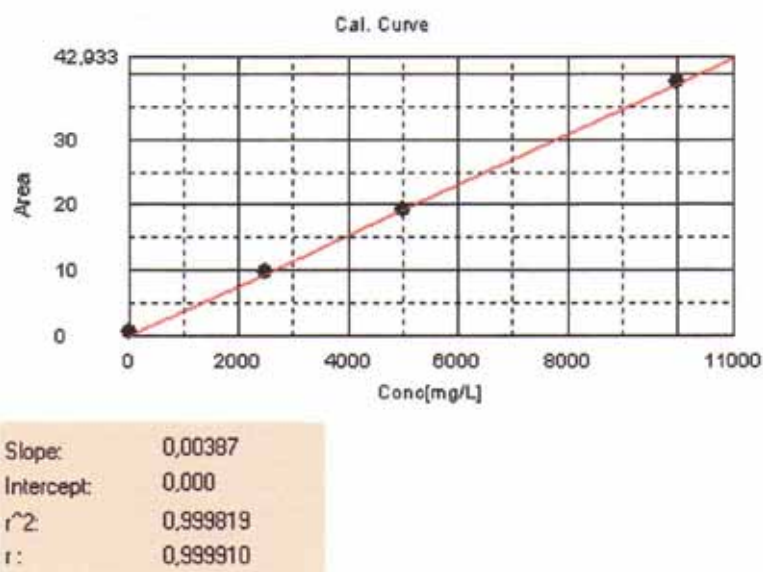


Figura 02 – Gráfico do resultado da calibração com a solução TC de hidrogenofalato de potássio 1000 mg/mL

• Curva de Calibração IC

Foi realizada a análise IC da solução padrão de bicarbonato e carbonato de sódio 1000ppmC, com quatro concentrações 0 $\mu\text{g/L}$, 2500 $\mu\text{g/L}$, 5000 $\mu\text{g/L}$ e 10.000 $\mu\text{g/L}$, a calibração obteve medições dentro do intervalo entre $\text{CV} \leq 2\%$ ou $\text{DP} \leq 0,100$ resultados descritos na Tabela 06.

Tabela 06 – Resultados da análise da solução padrão de bicarbonato e carbonato de sódio

Concentração da Solução Padrão	Auto Diluição	Concentração Final ($\mu\text{g/L}$)	Média da Área	DP Máx (0,1000)	CV % Máx (2,00)
0	1	0	0,1097	0,0220	20,10
10.000	4	2500	13,99	0,0808	0,58
10.000	2	5000	27,77	0,3225	1,16
10.000	1	10.000	55,20	0,7271	1,32

A análise de regressão linear demonstrou um coeficiente de correlação muito próximo da unidade, R^2 0,999992, afirmando que há forte correlação entre a área e

concentração, o que significa que 99,99% da variação total em torno da média é explicada pela regressão, restando 0,01% para ser explicado pelos resíduos. Apresentou coeficiente angular 0,00551 (Figura 03).

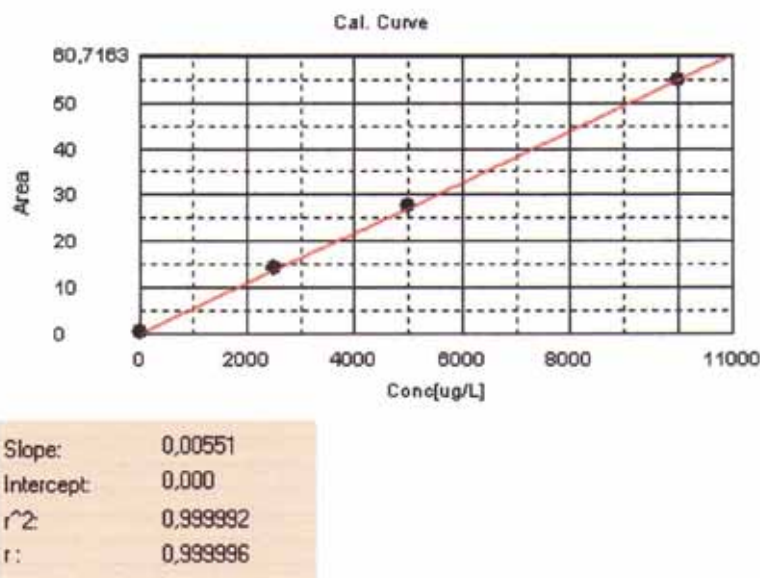


Figura 03 – Gráfico do resultado da calibração com a solução padrão IC composta de bicarbonato e carbonato de sódio 1000 µg/L

• Curva de Calibração NPOC

Em quatro concentrações 0 µg/L, 2500 µg/L, 5000 µg/L e 10.000 µg/L, a calibração obteve medições dentro do intervalo entre Coeficiente de Variação (CV) $\leq 2\%$ ou Desvio Padrão (DP) ≤ 0.100 , descritos na Tabela 07.

Tabela 07 – Resultados da análise da solução padrão de sucrose pelo método NPOC

Concentração da Solução Padrão	Auto Diluição	Concentração Final (µg/L)	DP Máx (0,1000)	CV % Máx (2,00)
0	1	0	0,02	11,56
10.000	4	2500	0,1390	1,45
10.000	2	5000	0,2651	1,39
10.000	1	10.000	0,3927	1,04

A análise de regressão linear demonstrou um coeficiente de correlação muito próximo da unidade, R^2 0,999956, afirmando que há correlação linear entre as variáveis X e Y, o que significa que 99,99% da variação total em torno da média é explicada pela regressão, restando 0,01% para ser explicado pelos resíduos. Apresentou coeficiente angular 0,00374 (Figura 04).

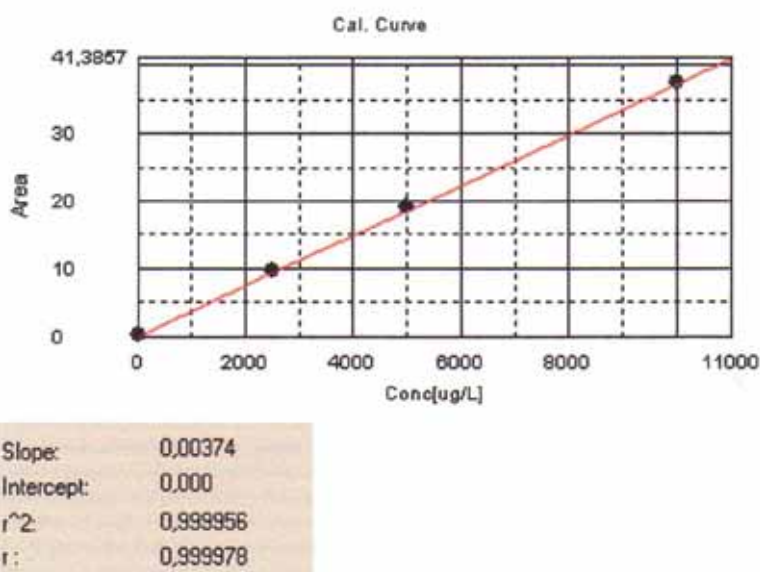


Figura 04 – Gráfico do resultado da calibração da solução padrão de sucrose 10.000 µg/L pelo método NPOC

3.3. Análises para Validação de Limpeza

- Limite de Detecção (LD)

Foi calculada a média do TOC de cada frasco e após cálculos dos oito valores obtidos, média e desvio padrão. Resultados descritos na Tabela 08.

Tabela 08 – Resultados das leituras do TOC da solução contida nos frascos

Nº Frasco	Média TOC (µg/L)
1	158,5
2	176,3
3	205,4
4	197,2
5	216,2
6	183,7
7	200,1
8	260,5
Média geral	199,7
DP	30,5

Para calcular o LD, o desvio padrão é multiplicado pelo *t Student* para n-1 graus de liberdade. Então, multiplica 30,5 (DP) por 3,355 (para n=8), no intervalo de confiança de 99%. O resultado obtido do Limite de Detecção (LD) calculado foi de 102,3 ppb.

Ao comparar os Limites de Detecção do paracetamol obtido pelo TOC (102,3 ppb ou 0,102 ppm) e do obtido por Espectrofotometria (1.100 ppb ou 1,1 ppm) na validação da metodologia analítica do paracetamol, foi observado que o TOC é realmente um método de baixo limite de detecção.

- **Limite de Quantificação (LQ)**

Seguindo os cálculos realizados por KAREN CLARK o LQ é calculado pela multiplicação do LD (102,3) por três. Então, $102,3 \times 3 = 306,9$ ppb, logo LQ calculado foi de 306,9 ppb.

- **Determinação da Recuperação do Swab e da Água de enxágüe**

A amostra de solução de paracetamol foi lida em duplicata no espectrofotômetro no comprimento de onda de 244 nm, a média da absorvância foi 0,023. De acordo com a equação da reta a concentração da solução de paracetamol é de 0,4832 µg/mL.

Foi feita a quantificação do TOC pelo método do NPOC da solução de paracetamol de concentração 0,4832 µg/mL e o resultado foi de 5587 µg/L ou 5,58 µg/mL. Essa solução foi utilizada para realização das análises de recuperação do swab e do béquer.

Leituras no espectrofotômetro e no analisador de TOC foram feitas com a solução de recuperação do swab, e foi obtido, respectivamente 0,3963 µg/mL e 4038 µg/L ou 4,03 µg/mL.

Para recuperação do béquer a amostra com a solução de paracetamol de 0,4832 µg/mL foi espalhada em bequer de 40 mL e reservados para secar. Foi utilizada 20 mL de água para o enxágüe dos béquer. Leituras no espectrofotômetro e no analisador de TOC foram feitas com a solução de recuperação do béquer, e foi obtido, respectivamente 0,4756 µg/mL e 4045 µg/mL ou 4,04 µg/mL.

Os percentuais das recuperações de TOC estão listados na Tabela 09. As recuperações variam entre 72,27% a 72,40%.

Tabela 09 – Porcentagens de recuperação de TOC no béquer e swab

Solução de Paracetamol	TOC(µg/L)	% Recuperação
	5587	
Solução Recuperação - Béquer	4045	72,40
Solução Recuperação - Swab	4038	72,27

Os percentuais de recuperações de princípio ativo estão listados na Tabela 10. As recuperações variam entre 82,01% a 98,42%.

Tabela 10 – Porcentagens de recuperação do princípio ativo no béquer e swab

Solução de Paracetamol	Concentração (ppm)	% Recuperação
	0,4832	
Solução Recuperação - Béquer	0,4756	98,42
Solução Recuperação - Swab	0,3963	82,01

O FDA no Guia de inspeção para validação de limpeza cita que “o desafio do método analítico em combinação com o método de amostragem usado é garantir que os contaminantes podem ser recuperados das superfícies do equipamento no nível de recuperação 50% - 90%”. Isto reforça a importância da determinação da recuperação real do swab e da água de enxágüe no método. Como demonstrado nas análises de recuperação, os

percentuais encontrados mostram que a metodologia de amostragem é adequada para as validações de limpeza.

