

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

**QUANTIFICAÇÃO DO PIOR CASO CONTAMINANTE EM UM ESTUDO DE
VALIDAÇÃO DE LIMPEZA DE EQUIPAMENTOS DE UMA FÁBRICA DE
MEDICAMENTOS**

**Demóstenes Figueiredo de Sousa
Orientador: Msc. Pablo Queiroz Lopes**

**JOÃO PESSOA
2013**

DEMÓSTENES FIGUEIREDO DE SOUSA

**QUANTIFICAÇÃO DO PIOR CASO CONTAMINANTE EM UM ESTUDO DE
VALIDAÇÃO DE LIMPEZA DE EQUIPAMENTOS DE UMA FÁBRICA DE
MEDICAMENTOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Coordenação do Curso de Graduação em
Farmácia, do Centro de Ciências da Saúde, da
Universidade Federal da Paraíba, como parte
dos requisitos para obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

Orientador: Msc. Pablo Queiroz Lopes

JOÃO PESSOA

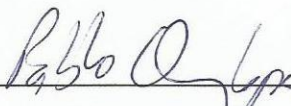
2013

DEMÓSTENES FIGUEIREDO DE SOUSA

**QUANTIFICAÇÃO DO PIOR CASO CONTAMINANTE EM UM ESTUDO DE
VALIDAÇÃO DE LIMPEZA DE EQUIPAMENTOS DE UMA FÁBRICA DE
MEDICAMENTOS**

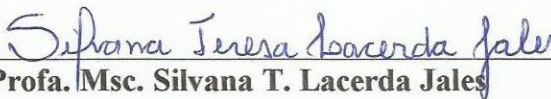
Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado à Coordenação do Curso de
Graduação em Farmácia, do Centro de
Ciências da Saúde, da Universidade
Federal da Paraíba, como parte dos
requisitos para obtenção do título de
Bacharel em Farmácia.

Aprovada em 06 / 09 / 2013



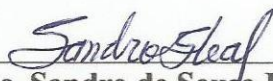
Prof. Msc. Pablo Queiroz Lopes

ORIENTADOR



Profa. Msc. Silvana T. Lacerda Jales

EXAMINADORA INTERNA



Msc. Sandro de Sousa Leal

EXAMINADOR EXTERNO

**Dedico à Déborah Bezerra Monteiro, pela
contribuição e amizade.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ser meu amigo de todas as horas.

Aos meus pais, por terem me educado e investido em mim.

A tia Berenice e a minha avó Umbelina, por terem me acolhido em João Pessoa.

Ao professor Pablo Queiroz Lopes, por ter me orientado neste trabalho.

A Fernanda (Joinha), Mayza, Andressa (Deguê) e Paraguai (Thiago Coutinho), pela amizade verdadeira e pelos momentos que vivemos durante a graduação e que sempre ficarão na minha memória.

A Farmacêutica Déborah Bezerra Monteiro, pela dedicação e contribuição para a concretização deste trabalho.

A Débora Pedrosa (Debinha) e Pimentel pelos momentos de descontração, por levarem as amostras para o COQUA e por transmitirem tanta alegria. Quanta saudade!

Aos demais funcionários da Divisão de Antirretrovirais pela colaboração.

A Bruno, Aíla, Diógenes, Selma, Amanda e Jovita pelas orientações que deles recebi.

A Miriam por ter disponibilizado as placas *rodac plate*.

A Tamirys pela prestatividade .

Aos funcionários do refeitório por fornecerem refeições deliciosas.

A Débora e Rose, pelo bom tratamento e por terem acertado o tamanho da minha roupa.

Aos estagiários(as) Amanda Almeida, Ana Paula, Izadora, Carolina, Flavielle, Sarah, Phelipe e Rafael, pela amizade que foi construída durante o estágio.

SOUSA, D. F. Quantificação do pior Caso Contaminante em um Estudo de Validação de Limpeza de Equipamentos de uma Fábrica de Medicamentos. Monografia de Conclusão de Curso. Curso de Farmácia. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.

RESUMO

A limpeza de equipamentos é um processo de extrema importância na produção farmacêutica, tornando-se imprescindível a sua validação para garantir a qualidade dos medicamentos. Em colaboração com o Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco Governador Miguel Arraes, foi realizada nas suas instalações, mais especificamente na Divisão de Antirretrovirais, trabalho de validação e revalidação de limpeza em diversos equipamentos. O estudo teve início com modificação dos procedimentos operacionais padrão (POPs) de limpeza do setor, seleção dos equipamentos e produtos analisados, sendo os piores casos definidos através de uma análise que teve como critério a solicitação de produção, sendo escolhido o medicamento que é produzido em maior escala. Selecionaram-se os pontos-críticos a serem amostrados e recolheram-se as amostras após a limpeza de três lotes consecutivos. A cada amostragem foram realizados os testes de inspeção visual, determinação do resíduo de princípio ativo, determinação de resíduo do agente de limpeza e de contaminação microbiológica. Todos os equipamentos que fazem parte da linha de produção de Zidovudina (AZT) + Lamivudina (3TC), foram utilizados, neste estudo de validação de limpeza, a saber: malaxadeira, granulador oscilante, estufas, granulador cônico, misturador em “V”, compressora, máquina de revestimento e máquina de envase. O trabalho desenvolvido colaborou com o setor de Boas Práticas de Fabricação, fornecendo dados importantes para a gestão de processos de produção e melhoria contínua da qualidade.

Palavras-Chave: Validação, Limpeza, Antirretrovirais, Equipamentos, POP.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Imagem demonstrando teste de recuperação da amostragem por swab em Placa de aço inoxidável 316L	33
Figura 2 – Curva controle da Zidovudina	38
Figura 3 – Curva controle da Lamivudina	38
Figura 4 – Curva Controle da Zidovudina	40
Figura 5 – Curva controle da Lamivudina	40

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Demonstração do melhor subsequente	29
Tabela 2 – Valores das áreas dos picos de AZT + 3TC obtidos na curva controle	37
Tabela 3 – Fator de recuperação para Zidovudina.....	39
Tabela 4 – Fator de recuperação para Lamivudina.....	39
Tabela 5 – Valores das áreas dos picos de AZT + 3TC obtidos na curva controle	40
Tabela 6 – Resíduo de AZT em cada ponto de amostragem.....	41
Tabela 7 – Resíduo de 3TC em cada ponto de amostragem	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AZT: Zidovudina

BPF: Boas Práticas de Fabricação

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DDI: Didanosina

HPLC: *Hight Performance Liquid Chromatography*

LAFEPE: Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco

LD: Limite de Detecção

LQ: Limite de Quantificação

NPOC: Carbono Orgânico não-purgável

pH: Potencial Hidrogeniônico

POP: Procedimento Operacional Padrão

PVP: Polivinilpirrolidona

RDC: Resolução da Diretoria Colegiada

R.V.: Relatório de Validação

Rev.: Revisão

TOC: Carbono Orgânico Total

UFC: Unidade Formadora de Colônia

3TC: Lamivudina

LISTA DE SÍMBOLOS

cm²: centímetro quadrado

g: grama

h: hora

Kg: quilograma

L: litro

mg: miligrama

mL: mililitro

mm: milímetro

min.: minutos

nº: número

ppb: parte por bilhão

ppm: parte por milhão

UFC/placa: Unidade Formadora de Colônia por placa

µg: micrograma

µm: micrômetro

µS/cm: microsiemens por centímetro

µg/mL: micrograma por mililitro

°C: Graus Celsius

%: percentual

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Limites para contaminação microbiológica	17
Quadro 2 – Equipamentos da linha de produção do setor de antirretrovirais que foram submetidos a verificação de limpeza.....	24
Quadro 3 – Modelo de check list para avaliação dos POPs de limpeza da divisão de Antirretrovirais do LAFEPE	25
Quadro 4 – Lista de equipamentos e os produtos que neles são fabricados	27
Quadro 5 – Resultado da avaliação dos POPs da divisão de antirretrovirais do LAFEPE.....	36

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	12
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	14
2.1 Qualidade na Indústria Farmacêutica	14
2.2 Garantia da Qualidade de Medicamentos no Brasil	14
2.3 Limpeza de Equipamentos da Linha de Produção	15
2.4 Contaminação dos Equipamentos na Indústria Farmacêutica	16
2.5 Contaminação Microbiológica na Indústria Farmacêutica.....	16
2.6 Definição de pior caso	18
2.7 Descrição do processo de produção	18
2.8 Método analítico.....	19
3 OBJETIVOS	22
3.1 Objetivo geral.....	22
3.2 Objetivos específicos	22
4 IDENTIFICAÇÃO DOS EQUIPAMENTOS	23
5 RESPONSABILIDADES.....	24
6 METODOLOGIA	25
6.1 Avaliação do procedimento de limpeza	25
6.2 Definição de critérios para escolha do agente de limpeza.....	26
6.2.1 Vero Clean	26
6.3 Determinação do pior caso: contaminante e subsequente	27
6.4 Determinação dos limites de aceitação	29
6.5 Teste de Recuperação do <i>Swab</i>	32
6.6 Amostragem do resíduo de princípio ativo	34
6.7 Amostragem do resíduo de detergente	34
6.8 Amostragem da Contaminação Microbiológica.....	35
6.9 Intervalos para limpeza	35
7 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
7.1 Avaliação do procedimento de limpeza	36
7.2 Teste de recuperação por <i>swab</i>	37
7.3 Determinação da quantidade de resíduo do princípio ativo	39
8 CONCLUSÃO.....	43
REFERÊNCIAS.....	44

1 INTRODUÇÃO

Um programa apropriado de Garantia da Qualidade, aplicado à produção de produtos farmacêuticos, deverá assegurar que, dentre outras coisas, exista a validação de metodologias analíticas, processos, limpeza e equipamentos dentro da fábrica de medicamentos (VALENTINI; SOMMER; MATIOLI, 2007).

A validação faz parte da evolução do conceito de qualidade, onde a prevenção tornou-se primordial e economicamente mais interessante, principalmente em uma realidade cada vez mais competitiva. Hoje, a validação tornou-se uma das principais ferramentas da Garantia da Qualidade, fazendo cair por terra, alguns conceitos ultrapassados de apenas se controlar a qualidade (YUGUE, 2000).

Em 2010, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou uma resolução de diretoria colegiada (RDC) que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos (BPF). Dentre as determinações das BPF está a validação de limpeza que é uma das formas mais eficazes de se controlar a contaminação e a contaminação cruzada. A validação de limpeza, como um conceito geral, é a prova documentada de que os procedimentos de limpeza removem os resíduos a níveis pré-determinados de aceitação, levando em consideração fatores tais como tamanho do lote, dose, toxicologia e tamanho do equipamento a ser limpo (BRASIL, 2013).

Os processos de validação de limpeza, os quais contemplam as responsabilidades, descrição dos equipamentos, as estratégias de limpeza e analítica, assim como a justificativa dos limites de resíduos, consistem de duas atividades principais. A primeira é o desenvolvimento e validação do procedimento de limpeza usado para remover ativos, impurezas, produtos de degradação, agentes de limpeza e microrganismos das superfícies dos equipamentos e, a segunda, envolve o desenvolvimento e a validação do método para quantificar os resíduos das superfícies dos equipamentos utilizados na produção (FDA, 1993; MILENOVIC et al, 2008).

Existem muitas técnicas de amostragem para determinação de resíduos relatadas na literatura, das quais se destacam: amostragem direta ou por *swab*, água de rinsagem, amostragem por solventes e amostragem por produto ou placebo (não recomendável). Para cada uma delas há algumas vantagens e desvantagens amplamente descritas e discutidas (MINGNORANCE, 2005; BRASIL, 2006; OLIVEIRA, 2011).

Para controlar a efetividade da limpeza dos ativos farmacêuticos, é necessário que se use um método analítico que seja seletivo para a determinação da substância em estudo e

também apresente sensibilidade suficiente, visto que em geral, as contaminações são encontradas em baixas concentrações (KLINKENBERG; STREEL; CECCATO, 2003).

Portanto, a validação de limpeza numa indústria farmacêutica é requisito imprescindível dentro das boas práticas de fabricação de medicamentos e para que os produtos tenham a segurança e a eficácia garantida.

No Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco Governador Miguel Arraes (LAFEPE) é produzido em escala industrial o medicamento LAFEPE ZIDOVUDINA + LAMIVUDINA comprimido revestido. Essa associação de Zidovudina (AZT) + Lamivudina (3TC) é obtida por granulação via úmida, numa área de produção de larga complexidade, na qual são produzidos mais de cinco medicamentos da classe dos antirretrovirais, em três diferentes apresentações farmacêuticas. Assim, torna-se imprescindível reduzir os riscos associados à contaminação cruzada (OLIVEIRA, 2011).

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Qualidade na Indústria Farmacêutica

Todas as indústrias farmacêuticas devem preocupar-se em fabricar medicamentos que atendam os propósitos para os quais foram elaborados. O setor industrial farmacêutico enfrenta vários desafios de segurança e no controle dos diversos processos, devido a necessidade de cumprir com as legislações elaboradas pelas entidades regulatórias de cada país, que implementam as normas de boas práticas de fabricação e, dessa maneira, garantir a qualidade de seus produtos (OLIVEIRA, 2006).