- **Estimativas do Princípio Ativo pelo TOC**

A fórmula molecular do Paracetamol é $C_8H_9NO_2$, como $C = 12$ e a molécula possui 8 carbonos, logo $(12 \times 8 = 96)$ e peso molecular (PM) de 151,17, então em uma solução de 10 $\mu\text{g/mL}$ teremos:

$$\begin{array}{rcl} 151,17 \mu\text{g de Paracetamol} & \text{_____} & 96\mu\text{g de Carbono} \\ 10 \mu\text{g de Paracetamol} & \text{_____} & X \end{array}$$

Teoricamente foi obtido 7,40 μg de TOC em 10 $\mu\text{g/mL}$ da solução de Paracetamol. Nesta, a quantificação do princípio ativo é calculado pela equação da reta (Equação 04), previamente determinada por estudos de linearidade da Validação da Metodologia Analítica para o Produto Paracetamol gotas [12].

$$Y = 0,0656X - 0,0087 \qquad \text{Equação 04}$$

Y= Leitura das absorvâncias

X= Concentração do princípio ativo em ppm.

Neste estudo, foi contemplado amostra com concentração abaixo do limite de detecção (0,0867) obtida pela metodologia do paracetamol. Assim, uma absorvância com valor 0,063, a respectiva concentração é de aproximadamente 1,1 $\mu\text{g/mL}$. Seguindo estes cálculos para outras concentrações, inclusive para concentração abaixo do limite de detecção [1,1 $\mu\text{g/mL}$ (ppm) ou 1.100 $\mu\text{g/L}$ (ppb)]. Os resultados obtidos estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Resultados teóricos dos valores de TOC para o paracetamol

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	TOC teórico ($\mu\text{g/mL}$)
10	6,35
7,5	4,76
5,0	3,17
2,5	1,58
1,1	0,80

Para conferir os resultados estimados de TOC, foram preparadas soluções com a substância química de referência Paracetamol (Fabricante USP[®], Lote: 14856) em diferentes concentrações: 10 $\mu\text{g/mL}$, 7,5 $\mu\text{g/mL}$, 5,0 $\mu\text{g/mL}$, 2,5 $\mu\text{g/mL}$, 1,1 $\mu\text{g/mL}$ e foram analisadas no TOC pelo método NPOC. Resultados da análise estão descritos na Tabela 12 e comparados com os valores teóricos.

Tabela 12 – Resultados do TOC teórico e prático da solução de Paracetamol

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	TOC teórico ($\mu\text{g/mL}$)	TOC prático ($\mu\text{g/mL}$)
10	6,35	6,30
7,5	4,76	4,73
5,0	3,17	3,21
2,5	1,58	1,62
1,1	0,80	0,83

Diante dos resultados apresentados, foi concluído que é possível estimar a quantidade de TOC em solução com princípio ativo de concentração conhecida.

3.4. Monitoramento do TOC na água industrial

O monitoramento dos resultados da quantificação do TOC da água purificada na linha de distribuição do tratamento foi realizado em dez pontos de amostragens na indústria. No setor do tratamento de água, acompanhamos as linhas de retornos L1 e L2, as válvulas PWPA7, após os filtros microbiológicos e após o equipamento de ultravioleta e a ADPA6,

localizada antes dos filtros microbiológicos e após as colunas catiônicas e aniônicas (Anexo I).

Nos setores da indústria foram monitoradas as divisões de sólidos (DISOL), semi-sólidos (SEMI-SÓL), antiretrovirais (ANTI-HIV), controle de qualidade (COQUA) e divisão de líquidos (DILIQ).

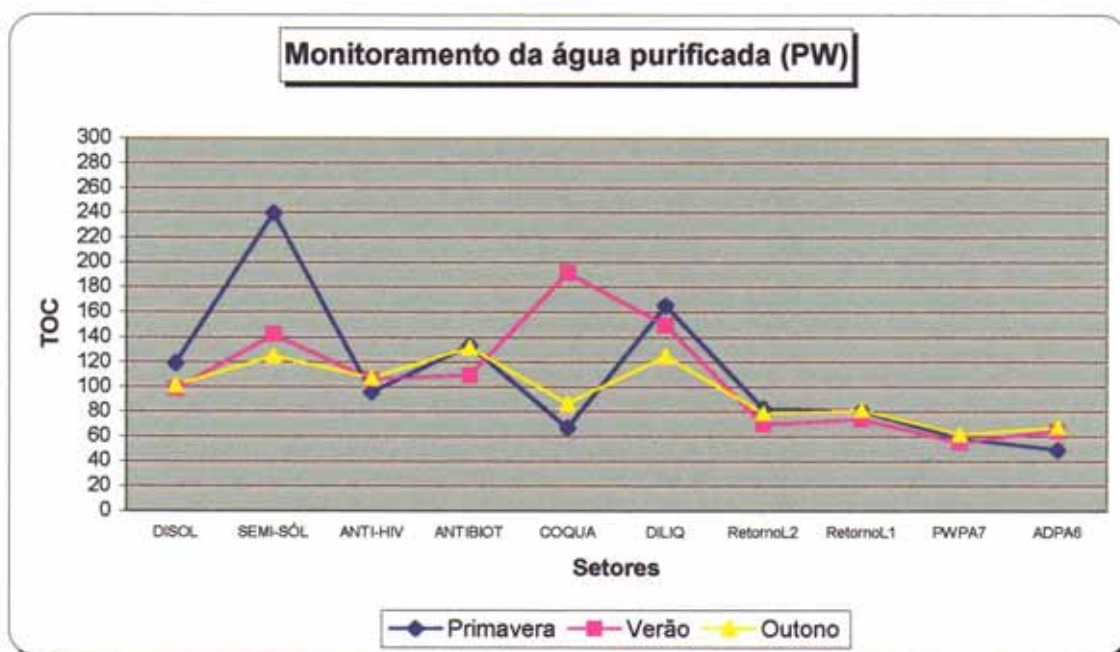


Figura 05 – Monitoramento da água purificada (PW) em diversos setores da indústria farmacêutica e contemplando as três estações do ano.

É observado na Figura 05 os resultados de TOC, obtendo comportamento diferencial nos dez setores monitorados no decorrer dos nove meses, contemplando três estações do ano, primavera, verão e outono. Tendência a valores extremos, a primavera foi a estação do ano que obteve o máximo de 240 ppb no setor de produção semi-sólidos e o mínimo de 50 ppb no setor de tratamento de água, que tende a ter valores mais uniformes.

Como esperado os valores tendem a ter médias baixas no tratamento de água e aumenta ao longo da distribuição para os setores, explicado por possíveis liberações de resíduos das tubulações, liberação de compostos contendo carbono nas áreas produtivas, resíduos de produtos usados na limpeza e sanitização do ambiente e das válvulas.

4.0. Conclusões

Análises para qualificação demonstraram que o analisador de TOC Shimadzu® TOC-VCPH é adequado para quantificação de carbono orgânico total pelos métodos de TOC e NPOC. As curvas de calibração de Carbono Total (TC), Carbono Inorgânico (IC) e a calibração do método de NPOC, obtiveram resultados dentro do intervalo especificado e pelas análises de regressão linear, apresentaram coeficientes de correlação bem próximos da unidade, reafirmando que há correlação linear entre os eixos X (concentração de TOC) e Y (área).

No desenvolvimento da metodologia do TOC para análises para validação de limpeza foi observado que o Limite de Detecção do TOC, comparado com o do Espectrofotômetro, realmente possui menor limite de detecção, concentrações mínimas de paracetamol foram detectadas. As metodologias de recuperação do swab e do béquer apresentaram resultados satisfatórios e mostraram ser simples.

O monitoramento da água purificada por análises de TOC é rápido e eficiente. Dez pontos de água foram analisados diariamente e os resultados se encontraram dentro do limite máximo permitido de 500 ppb, mostraram que o sistema de tratamento de água e as linhas de distribuição para os pontos de uso estão em condições adequadas, evitando a proliferação de contaminantes na água purificada.

5.0. Referências Bibliográficas

- [1] ALEIXO, L.A.; BORGES, S. Desempenho de sistemas de pH, condutividade e TOC para adequação à USP 25, *Pharmaceutical Technology*, Ed. Brasileira, V.07(3), 2005
- [2] THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. 29 ed. Rocckville: The United Pharmacopeia Conventional, 2002
- [3] COUTO, R.M. A análise de TOC na indústria farmacêutica. *Rev. Controle de Contaminação*. São Paulo. 77: 24 – 25. Jun, 2005
- [4] CLARK, K. How to Develop and Validate a Total Organic Carbon Method for Cleaning Applications, *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, V.55 (5), 290-294, 2001

Clementino, M.R.A., Determinação do teor de Carbono Orgânico Total (TOC): Metodologia analítica e Aplicações na Indústria Farmacêutica

- [5] ALENCAR, J.R.B.; CLEMENTINO, M.R.A.; ROLIM NETO, P.J. Validação de Limpeza de equipamentos numa indústria de medicamentos: Estratégia para escolha do “pior caso”. *Revista Brasileira de Farmácia*, 87(1): 13 – 18, 2006
- [6] BISUTTI, I; HILKE, I; RAESSLER, M. Determination of total organic carbon – na overview of current methods. *Trends in Analytical Chemistry*, V.23, (10-11) 2004
- [7] FDA. Guide to Inspectios Validation of Cleaning Processes. ([http: www.fda.gov](http://www.fda.gov), Acesso em 03/02/2006)
- [8] JENKINS, M.K.; ARMSTRONG, J.A; VANDERWIELEN, J.A. Application of Total Organic Carbon Analysis to Cleaning Validation. *Journal of Pharmaceutical Science & Technology*, V.50 (01), Febr 1996
- [9] McLAUGHLIN, M.; ZISMAN, A. The aqueous cleaning handbook. Ed. 3, New York: AL Technical Communications, p. 119-128, 2002
- [10] WALLACE, B.; STEVENS, R.; PURCELL, M.. “Implementing total organic carbon analysis for cleaning validation“. *Pharmaceutical Technology*. Aseptic processing, p. 40-43, 2004
- [11] BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução RE N° 899, de 29.05.2003, Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos, Diário Oficial da União de 02.06.2003
- [12] NÓBREGA, D.L., Validação de Metodologia Analítica para Paracetamol Gotas, Monografia de Conclusão de Curso - Farmácia Industrial, UFPE, 2003
- [13] WHITEHEAD, P. Por que monitorar o TOC em água ultrapura para laboratórios? Ver. *Pharmaceutical Technology*. Ed. Brasileira, V. 08, nº 03, 2005
- [14] BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução RDC N° 210 de 04.08.2003, Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos, Diário Oficial da União de 14.08.2003

ARTIGO III

Validação do Processo de Limpeza dos Equipamentos na produção da Linha de Gotas

Maria Roseane dos Anjos Clementino^{1,2}, João Rui B. Alencar³, Pedro J. Rolim Neto^{2,*}

¹Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A – LAFEPE,
Largo de Dois Irmãos, 1117 Dois Irmãos – CEP – 52171-010 – Recife-PE – Brasil,
Fone: 81.3267.1171, Fax: 81.34413375,
e-mail: roseane.clementino@lafepe.pe.gov.br

²Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Departamento de Ciências Farmacêuticas,
Laboratório de Tecnologia de Medicamentos, Av. Prof. Artur de Sá, S/N, Cidade Universitária –
CEP 50740-521- Recife-PE – Brasil, e-mail: prolim@ufpe.br

(*) Para quem toda correspondência deverá ser enviada

³Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Centro de Tecnologia, Escola de Química
Ilha do Fundão, Bloco E, Sala 207 – CEP 21949-900, Rio de Janeiro – RJ – Brasil
Fone: 21.25627636, Fax: 21.2562.7616, (*) e-mail: ruialencar@yahoo.com.br

Resumo

Na indústria farmacêutica a limpeza dos equipamentos e dos locais de produção é um importante parâmetro avaliado na garantia e o controle de qualidade dos medicamentos produzidos. Para assegurar que os procedimentos de limpeza efetivamente removem os resíduos existentes até o nível de aceitação pré-determinado, utiliza-se a validação de limpeza. A validação de limpeza é parte integrante das Boas Práticas de Fabricação (BPF) e tem como objetivo demonstrar que o resíduo do produto anterior está dentro dos limites de aceitação estabelecidos, desde que tenham sido seguidos os métodos de limpeza definidos no procedimento operacional padrão (POP). Portanto, a validação de limpeza confirma a efetividade do procedimento desenhado, este deve ser minuciosamente estabelecido e seu método de execução deve ser validado. Os limites selecionados e os critérios de aceitação devem ser cientificamente justificados, tanto para os resíduos químicos como os microbianos. As BPF consideram aceitáveis selecionar, para a validação, os “piores casos” entre os produtos ou processos representativos para um grupo similar. Normalmente aceitam-se três aplicações consecutivas do método de limpeza para demonstrar o sucesso da validação, entretanto, cada empresa deve determinar em seu plano mestre de validação (PMV), o número adequado de aplicações. Para garantir que possíveis

mudanças, no processo produtivo, equipamentos e no ambiente não interfiram nas características do processo e qualidade do produto, procedimentos já validados necessitam ser revalidados. Com este propósito, avaliaremos o procedimento para validação de limpeza, da linha produtiva de gotas, escolhendo para análise o "pior caso", Paracetamol 100 mg/ml solução oral.