Entretanto, a qualidade do medicamento não é uma responsabilidade exclusiva do setor industrial farmacêutico. Estão incluídos como parceiros nessa missão, os fornecedores e todos os segmentos envolvidos até que o medicamento chegue ao consumidor final, sendo que a falta de qualidade acarreta custos como reclamações, perda de clientes e confiabilidade, reposições de produtos - que devem ser efetuadas sem custo para o consumidor, ações judiciais, assim como outras situações constrangedoras para a empresa (ANDRADE, 2012).

A produção de medicamentos obriga a uma verificação profunda e rigorosa, pois os aspectos morais e legais relacionam-se intimamente a estes produtos. Na realidade, qualquer erro cometido no decorrer da fabricação pode traduzir-se em risco para o paciente incluindo, eventualmente, a morte (ANDRADE, 2012).

Apesar das exigências e da vasta legislação de conhecimento do colegiado e dos inspetores da vigilância sanitária, somente a partir de 1999, quando foi criada a ANVISA, é que houve um avanço significativo a respeito do tema em questão no Brasil.

2.2 Garantia da Qualidade de Medicamentos no Brasil

Como dito anteriormente, o Brasil só começou a evoluir mais rapidamente no que diz respeito à qualidade de medicamentos com o advento da ANVISA.

Criada pela Lei n.º 9.782, de 26 de janeiro de 1999 (Lei 9.782/99), a Agência Nacional de Vigilância Sanitária é uma autarquia sob regime especial, ou seja, uma agência reguladora caracterizada pela independência administrativa, estabilidade de seus dirigentes durante o período de mandato e autonomia financeira; e que tem como campo de atuação todos os

setores que possam afetar a saúde da população brasileira. Sua competência abrange tanto a regulação sanitária quanto a regulação econômica do mercado (BRASIL, 1999).

Com isso, evidentemente, entram na lista desses setores as indústrias farmacêuticas, como fica bem claro no artigo 7º inciso VII da Lei 9.782/99, que diz que compete a ANVISA autorizar o funcionamento de empresas de comercialização, fabricação, distribuição e importação de medicamentos de uso humano, suas substâncias ativas e demais insumos, processos e tecnologias.

Apesar de ter sido criada em 1999, foi em 2001 que, de forma decisiva, se avançou plenamente e de forma clara para obter-se a garantia da qualidade na fabricação de medicamentos, pois nesse respectivo ano a ANVISA publicou uma resolução – a RDC nº 134, de 13 de julho de 2001 – que tratava sobre as boas práticas de fabricação de medicamentos. Essa RDC foi alterada em 2003 pela RDC nº 210 de 04 de agosto de 2003 que, por sua vez, foi atualizada e hoje está em vigor como RDC nº. 17, de 16 de abril de 2010 (RDC 17/2010).

2.3 Limpeza de Equipamentos da Linha de Produção

Os processo de limpeza usado em operações farmacêuticas atingiram uma ênfase muito grande nas últimas décadas, tanto pelas entidades regulatórias bem como pelas indústrias em si. Sabe-se que parte dos indivíduos são sensíveis a várias substâncias. Alguns estudos provam que cada vez mais a população tem tendência a desenvolver novas e maiores intolerâncias a certos produtos (ANDRADE, 2012).

Os equipamentos da linha de produção do LAFEPE AZT + 3TC, podem ser utilizados para a fabricação de produtos diferentes. Assim, procedimentos de limpeza inadequados, podem resultar num produto adulterado, devido algum tipo de contaminação, podendo levar consequências ao consumidor. Essa contaminação pode acontecer por meio de contaminantes físicos, como excipientes e princípios ativos, resíduos de agente de limpeza, ou por microrganismos (ANDRADE, 2012).

Mesmo sendo abrangente, a RDC 17/2010 ao tratar sobre validação, não especifica como esta deve ser feita, não deixando claro e nem estabelecendo os parâmetros que devem definir se os métodos e procedimentos estão validados. Quanto à validação de limpeza, diz no texto da RDC 17/2010 que os procedimentos de limpeza devem ser validados.

Em termos gerais, o documento que trata da validação de limpeza e estabelece parâmetros para que ela seja feita são os Guias Relacionados à Garantia da Qualidade que foi publicado pela ANVISA em 2006.

Há uma expectativa de que um novo guia seja publicado em breve, já que o guia de 2006 foi criado antes da RDC 17/2010. Em abril deste ano, a ANVISA publicou o Guia de Validação de Limpeza para Empresas Farmoquímicas, que pode, em muitos aspectos, ser utilizado para validar os procedimentos de limpeza nas indústrias farmacêuticas.

2.4 Contaminação dos Equipamentos na Indústria Farmacêutica

Na fabricação de medicamentos, muitos materiais podem contaminar o produto final. Até mesmo materiais de utensílios como escovas, esponjas e panos de limpeza podem causar problemas de contaminação, embora isso seja muito improvável de acontecer, caso a empresa siga as normas de fabricação e segurança (ANDRADE, 2012).

Um dos maiores perigos e preocupações existentes na área de produção de medicamentos é a contaminação cruzada de princípios ativos. Isso se deve, porque se ocorrer esse tipo de contaminação, o contaminante poderá interferir na ação do princípio ativo próprio do medicamento, podendo bloquear o seu poder ou causar um efeito sinérgico (ANDRADE, 2012).

Outro tipo de contaminação com potencial para adulterar a qualidade do medicamento é a contaminação microbiológica. Essa forma de contaminação é muitas vezes surpreendente, podendo ocorrer a qualquer momento, mesmo que a limpeza tenha sido feita de forma efetiva e eficaz (ANDRADE, 2012). Um dos fatores que contribui para que ocorra esse tipo de contaminação é a armazenagem do equipamento em condições de umidade não controlada, pois, segundo Jimenez (2004), a umidade favorece o crescimento de microrganismos.

2.5 Contaminação Microbiológica na Indústria Farmacêutica

Vários são os relatos de infecções atribuídas a produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos contaminados e a influência destes microrganismos sobre o medicamento (JIMENEZ, 2004; PINTO, 2010; SILVA, G. T., 2012).

A capacidade do microrganismo em promover o processo de deterioração do produto depende da sua capacidade em sintetizar enzimas degradativas na qual irão agir sobre o

medicamento. As consequências podem ser: a queda da potência do princípio ativo, a redução da biodisponibilidade, a formação de pigmentos, odores e toxinas, e também a própria degradação do próprio sistema conservante (MAGESTE et al, 2012; SILVA, G. T., 2012)

Uma área fundamental da microbiologia farmacêutica é o controle de qualidade microbiológico, que é responsável pelo estudo dos microrganismos contaminantes associados à produção de produtos farmacêuticos, uma vez que, a contaminação microbiológica torna-se um problema quando esses microrganismos estão presentes no ambiente e nos equipamentos de fabricação acima dos níveis aceitáveis pelo órgão sanitário. Esta preocupação diz respeito tanto a produtos farmacêuticos estéreis como não estéreis e, por isso, o controle microbiológico na indústria farmacêutica está envolvido na compreensão da probabilidade do aumento de contaminações do produto, procurando formas de minimizar essas contaminações, levando em consideração o tipo de produto e o nível de contaminação (FONSECA, 2012).

Na produção de produtos não-estéreis a presença de microrganismos não é por si um problema, porém é importante identificar aqueles que podem representar um risco no processo ou produto final (SILVA, G. T., 2012). A maior preocupação de contaminação de produtos não estéreis na indústria farmacêutica se deve a ausência de microrganismos específicos, como *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. O controle microbiológico, também foca o monitoramento do ambiente em que o medicamento é fabricado, obtendo-se dados que ajudam a constatar se as salas estão limpas, se a limpeza efetuada é eficiente e se os operadores estão executando os procedimentos de forma correta (FONSECA, 2012).

A RDC 17/2010 divide as salas ou áreas de produção em níveis diferentes (e que a RDC chama de graus diferentes) quanto à contaminação microbiológica e estabelece, para cada um desses níveis, limites de contaminação como demonstrado no quadro a seguir.

Quadro 1 – Limites para contaminação microbiológica

GRAUS	Amostra de Ar (UFC/m³)	Placas de Sedimentação (diâmetro de 90mm) (UFC/4horas)	Placas de Contato (diâmetro de 55mm) (UFC/placa)
A	<1	<1	<1
B	10	5	5
C	100	50	25
D	200	100	50

FONTE: (BRASIL, 2010)

2.6 Definição de pior caso

O pior caso é uma situação, às vezes hipotética, onde se estabelece a pior situação que poderia acontecer em uma linha de produção no que se refere à criticidade da limpeza. O pior caso é formado pelo contaminante, ou seja, o produto manipulado previamente na respectiva linha de produção e que poderia vir a contaminar o subsequente. O subsequente é o produto que ao ser contaminado levaria ao paciente a maior dose do contaminante em questão (BRASIL, 2006).

O medicamento que melhor se adequa à categoria de contaminante é aquele que consegue reunir as seguintes propriedades:

- Menor solubilidade no solvente utilizado no procedimento de limpeza;
- Mais difícil de ser removido, segundo a experiência dos operadores;
- Maior toxicidade;
- Menor dose terapêutica.

De todos os requisitos listados acima, a principal característica a ser observada no contaminante é mesmo a solubilidade, sendo que a simples escolha do menos solúvel já basta como critério (BRASIL, 2006).

O melhor candidato a melhor produto subsequente é aquele que apresentar o menor valor para a razão:

Menor Tamanho de Lote / Maior dose Terapêutica
--

2.7 Descrição do processo de produção

O processo de produção do medicamento Zidovudina + Lamivudina comprimido revestido ocorre em três etapas sendo elas: manipulação, compressão e revestimento.

Na manipulação, ocorre a preparação do pó pela granulação via úmida. O processo se inicia com a mistura das matérias-primas, previamente pesadas, num misturador em “V” durante um determinado tempo. Essa mistura de pós deve ser molhada com uma solução hidro-alcoólica constituída de polivinilpirrolidona (PVP) e água purificada. A mistura de pós deve ser colocada na malaxadeira e molhada com a solução hidro-alcoólica até que atinja o ponto de granulação. Em seguida, o granulado é transferido para o granulador oscilante em tamis malha nº6. O tamisado é recolhido em bandejas de aço inox e colocado em estufa com ar circulante numa temperatura de 60°C por um tempo definido.

Com o granulado seco deve-se processar a calibração do mesmo em granulador cônico com tamis malha nº 2 junto com o dióxido de silício coloidal. O granulado volta para o misturador em “V” onde a ele é adicionado glicolato de amido sódico e estearato de magnésio, sendo que a mistura se processa por alguns minutos. Uma amostra do granulado é enviada ao controle de qualidade e após aprovada realiza-se a compressão.

A compressão é realizada na compressora rotativa 2000 25psc com punções de 13,0 mm côncavo. A cada 1 hora é retirada uma amostra para envio ao controle de qualidade.

O ultimo passo para obtenção dos comprimidos de Zidovudina + Lamivudina é o revestimento. É preparada a solução de revestimento em um recipiente de aço inox com auxílio de moinho coloidal realizando uma agitação durante minutos.

2.8 Método analítico

Para quantificação de resíduo de princípio ativo AZT e 3TC, foi utilizada a metodologia analítica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) que encontra-se descrita no relatório de validação de metodologia analítica para doseamento de AZT + 3TC comprimido revestido (R.V nº 037, Rev. B) do LAFEPE.

Foi utilizado o aparelho de CLAE pertencente ao Controle de Qualidade (COQUA) da marca SHIMADZU, modelo LC-10AT, certificado pela SINC Do Brasil Instrumentação Científica Ltda. e TAG 32CLA002. As condições cromatográficas para quantificação de AZT + 3TC são:

- Fase estacionária: Coluna C18 ODS, 12,0 x 4,5mm, 5µm do fabricante Merck
- Fase móvel: Solução tampão acetato de amônio : metanol em gradiente binário
- Fluxo da fase móvel: 1mL/min
- Comprimento de onda de detecção: 270nm
- Temperatura do forno: 30°C
- Volume de injeção: 20µL

Foi definido um Limite de detecção (LD) de 0,1372 para 3TC e 0,1204 ppm para AZT e um Limite de quantificação (LQ) de 0,4572 ppm para 3TC e 0,4013 ppm para AZT.

Para preparação da solução tampão acetato de amônio pesa-se 7,67g de acetato de amônio e transfere-se para um balão volumétrico de 1L o qual já contenha cerca de 800 mL de água ultra-pura. Solubiliza-se a solução. Em seguida, adiciona-se 1 mL de ácido acético glacial R (corresponde a 0,1% de CH₃COOH). Completa-se o volume com água ultra-pura e

homogeneíza. Filtra-se a solução à vácuo com filtro de 0,45 μm . Transfere-se essa fase para a bomba A do cromatógrafo.

Para a preparação do metanol, filtra-se 500 mL de metanol grau HPLC à vácuo em filtro de 0,45 μm . Transfere-se essa fase para a bomba B do cromatógrafo.