Palavras-Chave: Validação de Limpeza, Pior-caso, Paracetamol

1. Introdução

A limpeza de máquinas e equipamentos entre lotes de um mesmo ou de diferentes produtos passou a ter tratamento científico a partir de alguns trabalhos [1, 2]. As orientações para o tratamento das situações de validação de limpeza foram inseridas em publicações de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos (BPF) - Resolução da Diretoria Colegiada 210 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, de 04 de agosto de 2003. Em 1993 surgem as diretrizes da FDA para a validação dos processos de limpeza [3]. A partir daí a evolução constante dos regulamentos e legislação tem levado a busca de melhorias, a fim de assegurar que as operações industriais sejam livres de contaminação cruzada [4].

O propósito de um estudo de validação de limpeza é demonstrar que o resíduo do produto anterior está dentro dos limites de aceitação estabelecidos, desde que tenham sido seguidos os métodos de limpeza definidos no Procedimento Operacional Padrão (POP).

No planejamento da validação é importante elencar todos os produtos em fabricação ou a serem fabricados na unidade industrial. O agrupamento ajuda as empresas a elaborar um plano de ação inicial, de acordo com os critérios de risco [5].

A verificação da limpeza pode ser feita pelo método visual ou coletando amostras, que podem ser água de lavagem (enxágüe), solvente de extração, swab ou placebo [6]. O método de coleta é escolhido em função do contaminante procurado, do equipamento ou da superfície, da facilidade para realizá-la e do seu rendimento [7].

Um outro fator importante a considerar na validação de limpeza é a identificação dos pontos críticos. A seleção dos pontos a amostrar depende do conhecimento dos equipamentos, dos processos de fabricação e de limpeza [8]. Os locais de amostragem são escolhidos baseados em localizações mais difíceis de se limpar. Se essas localizações estiverem dentro de limites

aceitáveis, então, as outras localizações devem, portanto, apresentar menos resíduos e estar dentro de limites aceitáveis [9].

Para fundamentar o estudo de validação de limpeza, deve ser desenvolvido um método analítico adequado estabelecendo os níveis de detecção e de quantificação, e validá-los segundo os critérios estabelecidos nos compêndios oficiais e BPF vigentes [9]. Outras análises qualitativas complementares podem ser feitas para assegurar os resultados.

Existem inúmeros contaminantes orgânicos que podem ocorrer na água purificada e também, um único parâmetro pode ser utilizado para quantificá-los: Carbono Orgânico Total (TOC) [10]. Também são medidos o pH e a condutividade, e realizar análises microbiológicas das amostras da água de enxágue e comparar aos limites adotados para água purificada.

A proposta deste trabalho foi realizar a validação de limpeza da fábrica de líquidos por meio do produto Paracetamol gotas com o objetivo de analisar a eficácia dos procedimentos de limpeza, implementando as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos.

2. Material e Métodos

- **Planejamento da Validação**

Para a realização da validação, assim como para todos os procedimentos realizados dentro da indústria farmacêutica, deve ser desenvolvido um planejamento incluindo: uma lista de todos os produtos fabricados na unidade industrial. Essa lista contém nomes dos produtos, dose diária recomendada, substâncias ativas e DL_{50} , agentes conservantes, excipientes, solubilidade dos ingredientes; relação de todos equipamentos usados na fabricação de cada produto e o cálculo de suas respectivas áreas.

Após essa listagem é necessário agrupar os produtos, determinando o nível de resíduos, usando as diversas fórmulas disponíveis e aceitas; escolha da metodologia de amostragem; descrição dos métodos analíticos desenvolvidos com os níveis de detecção e de quantificação validados segundo os critérios estabelecidos nos compêndios oficiais e BPFs vigentes; revisão dos procedimentos operacionais padrão de limpeza, da amostragem e da análise e um calendário de eventos, contendo o tempo necessário para realização da validação [3]. A empresa também deve preparar protocolos específicos de validação por escrito com o procedimento da análise e

metodologia analítica, incluindo a sensibilidade do método, e relatório de validação com os resultados conclusivos [3].

O Paracetamol apresenta-se como um pó cristalino branco e inodoro, ligeiramente solúvel em água, solúvel em água fervente, praticamente insolúvel em clorofórmio e éter etílico. Sua fórmula molecular é $C_8H_9NO_2$, sendo seu peso molecular 151,2 e ponto de fusão 169 – 170,5 C [11].

Deve ser administrado na dose de 10 a 15 mg por quilo de peso, ou seja, 2 a 3 gotas por quilo de peso (por exemplo: uma criança de 10 kg deverá tomar 20 ou 30 gotas, 15 kg tomará 30 ou 45 gotas, assim por diante, até o limite de 60 gotas por dose). Essa administração pode ser repetida 4 a 5 vezes por dia, com intervalo de 4 a 6 horas, não devendo ultrapassar 5 administrações no intervalo de 24 horas [12, 13].

O Paracetamol é muito seguro em doses usuais, mas pode causar dano hepático e renal em superdosagem, com eventual morte por insuficiência hepática fulminante. Deve-se então, administrá-lo com cautela em pacientes com doenças hepáticas de etiologia relacionada ao álcool, pois existe a possibilidade do risco aumentado de hepatotoxicidade. A toxicidade do Paracetamol relaciona-se ao acúmulo de seu metabólito N-acetil-p-benzoquinoneimina, causando necrose hepatocelular [14, 11].

- **Amostragem**

A verificação da limpeza pode ser feita pelo método visual e coletando amostras, que podem ser água de lavagem (enxágüe), solvente de extração, swab ou placebo [6]. O método de coleta é escolhido em função do contaminante procurado, do equipamento ou da superfície, da facilidade para realizá-la e do seu rendimento [7].

A inspeção visual é recomendada como primeiro passo antes de qualquer fabricação e depende da habilidade dos inspetores treinados em perceber a presença de resíduos a olho desarmado [2]. Nenhuma coleta deve ser feita se não for realizado o controle visual. Os equipamentos devem estar isentos de rastros ou partículas visíveis a olho nu [15]. O padrão de visualmente limpo pode até ser utilizado para propósitos de validação e monitoramento. Estima-se que a linha divisória entre o visualmente limpo e visualmente sujo esteja na faixa de 4 mg/cm^2 [15]. Se for calculado o limite de aceitação por área superficial e o valor encontrado indicar algo muito superior a 4 mg/cm^2 , permitindo que as superfícies críticas estejam facilmente visíveis, é

possível padronizar a observação visual como o único critério aceito. Porém, para fármacos potentes em que o critério de aceitação está abaixo de 4 mg/cm^2 , esse padrão não pode ser considerado como adequação da limpeza. Em uma situação dessas, uma superfície visualmente suja representa um indicador de falha na limpeza, mas uma superfície visualmente limpa não indica claramente se esta pode ser enquadrada em um nível aceitável [16].

A amostragem do enxágüe ou água de lavagem se faz coletando uma porção do fluido usado na última operação realizada e logo após submetê-la à análise [17]. Se o material for insolúvel em água, esta técnica pode levar a um falso resultado de “segurança”. O uso de um solvente de extração pode ser um instrumento satisfatório somente para determinar produtos residuais de materiais que são fracamente solúveis em água [17]. Embora a solução de enxágüe seja uma das mais fáceis de se realizar e possua a facilidade de atingir pontos de difícil acesso, não é um sistema bem aceito, por não se poder garantir de qual ponto do equipamento se retirou maior ou menor parte do produto [18]. Apresenta como vantagem a possibilidade de amostrar grandes áreas, porém os resíduos ou contaminantes podem ficar retidos no equipamento [1] não sendo recomendado o uso desta técnica isoladamente. A técnica de lavagem e swab são complementares [19]. O swab é recomendado pelo FDA e permite estabelecer um mapa de contaminação residual, além de verificar localmente a eficiência da limpeza [20]. É considerado um dos processos mais eficientes para recolher amostras das superfícies de equipamentos [18]. Aplica-se aos piores casos e partes mais difíceis de limpar [5].

A técnica para a coleta da amostra consiste em usar inicialmente um dos lados do swab para cobrir toda a área a ser amostrada em um sentido; em seguida usar a outra face para cobrir a mesma área, porém fazendo a coleta num giro de 90° em relação à primeira. Deve ser extraído com solventes apropriados para a determinação analítica. Embora tenha sido adotado 25 cm^2 como área padrão para swab, hoje já se adota 100 cm^2 [17].

A vantagem dessa amostragem direta é que áreas difíceis de se limpar, em que não se pode empregar o processo de enxágüe, pode ser analisada [01], além de ser uma técnica aplicada a uma grande variedade de resíduos [18]. Porém, o tipo de material usado pode interferir no teste [01] e os resultados estão sujeitos a quem faz a amostragem devido às seguintes variáveis: força de atrito, velocidade de execução pouco reproduzível e risco de reposição do contaminante [18]. É recomendado certificar, antes de se iniciar a validação, que o meio da amostragem, o solvente e o material utilizado não irão interferir nos resultados [1].

É importante considerar o fator de extração ou recuperação das substâncias presentes no swab. Se forem distribuídos 100 mg da substância em estudo em uma área de 100 cm² e se forem quantificados 80 mg no swab, então o fator de recuperação será de 80%. Fatores de recuperação abaixo de 65% indicam a necessidade de melhorias, seja no método de amostragem, na extração ou na análise [8, 2].

- **Identificação dos Pontos Críticos**

Um outro fator importante a considerar na validação de limpeza é a identificação dos pontos críticos. A seleção dos pontos a amostrar depende do conhecimento dos equipamentos, dos processos de fabricação e de limpeza e incluem:

- Ponto mais difícil de limpar (pontos estratégicos onde impurezas podem ficar armazenadas);
- Provável ponto de contaminação (bicos de enchimento, mangueiras);
- Representante de cada local de contato (paredes, fundo, misturador, etc);
- Representante de cada tipo de material de construção (aço inoxidável, plástico, silicone, etc) e
- Ponto mais propício a recontaminação (porta de entrada, válvula de saída).