2.8.1 Preparação da Amostra

Para a preparação da amostra, após a sonicação por 10 minutos, as soluções contidas nos frascos aos quais os *swabs* foram armazenados foram transferidas para os *vials* após serem filtradas através de unidades filtrantes de 0,45 μm de porosidade e inseridas no cromatógrafo. Dos resultados das áreas dos picos das amostragens dos equipamentos, será subtraído o valor da área média obtida na padronização do *swab*.

Para avaliação dos contaminantes solúveis (resíduo de detergente) foram analisados os contaminantes iônicos inorgânicos (condutividade), os contaminantes orgânicos (TOC ou COT – Carbono Orgânico Total) e o pH.

2.8.2 Condutividade e pH

Para a aferição da condutividade foram utilizados aproximadamente 100 mL da amostra da água de enxágüe e 100 mL da amostra da água purificada utilizada no enxágüe para análise da condutividade. Já o procedimento de análise seguiu o POP específico para a utilização do condutivímetro. Após obter os resultados da água de enxágüe e água purificada, calculou-se o valor corrigido da condutividade que é o resultado da subtração do valor da condutividade da água de enxágüe, pelo o valor da condutividade da água purificada utilizada no enxágüe do equipamento (branco).

Para aferição do pH foram utilizados aproximadamente 100 mL da amostra da água de enxágüe e 100 mL da amostra da água purificada utilizada no enxágüe para análise do pH. Já procedimento de análise seguiu o POP específico para a utilização do potenciômetro. Após obter os resultados da água de enxágüe e água purificada, calculou-se o valor corrigido do pH que foi o resultado da subtração do valor do pH da água de enxágüe, pelo o valor do pH da água purificada utilizada no enxágüe do equipamento (branco).

2.8.3 Carbono Orgânico Total (TOC)

Para a análise de TOC, o método escolhido para sua identificação foi do carbono orgânico não-purgável (NPOC), o método de NPOC permite a concentração de carbono orgânico total (TOC) seja determinada diretamente, evitando erros de interpretação.

As amostras para análise de TOC coletadas foram repassadas para o setor de controle de qualidade de água da empresa, para a realização das análises. As análises seguiram o

procedimento descrito no POP específico para a utilização do equipamento da marca Shimadzu TOC-V CPH/CPN[®].

Após a realização das análises de TOC, condutividade e pH os resultados das amostras foram analisados, para averiguar se os mesmos apresentaram-se com resultados inferiores ao limite adotado de 10 ppm.

As amostras coletadas de contaminação microbiológica foram repassadas para o setor de controle de qualidade microbiológico da empresa, no qual foram feitas as análises.

As análises realizadas seguiram o procedimento descrito no POP específico para o método de contagem de fungos e leveduras, contagem microbiana e pesquisa de patógenos. Obtidos os resultados das análises pelo setor de microbiologia, os mesmos serão repassados para que se possa fazer a análise dos dados.

3 OBJETIVOS

3.1 Ojetivo Geral

Quantificar os resíduos do pior caso contaminante após a limpeza dos equipamentos.

3.2 Objetivos Específicos

Revalidar os procedimentos de limpeza dos equipamentos utilizados na linha de produção de comprimidos revestidos da associação dos antirretrovirais Zidovudina (AZT) + Lamivudina (3TC), através de alteração do método de limpeza dos equipamentos e do detergente utilizado na limpeza dos mesmos, bem como realizar a revisão dos procedimentos operacionais padrão (POPs) por meio da aplicação de *check list*, para que, dessa forma, tais procedimentos se adequassem as orientações descritas nos Guias Relacionados à Garantia da Qualidade.

4 IDENTIFICAÇÃO DOS EQUIPAMENTOS

A linha de produção de sólidos antirretrovirais é constituída de equipamentos utilizados no processo de manipulação, compressão, encapsulamento, revestimento de comprimidos, envase e rotulagem dos medicamentos nas seguintes formas farmacêuticas: comprimido, cápsula e pó. Os equipamentos que foram utilizados para realização da validação de limpeza estão identificados no quadro 2.

Quadro 2 – Equipamentos da linha de produção do setor de sólidos antirretrovirais que foram submetidos a verificação de limpeza.

TAG	EQUIPAMENTOS E COMPONENTES
23MIV001	Misturador em “V” 200L – localizado na área de manipulação de sólidos antirretrovirais
23AMA001	Malaxadeira 200L – localizada na área de manipulação de sólidos antirretrovirais
23GRO001	Granulador oscilante – localizado na área de manipulação de sólidos antirretrovirais
23EST001	Estufa de secagem com 30 bandejas – localizada na área de manipulação de sólidos antiretrovirais
23GRC001	Granulador tamisador cônico – localizado na área de calibração de sólidos antirretrovirais
23CRP001	Compressora rotativa 2000 25psc Manu – Localizada na área de revestimento de comprimidos antirretrovirais
23MRV001	Máquina de revestimento cota 150 Manu – localizada na área de revestimento de comprimidos antirretrovirais
_	Máquina de envase e rotulagem – localizada na área de envase e rotulagem de antirretrovirais

FONTE: Divisão de Antirretrovirais do LAFEPE.

5 RESPONSABILIDADES

Este trabalho envolveu os seguintes setores da empresa:

- **Diretoria Técnica:** É responsável por integrar as gerências envolvidas no processo de validação, fazendo com que seja garantida a completa execução dos protocolos em todos os seus requisitos, bem como a aprovação deste documento em sua totalidade.
- **Coordenadoria de Boas Práticas de Fabricação:** Responsável por coordenar a equipe de validação; organizar, controlar e arquivar toda documentação referente à metrologia, qualificação e validação; gerenciamento das não-conformidades e das ações corretivas; e fornecer suporte técnico para treinamento dos operadores sobre os POPs.
- **Coordenadoria de Controle de Qualidade:** É responsável por tomadas de amostras em pontos de medição; por realizar análise físico-química e microbiológica (quando necessário) e efetuar as análises necessárias para elaboração do Relatório de Validação que será feito após este estudo.
- **Coordenadoria de Pesquisa e Desenvolvimento:** É responsável por desenvolver analiticamente as validações de métodos necessários ao cumprimento das análises físico-químicas de validação de limpeza. Esta coordenadoria divide com o controle de qualidade a possibilidade de prestar colaboração de corpo técnico e infra-estrutura de laboratório para realização de análises físico-químicas.
- **Coordenadoria de Produção:** É responsável por executar as atividades de limpeza dos equipamentos, por informar ao comitê de validação sobre quaisquer mudanças temporárias de processo/equipamento (controle de mudanças). É responsável também pelo remanejamento de operadores e fornecer informações à Coordenadoria de Boas Práticas de Fabricação para adequação de treinamentos setoriais.

6 METODOLOGIA

6.1 Avaliação do procedimento de limpeza

De acordo com os Guias Relacionados à Garantia da Qualidade (2006), o primeiro passo em um estudo de validação de limpeza é fazer uma avaliação do próprio procedimento de limpeza, o que significa dizer que se deve avaliar se o procedimento de limpeza é lógico e, portanto, eficaz.

Para adequar-se as orientações da ANVISA, criou-se um modelo de *check list*, tendo como referência os Guias Relacionados à Garantia da Qualidade, onde era possível marcar (com um “X”) os pontos de cada POP de limpeza de equipamento que precisavam ser revisados e melhorados, como pode ser observado no quadro 3.

Quadro 3 – Modelo de check list para avaliação dos POPs de limpeza da divisão de Antirretrovirais do LAFEPE

REQUISITOS EXIGIDOS	A.C.	A.P.	N.A.
Existe procedimento de limpeza escrito, aprovado e com seus respectivos registros de treinamento anexados.			
Somente funcionários treinados podem executar o processo de limpeza.			
O procedimento detalha pontos críticos dos equipamentos e a maneira como cada ponto deste deve ser limpo.			
Existem códigos de identificação para os vários pontos críticos de limpeza.			
O procedimento detalha os tempos, quantidade de solvente utilizado, tipo de solventes e tipo de detergente.			
O procedimento detalha o método de limpeza (quantas vezes uma determinada área deve ser esfregada, por quanto tempo e em que sentido).			
O material utilizado é padronizado (o procedimento detalha a metodologia de preparação do detergente e estabelece sua concentração de uso).			
O procedimento define por quanto tempo o equipamento pode permanecer sujo, antes que a limpeza seja executada.			
O procedimento define por quanto tempo o equipamento pode permanecer limpo, antes que a limpeza seja executada.			

Legenda: AT: atende; AP: atende parcialmente; NA: Não atende.

Os procedimentos que foram utilizados para a limpeza da linha de AZT + 3TC estão descritos abaixo.

- POP ARV 022 – Limpeza da malaxadeira.
- POP ARV 023 – Limpeza de granulador oscilante.
- POP ARV 024 – Limpeza da máquina de revestimento.
- POP ARV 025 – Limpeza de estufas.
- POP ARV 027 – Limpeza de granulador cônico.
- POP ARV 029 – Limpeza de misturador em “V”.
- POP ARV 034 – Limpeza da compressora rotativa Lawes.
- POP ARV 037 – Limpeza da máquina de envase.

6.2 Definição de critérios para escolha do agente de limpeza

O critério de escolha do agente de limpeza levou em consideração se o produto possuía pH neutro e um componente ativo capaz de remover sujidades orgânicas. O produto utilizado foi o detergente Vero Clean, fabricado pela Diversey Brasil Indústria Química Ltda.

6.2.1 Vero Clean

- Descrição:
 - Detergente: Vero Clean
 - Produto saneante notificado na ANVISA, nº. 25351.030235/2005-90.
 - Fabricante: Diversey Brasil Indústria Química Ltda.
 - Características: detergente neutro indicado para limpeza geral de superfícies laváveis como pisos, louças, metais sanitários, portas, paredes, ralos e superfícies em geral.
- Composição:
 - Dodecilbenzeno sulfonato de sódio
 - Espessante
 - Neutralizante
 - Conservante
 - Corante
 - Fragância
 - Água

6.3 Determinação do pior caso: contaminante e subsequente

No caso da linha de produção de antirretrovirais não existe nenhum produto, atualmente fabricado, que possua grande dificuldade de solubilização em água como pode ser observado no quadro 4. Logo, esse não foi o critério que influenciou na escolha do contaminante.

Quadro 4 – Lista de equipamentos e os produtos que neles são fabricados

Equipamentos e componentes	Produtos	Forma Farmacêutica	Solubilidade dos ativos em água*
Misturador em “V” 200L 23MIV001	Zidovudina	cápsula gelatinosa dura	Levemente solúvel
	Estavudina	Cápsula gelatinosa dura	Solúvel
	Estavudina	Cápsula gelatinosa dura	Solúvel
	Lamivudina	Comprimido revestido	Facilmente solúvel
	Zidovudina + lamivudina	Comprimido revestido	Levemente solúvel**
	Didanosina	pó oral	Ligeiramente solúvel
Amassadeira (ou malaxadeira) 200L 23AMA001	Lamivudina	Comprimido revestido	Facilmente solúvel
	Zidovudina + Lamivudina	Comprimido revestido	Levemente solúvel**
Granulador oscilante 23GRO001	Lamivudina	Comprimido revestido	Facilmente solúvel
	Zidovudina + Lamivudina	Comprimido revestido	Levemente solúvel**
Estufa de secagem 23EST001	Lamivudina	Comprimido revestido	Facilmente solúvel
	Zidovudina +	Comprimido	Levemente

	Lamivudina	revestido	solúvel**
Granulador tamisador cônico 23GRC001	Estavudina	Cápsula gelatinosa dura	Solúvel
	Estavudina	Cápsula gelatinosa dura	Solúvel
	Lamivudina	Comprimido revestido	Facilmente solúvel
	Zidovudina + Lamivudina	Comprimido revestido	Levemente solúvel**
Compressora rotativa 2000 25psc Manu 23CPR001	Lamivudina	Comprimido revestido	Facilmente solúvel
	Zidovudina + Lamivudina	Comprimido revestido	Levemente solúvel**
Máquina de revestimento cota 150 Manu 23MRV001	Lamivudina	Comprimido revestido	Facilmente solúvel
	Zidovudina + Lamivudina	Comprimido revestido	Levemente solúvel**
Máquina de envase e rotulagem	Zidovudina	cápsula gelatinosa dura	Levemente solúvel
	Estavudina	Cápsula gelatinosa dura	Solúvel
	Estavudina	Cápsula gelatinosa dura	Solúvel
	Lamivudina	Comprimido revestido	Facilmente solúvel
	Zidovudina + lamivudina	Comprimido revestido	Levemente solúvel**

FONTE: *Farmacopeia Brasileira IV edição

**Considerou-se a solubilidade da zidovudina, sendo esta menos solúvel que a lamivudina.

A formulação escolhida para a validação de limpeza foi a associação Zidovudina + Lamivudina comprimido revestido. Alguns critérios influenciaram nessa escolha, que apesar de não serem muito comuns, levaram ao atendimento das necessidades da empresa. O motivo principal para essa escolha foi o fato de a Zidovudina + Lamivudina estar sendo produzida em maior número de campanhas no LAFEPE se comparada com os demais produtos, o que

implica dizer que ela acaba tendo um maior tempo em contato com os equipamentos do que os demais.