Os locais de amostragem são escolhidos baseados em localizações mais difíceis de se limpar. Se essas localizações estiverem dentro de limites aceitáveis, então, as outras localizações devem, portanto, apresentar menos resíduos e estar dentro de limites aceitáveis [9]. Se forem encontrados resíduos, acima do limite crítico, em locais fáceis de limpar, haverá um indicativo de um sério problema de limpeza [8].

A limpeza dos equipamentos (reator a vapor, bomba centrífuga, suporte de filtro da manipulação e da máquina de envase) foi realizada de acordo com as normas exigidas pela ANVISA, portanto a limpeza de cada equipamento segue seu Procedimento Operacional Padrão (POP) específico.

Primeiramente realizou-se o controle visual, que consiste no primeiro teste para a validação da limpeza. O método de amostragem utilizado foi o da coleta da última água de enxágüe dos equipamentos. Foram escolhidos oito pontos de coleta de acordo com a dificuldade ao acesso do manipulador para realização da limpeza. Os pontos de escolha podem ser evidenciados na Figura 01.

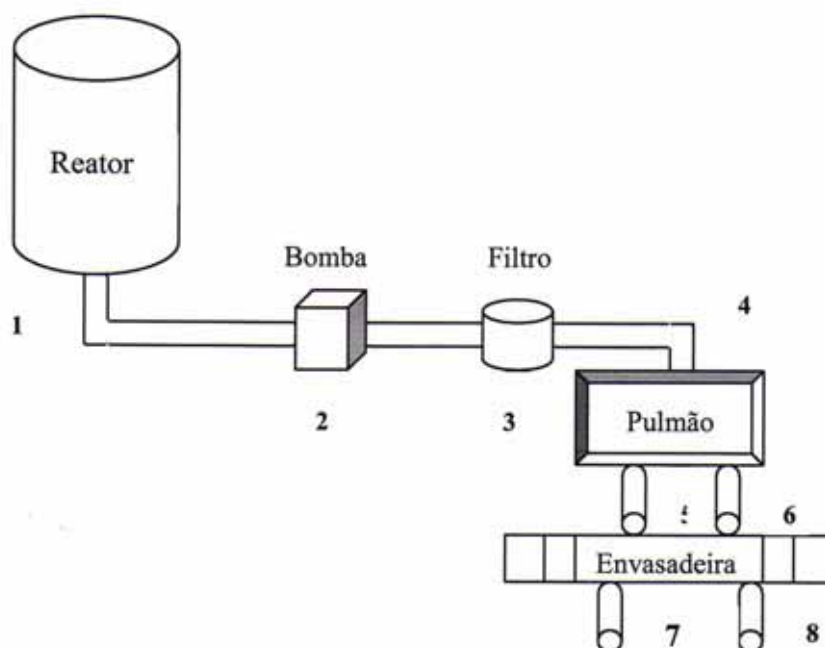


Figura 01 - Escolha dos pontos de coleta da água de enxágüe na Linha de Gotas

1. Saída do reator
2. Saída da bomba
3. Saída do filtro
4. Entrada do pulmão
5. Saída do pulmão 1
6. Saída do pulmão 2
7. Envase 1
8. Envase 2

Nesse estudo foram extraídas oito amostras de diferentes pontos da linha de produção para cada análise a ser realizada. Foram escolhidos três lotes não consecutivos da linha de produção de gotas.

- **Procedimentos Operacionais Padrão de Limpeza**

Na maioria dos laboratórios farmacêuticos os procedimentos de limpeza são realizados manualmente, o que dificulta a reprodutibilidade do processo [8]. Com o objetivo de diminuir essa variável, que depende do manuseio do operador, o FDA (Food and Drugs Administration) e

os órgãos nacionais de Vigilância Sanitária exigem que os POP's sejam descritos detalhando os processos de limpeza utilizados para diferentes peças do equipamento [1, 21].

Recomenda-se que os procedimentos de limpeza sejam elaborados juntamente com os operadores das máquinas e inclua todos os passos de acordo com a sequência que é realizada inclusive: nível de limpeza a atingir; superfície e equipamentos a limpar; modo operatório; tempo e sequência de cada passo; volume e qualidade da água utilizada; temperatura; materiais utilizados; concentração do detergente; rotações por minuto (rpm) e a duração da agitação; pessoal envolvido e frequência da limpeza [2].

- **Análises das Amostras**

Para fundamentar o estudo de validação de limpeza, deve ser desenvolvido um método analítico adequado estabelecendo os níveis de detecção e de quantificação, e validá-los segundo os critérios estabelecidos nos compêndios oficiais e BPF vigentes [9].

Quando possível, é preferível utilizar um método quantitativo ao invés de qualitativo. O número de ensaios a serem realizados nas mesmas condições deve ser fixado antes de se iniciar a validação. Geralmente, admite-se um número de 3 ensaios. O método de análise será escolhido em função dos seguintes critérios: sensibilidade, limiar de detecção, especificidade, linearidade, exatidão, repetibilidade/reprodutibilidade [21].

A metodologia analítica deve ser criteriosamente elaborada e validada para tal atividade, pois ela assegura que as análises executadas forneçam os resultados com confiabilidade, em função do método ou do procedimento utilizado [4].

- **Condutividade**

Há uma variedade imensa de contaminantes inorgânicos e analisá-los individualmente seria muito difícil e trabalhoso. É possível fazer uma determinação da contaminação iônica total de uma solução aquosa utilizando um parâmetro apenas: a condutividade, que é a condutância específica ou sua recíproca, a resistividade (resistência específica) [22].

A condutimetria é um método analítico que se utiliza à capacidade dos íons em solução de conduzir corrente elétrica. A medição direta da condutividade é, potencialmente, um procedimento sensível para medição de concentrações iônicas [23]. Nos contaminantes inorgânicos, a condução de corrente elétrica depende dos íons presentes na água. Quanto mais

pura estiver a água, menor a concentração desses íons e, portanto, menor a condutividade. A temperatura é um fator importante na medição da condutividade, pois quanto menor a temperatura, menor será a condutividade. À medida que água fica mais pura, ou seja, sua condutividade diminui, maior a tendência e a velocidade com, que a água irá agregar contaminantes do meio ambiente, voltando ao seu estado natural. Por isso, é imprescindível que a água ultrapura não seja armazenada e seja obtida no momento de sua utilização [24, 22].

Para realizar a análise da condutividade, utilizou-se um condutivímetro. Foram coletadas oito amostras, referentes a oito diferentes pontos de amostragem nos equipamentos, para cada lote de três lotes não consecutivos. As amostras foram realizadas de acordo com a metodologia analítica previamente validada. Para proceder com a operação de medida da condutividade, antes de ligar o aparelho o eletrodo foi lavado com água purificada e enxuto com papel. Após esta etapa o condutivímetro foi ligado e o eletrodo foi mergulhado na amostra para que a leitura fosse efetuada.

A avaliação da condutividade nas amostras coletadas em diferentes pontos da linha de produção da solução de enxágüe dos equipamentos, foi feita através de análises conforme metodologia previamente validada.

Os limites de aceitação para os valores da condutividade na água foram definidos de acordo com referências estabelecidas para água pura, sendo esta até 1,3 μS [24].

- **pH**

A determinação do pH de uma amostra é feita pela medida da diferença de potencial entre dois eletrodos imersos na solução amostra [23]. Um eletrodo é sensível aos íons H^+ e o outro é chamado de eletrodo de referência, de potencial constante.

Para a análise de medida do pH, foram coletadas oito amostras de para cada lote, de três lotes não consecutivos. Estas foram analisadas de acordo com a metodologia analítica previamente validada, a potenciometria. O potenciômetro utilizado foi um Mettler Toledo, Seven Easy. Os padrões empregados na calibração do aparelho foram:

- pH = 7, Mettler Toledo, lote 14660/05, validade novembro de 2007;
- pH = 4, Mettler Toledo, lote 14659/05, validade novembro de 2007.

Antes de começar o procedimento de medida do pH o aparelho foi calibrado. Para este procedimento prévio, o eletrodo foi retirado da solução de repouso do aparelho, sendo lavado

com água purificada e enxuto com papel. Logo após, o eletrodo foi mergulhado na solução tampão de $\text{pH} = 7$ e então ajustado para este pH . Logo após, o eletrodo foi retirado da solução e lavado com água purificada e solução tampão de $\text{pH} = 4$, para só depois poder ser imerso na solução tampão de $\text{pH} = 4$ e desta forma ser realizada o ajuste para este valor de pH . Após a calibração o eletrodo deve ser lavado com água purificada, enxuto com papel e em seguida mergulhado na amostra para ser realizada a leitura. Retira-se o eletrodo que estava imerso na amostra para proceder sua lavagem com água purificada e então só assim ser imerso na solução de KCL 3M.

A avaliação do pH nas amostras coletadas da solução de enxágüe dos equipamentos, foi feita através de análises conforme metodologia previamente validada. Os limites de aceitação do pH na água foram definidos de acordo com referências estabelecidas para água pura, variando na faixa de 5 a 7 [24].

- **Análise de Carbono Orgânico Total (TOC)**

Existem inúmeros contaminantes orgânicos que podem ocorrer na água purificada e também, um único parâmetro pode ser utilizado para quantificá-los: Carbono Orgânico Total ou Total Organic Carbon (TOC) [10].

A determinação de TOC por métodos físico-químicos envolve primeiramente a remoção de CO_2 da água a ser testada através de purga com nitrogênio. Isto traz problema da dificuldade de remover todo o CO_2 [10].

O segundo passo envolve a adição de reagentes (peróxidos) e a ação de um catalisador (UV ou calor) para iniciar a reação de oxidação. Uma vez completada esta oxidação, o gás carbônico por ela produzido é removido da amostra de água por borbulhamento com nitrogênio e recolhido por adsorção em uma coluna. A seguir é realizada uma adsorção da coluna, através de aumento de temperatura e carreamento com um fluxo de nitrogênio puro. A presença de CO_2 é detectada por espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta e a concentração determinada pela integração do pico.

A segunda técnica é mais simples e envolve a oxidação de compostos orgânicos pela radiação UV. A radiação UV de comprimento de onda 185 nm converte O_2 em ozônio (O_3) que é um agente oxidante forte. Ozônio, por sua vez, reagirá com a água para formar, com participação da radiação UV de 254 nm, radicais livres hidroxilas que, então, reagirão com os compostos

orgânicos, oxidando-os até gás carbônico. A queda de resistividade (ou aumento de condutividade) resultante é, então, medida e correlacionada para leitura de TOC. As vantagens deste método é que ele permite medições em linha de forma rápida e automática, sendo bastante sensível (<1ppb TOC), reprodutível e não utilizam reagentes.

O aparelho de TOC utilizado foi um Shimadzu TOC – VCPH certificado em julho de 2005. Para esta análise foram coletadas oito amostras referentes a oito diferentes pontos de amostragem de para cada lote. Foram analisados três lotes não consecutivos. As amostras coletadas em frascos âmbar e previamente lavadas com ácido nítrico 30%, as tampas foram retiradas e colocadas uma em cada *vial* do aparelho de TOC. O método escolhido para realizar esta análise foi o NPOC, método do Carbono Orgânico Não – Purgável.