Além da quantidade de solicitação, também foi considerada a forma de produção da formulação que, pelo fato de ela ser comprimido revestido obtido por granulação via úmida, necessita de uma quantidade maior de equipamentos da fábrica de antirretrovirais para sua produção. Por ser uma associação, ao validar essa limpeza, estará avaliando-se a probabilidade de dois princípios ativos deixarem resíduos nos equipamentos. Portanto, essa questão também foi considerada.

Uma vez escolhido o contaminante, deve-se também escolher o subsequente. Essa escolha foi feita observando, dentre todos os medicamentos produzidos na fábrica de antirretrovirais (exceto o contaminante), qual apresentou o menor valor para a razão:

menor tamanho de lote / maior dose terapêutica

Observando os resultados apresentados na tabela 1 pôde-se concluir que o melhor subsequente foi a Didanosina 4g pó oral.

Tabela 1 – Demonstração do melhor subsequente

PRODUTO	FORMA FARMACÊUTICA	TEOR	Maior dose terapêutica (mg)* (Mdt)	Tamanho do lote (Kg)** (TL)	RAZÃO TL / Mdt
Didanosina	Pó	4g	750	4	5.333,33
Estavudina	Cápsula gelatinosa dura	40mg	80	60	750.000
Estavudina	Cápsula gelatinosa dura	30mg	60	60	1.000.000
Lamivudina	Comprimido revestido	150mg	450	120	266.666,7
Zidovudina	Cápsula gelatrinosa dura	100mg	600	42	70.000

FONTE:Memento Terapêutico LAFEPE, 2006

6.4 Determinação dos limites de aceitação

O Guia de Validação de Limpeza (2006) especifica três metodologias para determinação dos limites de aceitação, a saber:

- 1- Presença de não mais que 0,1%; 1/1000; ou a milésima parte da dose diária mínima do contaminante na dose diária máxima do subsequente.

- 2- Não mais que 10ppm do contaminante no produto subsequente
- 3- Nenhuma quantidade de resíduo deve ser visível após a execução do procedimento de limpeza.

Quando se tem uma associação medicamentosa, como no caso deste estudo, o cálculo do limite de aceitação é feito separadamente para cada um dos componentes ativos da formulação. A metodologia utilizada neste trabalho para determinar os limites de aceitação para AZT e 3TC foi a que delimita a presença de não mais que a milésima parte da dose diária mínima do contaminante na dose diária máxima do subsequente. Dessa maneira, aplicando a equação contida no Guia de validação de limpeza, o cálculo foi realizado como se segue:

- Cálculo para AZT:

Sendo:

A menor dose diária de AZT = 300 mg

A maior dose do DDI = 750 mg

O menor lote do DDI = 4 Kg

Passo A - Determinação do limite de aceitação do AZT no produto DDI:

$$A = \frac{FA \times MTD_{cont} \times MBS_{sub} \times FC}{MaxTD_{sub}}$$

$$A = 0,001 \times 300 \times 4000 \times 1000 / 0,75$$

$$\mathbf{A = 1.600.000 \mu g}$$

Onde:

FA - Fator de segurança: 0,001

MTD_{cont} - Dose mínima diária do contaminante (mg): 300

MBS_{sub} - Tamanho mínimo do lote do subsequente (g): 4000

FC - Fator de conversão mL para µg: 1.000

MaxTD_{sub} - Máxima dose diária do subsequente (g): 0,75

Passo B - Determinação do limite de aceitação do AZT na área total do equipamento:

$$B = A / SRSA$$

$$B = 1.600.000 / 401.000$$

$$\mathbf{B = 3,99 \mu g/cm^2}$$

Onde:

A - Limite de aceitação no produto subsequente (µg): 1.600.000

SRSA - Área total compartilhada pelo produto (cm²): 401.000

Passo C - Determinação do limite de aceitação de AZT na área amostrada:

$$C = \frac{B \times \text{área}}{\text{Volume}}$$

$$C = 3,99 \times 25 / 5$$

$$C = 19,955 \text{ } \mu\text{g/mL ou ppm}$$

Onde:

B - limite de aceitação da área total do equipamento: 3,99 $\mu\text{g/cm}^2$

Área amostrada - 25cm²

Volume de solvente de extração - 5mL

- Cálculo para 3TC:

Sendo:

A menor dose diária de 3TC = 150 mg

A maior dose do DDI = 750 mg

O menor lote do DDI = 4 Kg

Passo A - Determinação do limite de aceitação do 3TC no produto DDI:

$$A = \frac{FA \times \text{MTDcont} \times \text{MBSsub} \times FC}{\text{MaxTDsub}}$$

$$A = 0,001 \times 150 \times 4000 \times 1000 / 0,75$$

$$A = 800.000 \text{ } \mu\text{g}$$

Onde:

FA - Fator de segurança: 0,001

MTDcont - Dose mínima diária do 3TC (mg): 150

MBSsub - Tamanho mínimo do lote do DDI (g): 4000

FC - Fator de conversão mL para μg : 1.000

MaxTDsub - Máxima dose diária do DDI (g): 0,75

Passo B - Determinação do limite de aceitação do 3TC na área total do equipamento:

$$B = A / \text{SRSA}$$

$$B = 800.000 / 401.000$$

$$B = 1,995 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

Onde:

A - Limite de aceitação do AZT no DDI (μg): 800.000

SRSA - Área total dos equipamentos compartilhada pelo produto (cm^2): 401.000

Passo C - Determinação do limite de aceitação de 3TC na área amostrada:

$$C = \frac{B \times \text{área}}{\text{Volume}}$$

$$C = 1,995 \times 25 / 5$$

$$C = 9,97 \mu\text{g}/\text{mL ou ppm}$$

Onde:

B - limite de aceitação do 3TC na área total do equipamento: $9,97 \mu\text{g}/\text{cm}^2$

Área de amostragem- 25cm^2

Volume de solvente de extração - 5mL

Como é possível observar, os resultados dos cálculos acima definem um valor de aceitação, 19,55 ppm para AZT na amostra coletada na área de 25 cm^2 do equipamento. Com base no guia de validação de limpeza (2006) emitido pela ANVISA, quando o limite de aceitação calculado for maior que 10 ppm, esse valor deve ser reduzido para o máximo aceitável (10 ppm). Para 3TC o valor calculado foi de 9,97 ppm, valor esse abaixo do máximo permitido de 10 ppm. Portanto, em consonância com a orientação da ANVISA, o máximo valor aceitável para 3TC será de 9,97 ppm, assegurando assim um menor risco de contaminação cruzada entre os lotes de AZT + 3TC e DDI.