A análise conjunta dos resíduos de princípio ativo, detergente e álcool presentes nas amostras coletadas da solução de enxágüe foi realizada com o aparelho de detecção de TOC. Para a utilização do TOC nas análises de validação de limpeza o limite definido deve ser convertido para o seu TOC equivalente. Neste estudo foi adotado o valor de 10 ppm sugerido pelo FDA para limite de princípio ativo, por não se tratar de um produto cuja toxicidade fosse tão elevada para justificar critérios de aceitação mais restritivos [21].

- **Análises Microbiológicas**

Quantificam-se também bactérias utilizando métodos que empregam a filtração em membranas microporosas e posterior incubação com meios de cultura ou, mais recentemente, quimiluminescência [10, 23]. Os resultados são expressos em UFC/mL (unidades formadoras de colônias por mL) e a quantidade de partícula é controlável por tecnologias de remoção específica (microfiltração e osmose reversa) [24].

A metodologia utilizada para o controle microbiológico, avalia a qualidade bacteriológica da água, de acordo com a presença de bactérias como: coliformes totais, bactérias heterotróficas, *Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli* e *Salmonella sp.* As amostras foram analisadas de acordo com a metodologia analítica, previamente validada de acordo com o procedimento operacional padrão de contagem microbiológica da água.

Os limites de aceitação microbiológicos para solução de enxágüe coletada nos oito pontos da linha de produção devem ser estabelecidos de acordo com a rota de administração e natureza do próprio produto.

Para se realizar a análise da contaminação microbiológica, foram coletadas oito amostras, para cada lote, referentes a oito diferentes pontos de coleta na linha, de três lotes não consecutivos, da última água de enxágüe. As coletas foram feitas em frascos estéreis de 500 mL, fornecidos pela Divisão microbiológica do Departamento de controle de qualidade. Para este procedimento utiliza-se a flambagem como método asséptico, evitando assim possíveis contaminações externas. Logo após a realização da coletas as amostras foram enviadas ao setor responsável pelo teste.

- **Limite de Aceitação**

Um aspecto essencial na validação de limpeza é determinar o quanto de limpeza é eficiente. Essa pergunta é respondida através dos limites analíticos estabelecidos para os resíduos esperados. Os limites selecionados como critérios de aceitação devem ser justificados cientificamente [9].

A limpeza do equipamento envolve tanto o produto finalizado quanto o próximo a ser fabricado. Deste modo, o ponto inicial para a determinação de qualquer limite de aceitação é a definição da quantidade de resíduos que pode ser encontrada no produto seguinte, sem apresentar qualquer risco. Como os métodos mais modernos apresentam limites de detecção cada vez menores, um processo de limpeza considerado aceitável anteriormente pode se tornar, posteriormente, inaceitável [2]. Se os níveis de contaminação ou residual não são detectados, não significa que a inexistência de resíduos após a limpeza significa que os níveis de contaminantes maiores que a sensibilidade ou limite de detecção não estão presentes na amostra [1].

Os critérios publicados pelo Laboratório Lilly e citados pelo FDA estabelecem que o equipamento deve estar visivelmente limpo. Qualquer agente ativo do produto após a limpeza deve estar presente em níveis máximos de 10 ppm e níveis máximos de 1/1000 da dose mínima diária da substância ativa em relação à dose máxima diária do produto subsequente, que é o fator de segurança [6].

Para cálculo do limite da substância ativa no produto subsequente, é necessário a dose mínima diária da substância que foi produzida anteriormente e a dose máxima diária do próximo produto a ser fabricado:

$$L_1 = (0.001) \times \frac{\text{dose mínima do ativo no produto A}}{\text{dose máxima do produto B}} \quad (\text{equação 01})$$

em que, 0,001 representa o fator de segurança, A o produto em processo e B o produto subsequente a ser fabricado. O valor calculado deve ser comparado ao valor padrão de 10 ppm e o menor deles utilizado nos cálculos posteriores [6].

O fator de segurança é comumente utilizado como parte dos cálculos baseados na dose usual para os limites residuais da validação de limpeza. Na fórmula tradicional, 0,001 ou 1/1000 representa o fator de segurança. Algumas empresas utilizam diferentes fatores de acordo com a via de administração das drogas. Por exemplo: 0,0001 para administração parenteral, 0,001 para uso oral e 0,01 para uso tópico. Entretanto, no caso de produtos de uso tópico deve-se levar em conta o veículo de administração, pois pode haver uma absorção em nível sistêmico [7]. Além desses três limites citados pelo FDA e pelos representantes das indústrias farmacêuticas, outros critérios também podem ser adotados abordando outros parâmetros como a área superficial dos equipamentos e o limite na amostra analisada. De acordo com Le Blanc *et al*, uma vez determinado o limite de resíduo no produto subsequente, o próximo passo é definir o limite de resíduos em termos de nível de contaminação da substância ativa pela área superficial do equipamento, que depende do tamanho do lote e da área superficial do equipamento:

$$L_2 = \frac{LPP \times TLPP}{ASE} \times 1000 \quad (\text{equação 02})$$

em que LPP (Limite no Produto subsequente) é determinando como menor valor de L1 e 10 ppm, TLPP é o tamanho do lote do produto subsequente em Kg, ASE equivale à área superficial do equipamento em cm² e 1000 é o fator de conversão para expressar em ppm [6].

Caso mais de um produto possa ser fabricado seguindo os padrões do produto A, os limites da área superficial L2 para limpeza devem ser calculados individualmente. Para fins de validação de limpeza, o limite de resíduos deve ser definido como o menor valor [6].

Amostragem pelo método de swab pode-se calcular o limite aceitável de resíduos no solvente em que o swab é imerso. Para isso é necessário saber o limite de resíduos por área superficial (L₂), a área amostrada, em cm², e a quantidade total de solvente em que está imerso o swab, em gramas [6]:

$$L_3 = \frac{L_2 \times \text{área amostrada}}{\text{Total de solvente em imersão}} \quad (\text{equação 03})$$

Limites microbiológicos devem ser estabelecidos com base na via de administração e na natureza do próprio produto e não se pode esperar que o equipamento esteja totalmente livre de

microorganismos, principalmente se a lavagem final envolver água não estéril. A presença de organismos entéricos como *E. coli* ou *Enterococcus* é inaceitável [6].

É necessário avaliar a eficiência dos produtos de limpeza para remover os resíduos. Entretanto é esperado que depois da lavagem não tenha resíduos de detergente no equipamento. Porém, muitas vezes é mais fácil remover o produto do que o próprio detergente utilizado para a limpeza [1]. É importante que a remoção dos agentes de limpeza seja validada e para detecção de detergentes tem se utilizado os equipamentos de TOC com limite máximo de 10 ppm [9].

3.0. Resultados e Discussão

- **Critérios para escolha do Produto**

Devido ao grande número de medicamentos produzidos na linha de líquidos LAFEPE, torna-se inviável a revalidação de limpeza de todos os equipamentos para todos os produtos. Portanto selecionou-se o produto no qual o caso foi escolhido como o mais crítico, ou seja, o pior caso, aquele onde existe uma maior dificuldade nos procedimentos de limpeza e desinfecção.

Para essa escolha, são utilizados critérios como a solubilidade do produto em água (produtos menos solúveis são mais difíceis de remover) e a toxicidade – Dose letal / DL₅₀ (produtos com baixo índice terapêutico são mais críticos). Além disso, houve a avaliação de qual produto apresentava uma maior dificuldade de limpeza dos equipamentos [5].

O paracetamol foi o medicamento de escolha, devido a baixa solubilidade em água e apresenta dificuldade de limpeza, apesar de que a sua toxicidade se aproxima das demais substâncias que são produzidas na linha em questão [5]. A solubilidade e a toxicidade dos medicamentos produzidos na linha de gotas encontram-se listadas na Tabela 01.

Tabela 01 - Dose letal e solubilidade dos produtos fabricados na linha de gotas do LAFEPE.

Produtos da Linha de Gotas	Solubilidade em água	DL ₅₀ Oral (mg/Kg)
Paracetamol	Pouco solúvel	338
Metoclopramida	2000	270
Dipirona	Solúvel	285
Sulfato Ferroso	Solúvel	319

Fonte: ALENCAR et al/2006.

Com base nessas informações, o Paracetamol foi escolhido por apresentar um alto grau de dificuldade de limpeza e a menor solubilidade em água, lembrando que a sua toxicidade é semelhante a dos demais produtos produzidos nesta linha.

- **Análise Visual**

Os critérios de aceitação publicados pelo Lilly e citados pelo FDA estabelecem que o equipamento deve estar visivelmente limpo. A análise visual dos equipamentos da linha de gotas foi realizada macroscopicamente, com iluminação adequada, verificando-se a olho nu que não havia rastros ou partículas indesejáveis.

- **Análise Microbiológica**

Os resultados da avaliação da solução de enxágüe estão expostos logo abaixo, onde podem ser observados nas médias da linha o valor encontrado para bactérias heterotróficas está dentro da faixa adequada, considerando o controle efetuado para a água pura definido como 100 UFC/mL para bactérias heterotróficas e ausência de patógenos como: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e coliformes totais. Resultados descritos nas Tabelas 02, 03 e 04.

Tabela 02 - Contagem microbiológica da água de enxágüe da limpeza na linha de produção do paracetamol Lote 1

Equipamentos	Pontos de Coleta	Bactérias Heterotróficas (até 100 UFC/mL)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Coliformes Totais	<i>E.coli</i>
Reator	Saída do reator	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Bomba	Saída da bomba	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Filtro	Saída do filtro	0,05	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Pulmão	Entrada do pulmão	0,01	Ausentes	Ausentes	Ausentes
	Entrada do pulmão	0,04	Ausentes	Ausentes	Ausentes
	Saída do pulmão	0,65	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Envase	Envase	0,15	Ausentes	Ausentes	Ausentes
	Envase	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Média da Linha		0,1125	Ausentes	Ausentes	Ausentes

Tabela 03 - Contagem microbiológica da água de enxágue da limpeza na linha de produção do paracetamol Lote 2

Equipamentos	Pontos de Coleta	Bactérias Heterotróficas (até 100 UFC/mL)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Coliformes Totais	<i>E.coli</i>
Reator	Saída do reator	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Bomba	Saída da bomba	0,065	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Filtro	Saída do filtro	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Pulmão	Entrada do pulmão	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
	Entrada do pulmão	0,015	Ausentes	Ausentes	Ausentes
	Saída do pulmão	0,01	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Envase	Envase	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
	Envase	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Média da Linha		0,011	Ausentes	Ausentes	Ausentes

Tabela 04 - Contagem microbiológica da água de enxágue da limpeza na linha de produção do paracetamol Lote 3

Equipamentos	Pontos de Coleta	Bactérias Heterotróficas (até 100 UFC/mL)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Coliformes Totais	<i>E.coli</i>
Reator	Saída do reator	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Bomba	Saída da bomba	0,01	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Filtro	Saída do filtro	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Pulmão	Entrada do pulmão	0,03	Ausentes	Ausentes	Ausentes
	Entrada do pulmão	0,001	Ausentes	Ausentes	Ausentes
	Saída do pulmão	0,001	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Envase	Envase	0,001	Ausentes	Ausentes	Ausentes
	Envase	0,04	Ausentes	Ausentes	Ausentes
Média da Linha		0,010	Ausentes	Ausentes	Ausentes

• Carbono Orgânico Total (TOC)

Oito amostras da água de lavagem foram analisadas no aparelho de TOC, pelo método de NPOC. A média de TOC por equipamento e da linha produtiva foi calculada para análise do valor real de TOC, pois se trata de um tipo de amostragem geral e não local (swab). O aumento nos valores do TOC em alguns pontos é devido ao acúmulo de resíduos (detergente, excipientes, princípio ativo, microrganismos) que não são retirados dos equipamentos pelas lavagens. Porém, a média de TOC na linha produtiva apresenta valor satisfatório abaixo de 10 ppm (10.000 ppb) nos três lotes analisados. Na Tabela 05 os resultados de TOC obtidos em cada equipamento dos três lotes.

Tabela 05 – Quantificação do TOC em amostras da água de enxágue da limpeza na linha de produção do paracetamol dos Lotes 1, 2 e 3.

Pontos de Amostragem	TOC (ppb) Lote 1	TOC (ppb) Lote 2	TOC (ppb) Lote 3	Média TOC/Equipamento
Saída do reator	265,7	1.093	385,7	581,36 ± 196,78
Saída da bomba	226,1	566	402,6	398,23 ± 169,99
Saída do filtro	247,3	763	409,7	473,33 ± 263,67
Entrada do pulmão	267,7	1.000	771,8	679,83 ± 391,44
Saída do pulmão 1	404,6	2.378	605,1	1.129 ± 306,93
Saída do pulmão 2	442,2	2.160	615,3	353,22 ± 316,10
Envase 1	6.286	16.232	1.773	8.097 ± 7,39
Envase 2	1.793	12.478	1.270	5.180 ± 6,32
Média na linha	1.241	4.583	779,15	

Após calcular as médias de TOC para a linha de equipamentos nos três lotes (Tabela 6) e distribuí-las no gráfico, observa-se a tendência de aumentar a concentração de resíduos na parte final da linha que compreende o envase, devido ao acúmulo de resíduos, pois se trata de peças pequenas e que têm contato por mais tempo com o produto (Figura 02).

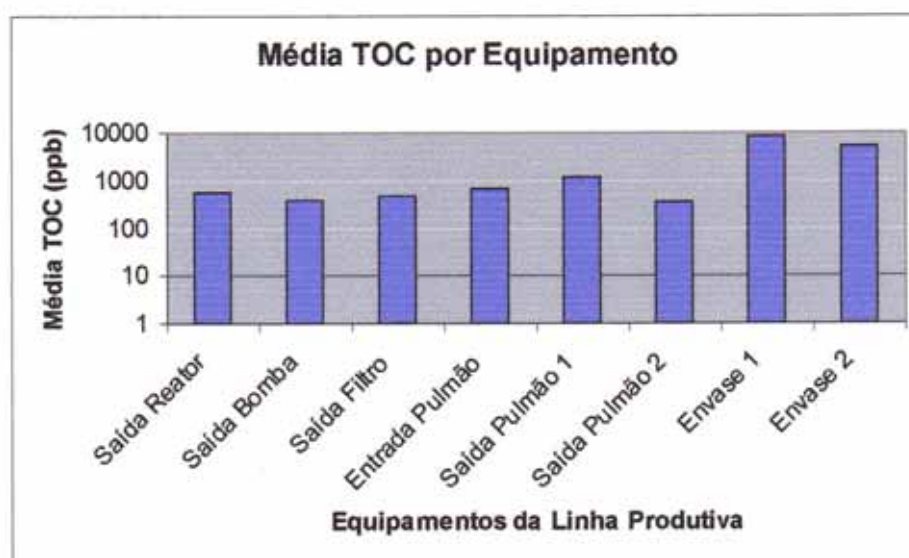


Figura 02 - Média de TOC da água de enxágue dos equipamentos da linha produção do paracetamol Lotes 1, 2 e 3.

• pH

Os resultados obtidos nestas análises foram satisfatórios, obedecendo à faixa de variação ideal pH (5 – 7) neutro (Tabela 06), porém pela análise estatística ANOVA o *F calculado* é maior

que o *F crítico* (tabelado), mostrando que há diferença significativa no intervalo de 95% de confiança entre os resultados de pH dos lotes analisados (Tabela 07).

Tabela 06 – Medidas do pH da água de enxágüe dos equipamentos da linha produção do paracetamol - Lotes 1, 2 e 3.

Pontos de Amostragem	pH (5 - 7) 1º Lote	pH (5 - 7) 2º Lote	pH (5 - 7) 3º Lote
Saída do tanque	5,90	5,57	6,06
Saída da bomba	5,76	5,72	6,05
Saída do filtro	5,99	5,73	6,07
Entrada do pulmão	6,08	5,76	6,06
Saída do pulmão 1	6,05	5,60	5,92
Saída do pulmão 2	6,01	5,63	5,90
Envase 1	6,02	5,75	5,87
Envase 2	5,86	5,68	5,72
Média na Linha	5,95 ± 0,1089	5,68 ± 0,0721	5,95 ± 0,1259

Tabela 07 – Análise estatística ANOVA das medidas do pH da água de enxágüe dos equipamentos da linha produção do paracetamol - Lotes 1, 2 e 3.

Fonte da variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	F calculado	F crítico
Entre grupos	0,425038	2	0,212519	24,5935	3,55456
Dentro dos grupos	0,155543	18	0,008641		
Total	0,580581	20			

• Condutividade

Os resultados obtidos nestas análises foram satisfatórios, obedecendo à faixa de variação ideal de até 1,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$, quanto mais pura estiver a água, menor a concentração dos íons e, portanto, menor a condutividade (Tabela 08), porém pela análise estatística ANOVA o *F calculado* é maior que o *F crítico* (tabelado), mostrando que há diferença significativa no intervalo de 95% de confiança entre os resultados de pH dos lotes analisados (Tabela 09).

Tabela 08 - Medidas da condutividade da água de enxágue dos equipamentos da linha produção do paracetamol - Lotes 1, 2 e 3.

Pontos de Amostragem	Condutividade (até 1,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$) Lote 1	Condutividade (até 1,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$) Lote 2	Condutividade (até 1,3 $\mu\text{S}/\text{cm}$) Lote 3
Saída do tanque	0,80	0,80	0,60
Saída da bomba	0,84	1,33	0,56
Saída do filtro	0,87	0,95	0,51
Entrada do pulmão	0,82	1,15	0,56
Saída do pulmão 1	0,89	0,94	0,64
Saída do pulmão 2	0,77	1,03	0,72
Envase 1	0,87	1,00	0,73
Envase 2	0,90	0,97	0,74
Média na Linha	0,84 $\pm$ 0,04	1,02 $\pm$ 0,15	0,63 $\pm$ 0,08

Tabela 09 – Análise estatística ANOVA das medidas da condutividade da água de enxágue dos equipamentos da linha produção do paracetamol Lotes 1, 2 e 3.

Fonte da variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	F calculado	F crítico
Entre grupos	65535	3	65535	65535	3,098393
Dentro dos grupos	65535	20	65535		
Total	0,85189	23			

4.2.5. Análise dos Resíduos do Princípio Ativo

Esta análise consiste no doseamento da substância ativa em questão. O doseamento dos resíduos de Paracetamol nas amostras coletadas foi realizado utilizando uma metodologia previamente validada. Neste método selecionado a quantificação de resíduos é feita de acordo com a equação da reta, previamente determinada através dos estudos de linearidade da Validação da Metodologia Analítica para o Produto Paracetamol Gotas. [25]

A equação da reta encontrada foi:

$$Y = 0,0656X - 0,0087 \quad \text{Equação 04}$$

Onde:

Y : Leitura das absorvâncias;

X : Concentração do princípio ativo em ppm.

A limpeza do equipamento envolve tanto o produto finalizado quanto o próximo a ser fabricado. Deste modo, o ponto inicial para a determinação de qualquer limite de aceitação é a

definição da quantidade de resíduos que pode ser encontrada no produto seguinte sem apresentar qualquer risco. Então é de grande importância calcular o limite da substância ativa no produto subsequente a ser fabricado, para que desta forma seja escolhido o seu limite de aceitação. Neste estudo o produto subsequente é Dipirona gotas. [5]

Qualquer agente ativo do produto após a limpeza deve estar presente em níveis máximos de 10 ppm e níveis máximos de 1/1000 da dose mínima diária da substância ativa em relação à dose máxima diária do produto subsequente, que é o fator de segurança. Para calcular o limite de resíduos da substância ativa no produto subsequente (LPS), deve-se considerar a dose mínima diária da substância produzida antes da limpeza a ser validada e a dose máxima diária do produto a ser fabricado, segundo a equação:

$$\text{LPS} = 0,001 \frac{\text{Dose mínima do produto A}}{\text{Dose máxima do produto B}}$$

LPS = Limite no produto subsequente

Produto A = Produto em processo de limpeza

Produto B = Produto subsequente a ser fabricado

Considerando a dose mínima da Dipirona 0,25 g/dia e a dose máxima do paracetamol 4,0 g/dia, o valor obtido para o limite de substância no produto subsequente foi de 62,5 ppm [10].

O valor estabelecido no Guia para Inspeções de Processos de Limpeza do *Food and Drug Administration* (FDA) como limite para qualquer produto é de 10 ppm, portanto neste trabalho considerou-se este valor por ser mais conservador do que o encontrado no cálculo.

Para realizar a análise de resíduos do princípio ativo, foram coletadas oito amostras referentes a oito diferentes pontos de coleta nos equipamentos, para cada lote. Foram analisados três lotes não consecutivos. As amostras foram levadas ao espectrofotômetro e lidas em duplicata no comprimento de onda de 244 nm.

Analisando a tabela com os resultados obtidos, observa-se que há variação nos valores, significando acúmulo do teor de princípio ativo em algumas partes dos equipamentos. Foi calculado a média da concentração de princípio ativo na linha de equipamentos em cada lote, e os resultados foram abaixo do limite de 10 ppm (Tabela 10).

Tabela 10 - Doseamento por espectrofotometria do resíduo de princípio ativo nas oito amostras dos três lotes analisados.

Pontos de Coleta	Absorvância (Y)			Concentração (X) (ppm)			Média por Equipamento
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 1	Lote 2	Lote 3	
Saída Reator	0,0025	0,0065	0,005	0,1707	0,2317	0,2088	0,204± 0,03
Saída Bomba	0,002	0,0070	0,008	0,1631	0,2393	0,2546	0,219± 0,04
Saída Filtro	0,005	0,0030	0,0010	0,2088	0,1783	0,1479	0,178± 0,03
Entrada Pulmão	0,006	0,0055	0,003	0,2240	0,2164	0,1783	0,206± 0,02
Saída Pulmão 1	0,0035	0,030	0,006	0,1859	0,5899	0,2241	0,333± 0,22
Saída Pulmão 2	0,005	0,027	0,010	0,2088	0,5442	0,2850	0,346± 0,17
Envase 1	0,020	0,277	0,240	0,4375	4,3551	3,7911	2,861± 2,11
Envase 2	0,014	0,056	0,08	0,3460	0,9862	1,3521	0,895± 0,50
Média na linha				0,243	0,917	0,8052	

Na parte do envase há acúmulo residual de princípio ativo devido ao tamanho da peça que dificulta o processo de limpeza e a presença de borracha para vedação no envase 1. Para melhor visualização da tendência de acumulação dos resíduos, os resultados estão dispostos na Figura 3.

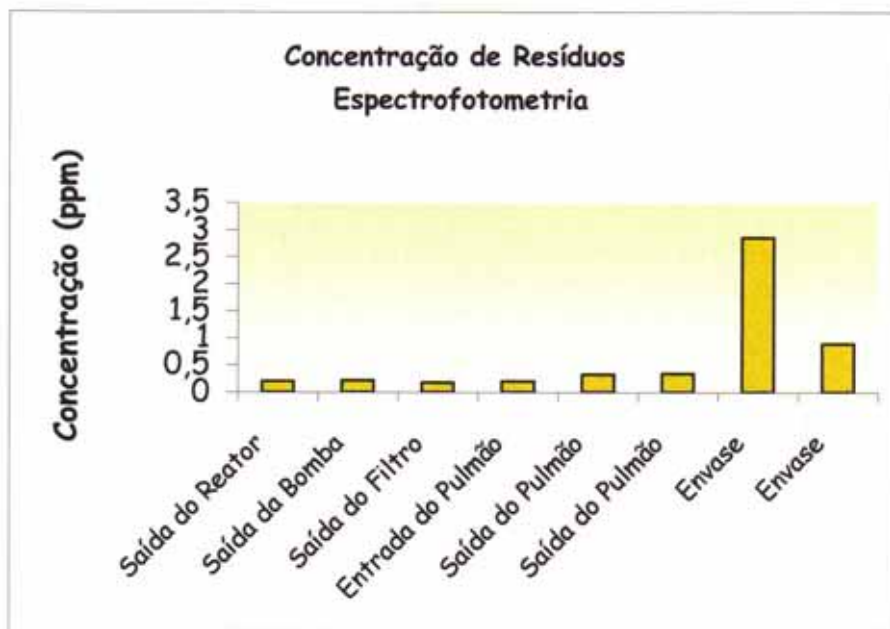


Figura 3 - Média da variação da concentração dos resíduos do princípio ativo nos diferentes pontos analisados

5.0. Conclusão

O produto de escolha para a validação de limpeza foi o Paracetamol 100mg/mL LAFEPE por ser considerado o caso mais crítico da linha de gotas, devido a fatores como solubilidade, toxicidade, dificuldade de limpeza dos equipamentos e fator de ocupação da linha. Para ser efetuada a validação de limpeza da linha de gotas, foram realizadas análises de resíduos do princípio ativo, TOC, contaminação microbiológica e inspeção visual, empregando-se várias metodologias após três lavagens. Os resultados obtidos nas análises mostram que não existe contaminação microbiológica que possa comprometer a linha de produção e que as quantidades de resíduos encontradas nas amostras estão dentro do limite aceitável e que os procedimentos operacionais padrão de limpeza foram aprovados e certificados pelo estudo de validação.

Para os pontos da máquina de envase, são sugeridos mais cuidados no procedimento de limpeza desse equipamento, devido ao tamanho da peça e ao tempo de contato com o produto fabricado, além de treinamento constante de todas as pessoas envolvidas nos processos de fabricação, limpeza, inspeção e controle desses procedimentos.

Tendo em vista que a atividade de limpeza e descontaminação fazem parte integrante dos processos de produção de medicamentos, o desafio atual é redesenhar os procedimentos operacionais de limpeza, sempre que necessário, e executar revalidações periódicas com o objetivo de reduzir o tempo para troca de produtos e, simultaneamente, evitar a contaminação cruzada.

6.0. Referências Bibliográficas

- [01] AGALLOCO, J. "Points to consider" in the validation of Equipment cleaning procedures, *Journal of Parenteral Science and Technology*, 1992.
- [02] Le BLANC, "Cleaning Validation in Active Pharmaceutical Ingredient Manufacturing Plants", 1999.
- [03] BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução RDC Nº210 de 04.08.2003, Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos, Diário Oficial da União de 14.08.2003.
- [04] ZARDO, H.; JÚNIOR, N. S.; MORETTO, L. D. Validação de limpeza aplicada à indústria farmacêutica. *Pharmaceutical Technology*, São Paulo, n.05, vol. 7, p. 58-64, 2003.

Clementino, M.R.A., Determinação do teor de Carbono Orgânico Total (TOC): Metodologia analítica e Aplicações na Indústria Farmacêutica

- [05] ALENCAR, J.R.B.; CLEMENTINO, M.R.A.; ROLIM NETO, P.J., Validação de Limpeza de equipamentos numa indústria de medicamentos: Estratégia para escolha do “pior caso”. *Revista Brasileira de Farmácia*, 87(1): 13 – 18, 2006.
- [06] HERLIM, J. P., Validação dos Processos de Limpeza, Controle de Contaminação, 1997.
- [07] JÖNCK, R. H., Validação de processo de limpeza na indústria farmacêutica, Controle de Contaminação, p. 14 – 25, 2002.
- [08] PINTO, T.J.A. Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos, 2^a Ed. Atheneu Editora São Paulo. São Paulo/2003.
- [09] Le BLANC, D.; Definição de critérios de aceitação cientificamente justificados na validação de produtos farmacêuticos. *Pharmaceutical Technology*, São Paulo, p. 34-38, 1999.
- [10] THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. 29 ed. Rockville: The United Pharmacopeia Conventional, 2002.
- [11] THE MERCK INDEX, 12 th Edition, 1996.
- [12] GILMAN, A.G.; GOODMAN, L. S.; RALL, T. W.; MURAD, F. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 7^ªEd., 1997.
- [13] LAFEPE, Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco. Memento Terapêutico. Recife, 2004.
- [14] KOROLKOVAS, A.; FRANÇA, F. F. A. Dicionário Terapêutico Guanabara. Ed. Guanabara Koogan, 2002/2003.
- [15] PERES, L. C. Validação de Processos de Limpeza na Indústria Farmacêutica. *Fármacos e Medicamentos*, São Paulo, n. 13, p. 20-23, 2001.
- [16] ROMANACH, R. J.; GARCIA, S. F.; VILLANUEVA, O., PERES F. Esforço conjunto na limpeza de equipamentos numa fábrica de ingredientes ativos farmacêuticos. *Pharmaceutical Technology*, São Paulo, p. 30-36, 1999.
- [17] Le BLANC, “Using Statistics in Sampling”, 2003.
- [18] Le BLANC, “The Use of Safety Factors in Limits Calculations”, 2002.
- [19] RIGOLIN, C.R.A. Sistemas de Tratamento de Água para Uso Farmacêutico, *Fármacos e Medicamentos*, São Paulo, n.26, p.40 – 56, 2004.
- [20] RUEY-CHING H.; KOWALSKI, D. L.; TRUELOVE, J. E. Definição do processo e análise dos dados para validação de limpeza. *Pharmaceutical Technology*, São Paulo p. 4-8, 1999.

Clementino, M.R.A., Determinação do teor de Carbono Orgânico Total (TOC): Metodologia analítica e Aplicações na Indústria Farmacêutica

[21] FDA. Guide to Inspections Validation of Cleaning Processes. ([http: www.fda.gov](http://www.fda.gov), Acesso em 03/02/2006).

[22] SEVERO, A.,A.,L.; BARRETO. R.; BARBOSA. A. “A Condutimetria na Validação de Limpeza de uma Solução de Ácido ascórbico a 20%”. Controle de Contaminação, São Paulo p. 31 – 33, nº 78, 2005.

[23] FARMACOPÉIA BRASILEIRA, Quarta Edição, Parte II, Terceiro Fascículo, 2002.

[24] BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade e Bioequivalência. Volume II. Módulo 2: Água para Análises Químicas, 2002.

[25] NÓBREGA, D.L., Validação de Metodologia Analítica para Paracetamol Gotas, Monografia de Conclusão de Curso de Farmácia Industrial, UFPE, 2003.

CONCLUSÕES

CONCLUSÕES

Estratégias de agrupamento por produtos na validação de limpeza têm sido utilizadas onde um grande número de produtos similares são fabricados nos mesmos equipamentos e que utilizam os mesmos procedimentos de limpeza. Este trabalho apresenta uma estratégia para escolha do produto "pior caso" do complexo industrial farmacêutico - LAFEPE[®] (Recife – PE, Brazil) formado por várias unidades de produção. A estratégia é baseada no cálculo de um índice – *WCI* – que considera, simultaneamente, informações de toxicidade, solubilidade, dificuldade de limpeza além da taxa de ocupação de cada produto em cada unidade.

O produto de escolha para este trabalho foi o Paracetamol 100 mg/mL LAFEPE por ser considerado o caso mais crítico da linha de gotas. Para ser efetuada a validação de limpeza da linha de gotas, foram realizadas análises de resíduos do princípio ativo, TOC, contaminação microbiológica e inspeção visual, empregando-se várias metodologias. Os resultados obtidos nas análises mostram que não existe contaminação microbiológica que possa comprometer a linha de produção e que as quantidades de resíduos encontradas nas amostras estão dentro do limite aceitável, podendo concluir que os procedimentos operacionais padrão de limpeza foram aprovados e certificados pelo estudo de validação.

Análises para qualificação foram realizadas antes do uso para Validação de Limpeza e demonstraram que o analisador de TOC Shimadzu[®] TOC-VCPH é adequado para quantificação de carbono orgânico total pelos métodos de TOC e NPOC. As curvas de calibração de Carbono Total (TC), Carbono Inorgânico (IC) e a calibração do método de NPOC, obtiveram resultados dentro do intervalo especificado e pelas análises de regressão linear, apresentaram coeficientes de correlação bem próximos da unidade, reafirmando que há correlação linear entre as variáveis X (concentração de TOC) e Y (área).

Foi realizado monitoramento da água purificada por análises de TOC em dez pontos de água analisados diariamente e os resultados se encontraram dentro do limite máximo permitido de 500 ppb, mostraram que o sistema de tratamento de água e as linhas de distribuição para os pontos de uso estão em condições adequadas, evitando a proliferação de contaminantes na água purificada.

PERSPECTIVAS

PERSPECTIVAS

- Aplicação da análise de monitoramento do Carbono Orgânico Total (TOC) na Validação do Processo de Limpeza dos equipamentos das Linhas de Formas Farmacêuticas Sólidas, Sólidas Antiretrovirais, Líquidos Não Antibióticos, Líquidos Antibióticos e Tuberculostáticos.
- Validação do Sistema de Tratamento de Água com análises microbiológicas, pH, condutividade e TOC no período de 12 meses.
- Quantificar resíduo de detergente em amostras para Validação de Limpeza, pelo analisador de TOC, utilizando detergente padrão.
- Relação da quantidade de TOC e a concentração do princípio ativo equivalente, a partir de soluções preparadas com substâncias químicas de referência dentro dos produtos escolhidos na análise do pior-caso.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEIXO, L.A.; BORGES, S. Desempenho de sistemas de pH, condutividade e TOC para adequação à USP 25, *Pharmaceutical Technology*, Ed. Brasileira, V.7 (03), 2005
- ALENCAR, J.R.B., CLEMENTINO, M.R.A.; ROLIM NETO, P.J. Validação de Limpeza de equipamentos numa indústria de medicamentos: Estratégia para escolha do “pior caso”. *Revista Brasileira de Farmácia*, 87(1): 13 – 18, 2006.
- BISUTTI, I; HILKE, I; RAESSLER, M. Determination of total organic carbon – an overview of current methods. *Trends in Analytical Chemistry*, V.23 (10-11). 2004
- BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução RDC Nº210 de 04.08.2003, Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos, Diário Oficial da União de 14.08.2003.
- BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Manual de Boas Práticas em Biodisponibilidade e Bioequivalência, Volume II, Módulo 2: Água para Análises Químicas, Diário Oficial da União de 03.05.2002.
- CLARK, K.; How to Develop and Validate a Total Organic Carbon Method for Cleaning Applications, *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, V.55 (5), 290-294, 2001.
- COOPER, D.W. “Using swabs for Cleaning Validation: A Review”, Excerpt from Cleaning Validation: An Exclusive Publication, The Texwipe Company. 2004
- COUTO, R.M. A análise de TOC na indústria farmacêutica. *Rev. Controle de Contaminação*. São Paulo. 77: 24 – 25, 2005.
- FDA. Guide to Inspection Validation of Cleaning Processes. ([http: www.fda.gov](http://www.fda.gov), Acesso em 03/02/2006)
- FILHO, M. J. Água: Reagente para análises clínicas, *Controle de Contaminação*, p. 18-22, 2004
- FREDRIC, R., The basic facts of cleaning validation. ([http: www.pharmainfo.net](http://www.pharmainfo.net), Acesso em: 10/12/05).
- JENKINS, M.K.; VANDERWIELEN, A.J.; ARMSTRONG, J.A. Application of Total Organic Carbon Analysis to Cleaning Validation. *Journal of Pharmaceutical Science & Technology*, Vol.50, n.1, 1996.
- JÖNCK, R. H., Validação de processo de limpeza na indústria farmacêutica, *Controle de Contaminação*, p. 14 – 25, 2002.

Clementino, M.R.A., Determinação do teor de Carbono Orgânico Total (TOC): Metodologia analítica e Aplicações na Indústria Farmacêutica

KAISER, H.J.; MINOWITZ, M. Analyzing cleaning validation samples: what method? (<http://www.ivthome.com>, Acesso em: 23/11/05).

LABAN, F. "Validação dos Processos de Limpeza," *Controle de Contaminação*, 18 – 22, 1997.

LE BLANC, D.; Definição de critérios de aceitação cientificamente justificados na validação de produtos farmacêuticos. *Pharmaceutical Technology*, São Paulo, p. 34-38, 1999.

McLAUGHLIN, M.; ZISMAN, A. The aqueous cleaning handbook. Ed. 3, New York: AL Technical Communications, p. 119-128, 2002.

PERES, L. C. Validação de Processos de Limpeza na Indústria Farmacêutica. *Fármacos e Medicamentos*, São Paulo, n. 13, p. 20-23, 2001.

ROMAÑACH, R. J.; GARCIA, S. F.; VILLANUEVA, O., PERES F. Esforço conjunto na limpeza de equipamentos numa fábrica de ingredientes ativos farmacêuticos. *Pharmaceutical Technology*, São Paulo, p. 30-36, 1999.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. 29 ed. Rockville: The United Pharmacopeia Conventional, 2002.

THOMAS, O.; KHORASSANI, H. E.; TOURAUD, E.; BITAR, H. TOC versus UV spectrophotometry for wastewater quality monitoring. *Talanta* 50 (743 – 749), 1999.

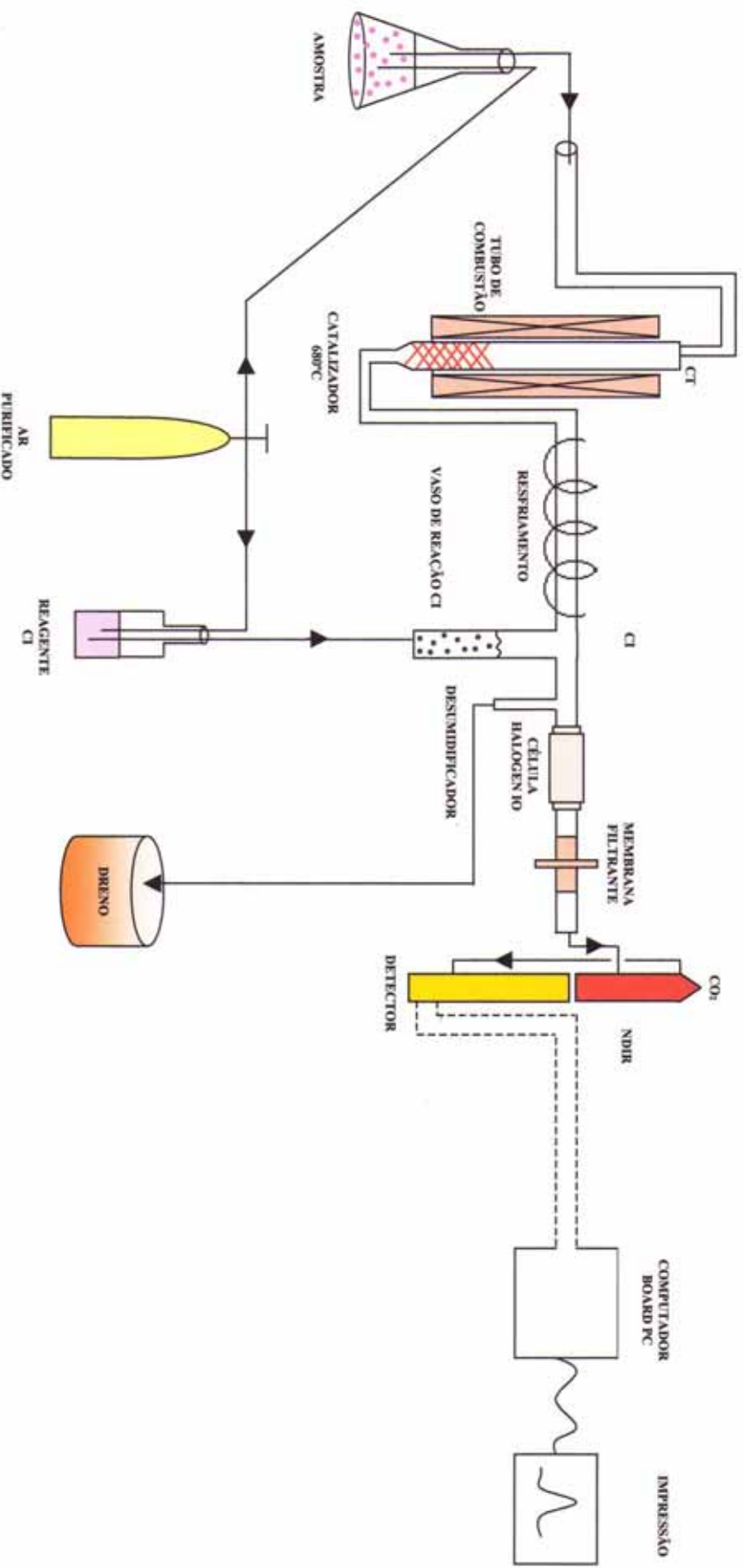
VENERANDA, N. Água para análises requer tratamento especial. *Rev. Controle de Contaminação* (14 – 18), 2004.

WHITEHEAD, P. Por que monitorar o TOC em água ultrapura para laboratórios? Ver. *Pharmaceutical Technology*. Ed. Brasileira, V.8 (3), 2005

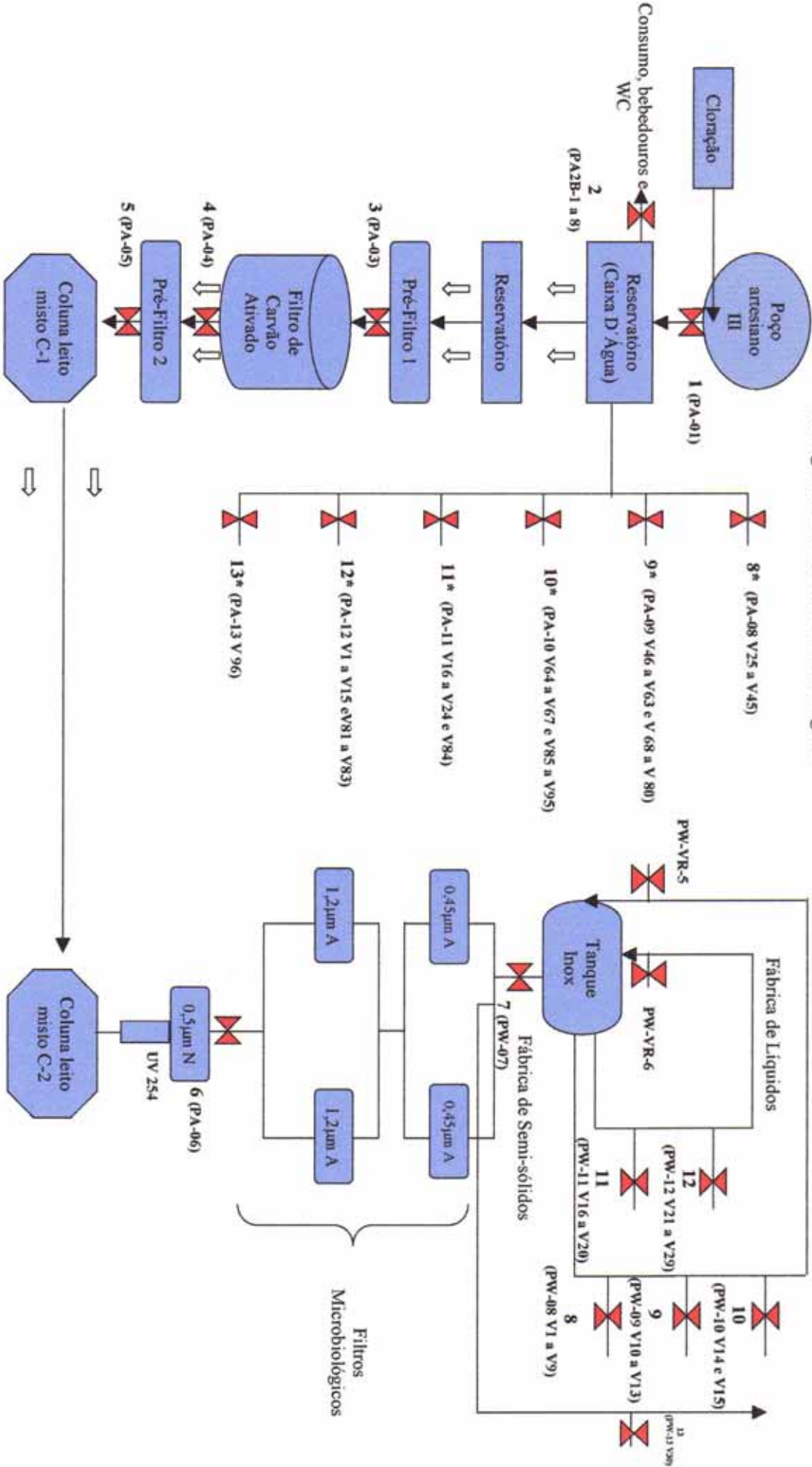
ZARDO, H.; JÚNIOR, N. S.; MORETTO, L. D. Validação de limpeza aplicada à indústria farmacêutica. *Pharmaceutical Technology*, São Paulo, n.5, vol. 7, p. 58-64, 2003.

ANEXOS

ESQUEMA DO ANALISADOR DE TOC



Fluxograma dos Pontos de Amostragem



Legenda:
PW: Água Purificada
PA: Ponto de Amostragem Potável
V: Válvula
VR: Válvula Retorno
UV: Ultravioleta
C: Coluna

CERTIFICATE No. 04090646 S

The following personnel is authorized to install and operate in compliance with GLP/GMP (IQ/CQ):

Instruments: Analytical Instruments

Approved on: 2004/09/14

Issued on: 2004/09/14 Valid until: 2006/05/31

Name: Antonio Angelo Tellini

Company: SINC do Brasil Instrumentacao Cientifica Ltda

Quality Assurance Department

Analytical & Measuring Instruments

SHIMADZU CORPORATION