6.5 Teste de Recuperação do Swab

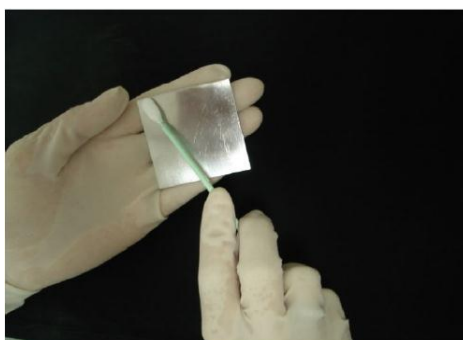
Antes de realizar a amostragem direta por *swab* nos equipamentos, é necessário fazer um teste de recuperação por *swab*, para saber se este consegue, realmente, retirar a substância de interesse de uma superfície por ela contaminada e dessa forma calcular o fator de recuperação do *swab*.

Para o estudo de recuperação deve-se, inicialmente, preparar a solução do contaminante. Para isso, foram pesados 50mg de AZT que foram transferidos para um balão volumétrico de 100mL, ao qual foi adicionado 30mL de água ultrapura e realizada uma sonicação por 40 minutos. Em seguida, foram pesados 50mg de 3TC que foram transferidos para o mesmo balão de 100mL, ao qual foi adicionado 30mL de água ultrapura e realizada uma sonicação por 20 minutos. Em seguida, completou-se o volume de 100mL do balão com água ultrapura. Pipetaram-se 10mL da solução preparada, para um outro balão volumétrico de 100mL e completou-se o volume com tampão acetato de amônio : metanol, obtendo-se assim uma concentração de 50ppm de solução contaminante.

Posteriormente, contaminaram-se seis placas de aço inoxidável 316L de 25cm², com 1mL da solução contaminante de AZT + 3TC, deixando-as secar à temperatura ambiente. Dessa, maneira, as placas foram contaminadas com uma concentração de 10ppm de AZT + 3TC.

Depois que todo solvente evaporou das placas, passaram-se dois *swabs* umedecidos com tampão acetato de amônio:metanol na superfície de cada placa contaminada, uniformemente com um dos lados na direção horizontal e o outro lado na direção vertical, objetivando-se cobrir toda área da placa. Feito isso, os *swabs* foram colocados em tubos de vidro que continham 5mL do tampão acetato de amônio e foram submetidos a uma sonicação por 10 minutos, para que os contaminantes fossem extraídos. Após ter feito a filtração da amostra contaminante em *vials* através de membrana de 0,45µm, as mesmas foram analisadas por CLAE.

Figura 1 – Imagem demonstrando teste de recuperação da amostragem por *swab* em placa de aço inoxidável 316L.



FONTE: (OLIVEIRA, A. T. C., 2011)

Depois, foi feita a quantificação de cada recuperação por meio de uma equação da reta de uma curva controle realizada com as concentrações de 5ppm, 10ppm e 15ppm de um padrão secundário de AZT + 3TC e, por fim, foi encontrado o valor do fator de recuperação por meio da fórmula:

$$F_{\text{rec.}} = \text{Amostra} / \text{Padrão} \times 100$$

Onde:

$F_{\text{rec.}}$ = Fator de Recuperação

Amostra = leitura da amostra

Padrão = leitura do padrão (10ppm)

A padronização dos *swabs* não foi realizada neste estudo, porque a mesma já foi feita por (OLIVEIRA, 2011) em validação de limpeza anterior, utilizando o mesmo tipo de *swab*.

6.6 Amostragem do resíduo de princípio ativo

A amostragem do resíduo de princípio ativo foi realizada passando-se dois *swabs* umedecidos com tampão acetato de amônio : metanol pelas áreas de amostragem de 25cm² de cada equipamento (demarcada com um gabarito) da mesma maneira como foi realizado no teste de recuperação do *swab*. Os *swabs* foram colocados em tubos de vidro que continham 5mL do tampão acetato de amônio, passaram por um processo de sonicação por 10 minutos para extrair os princípios ativos, sendo que as amostras finais foram analisadas por CLAE. Os resultados foram calculados por meio de uma equação da reta de uma curva controle, realizada com as concentrações de 5ppm, 10ppm e 15ppm de um padrão secundário de AZT + 3TC.

6.7 Amostragem do resíduo de detergente

A análise de resíduo de detergente foi realizada através das técnicas de Condutividade, pH e Carbono Orgânico Total (TOC), sendo que a metodologia utilizada nesta última foi o NPOC (carbono orgânico não-purgável), o qual apresenta somente a concentração de TOC. A amostragem para o TOC foi feita coletando-se a última água de enxágue em frasco âmbar (previamente tratado com ácido nítrico 15%), sendo feita uma coleta por equipamento. A amostra foi então direcionada para análise de TOC. Já a amostragem para análise da condutividade e pH foi feita coletando-se a última água de enxágue em frascos de vidro, sem prévio tratamento com ácido nítrico 15%.

6.8 Amostragem da Contaminação Microbiológica

As amostras dos equipamentos foram coletadas encostando-se uma placa de *rodac plate* no equipamento, depois de lavado, por um tempo de 3 minutos.

6.9 Intervalos para limpeza

Na fábrica de antirretrovirais, a limpeza dos equipamentos e utensílios ocorre sempre após o encerramento do turno de trabalho.

O tempo máximo que o equipamento permanece limpo é de sete dias para a malaxadeira e quinze dias para os demais equipamentos da linha de produção, ou seja, caso o equipamento fique parado por esse período de dias, antes de ser usado, ele é lavado novamente (SILVA, G.T., 2012).

Para efeito de validação de limpeza da linha de Zidovudina + Lamivudina, as amostragens com *swab* foram realizadas após a limpeza dos equipamentos, quando os mesmos estavam secos e em seguida foram submetidas à análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Para toda análise foi construída uma curva padrão para se comparar os resultados. A última água de enxágüe (água purificada) foi coletada em frascos âmbar para análise de TOC/NPOC e frascos comuns de vidro, para análise de condutividade e pH e foi analisada no mesmo dia da coleta. As amostragens microbiológicas com placas de *rodac plate* foram realizadas antes da amostragem com *swab*, quando os equipamentos estavam secos, para assim minimizar o risco de contaminação do equipamento que fora manuseado. A análise das placas foi realizada com 48h.

7 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.1 Avaliação do procedimento de limpeza

Inicialmente, foi observado que todos os procedimentos não atendiam as recomendações dos Guias Relacionados à Garantia da Qualidade. Então, foi feito um modelo de *check list*, tendo como referência os Guias da Qualidade (BRASIL, 2006), para que, com a aplicação do *check list*, todos os procedimentos operacionais padrão fossem refeitos e modificados.

Após a avaliação do procedimento de limpeza, todos os POPs foram modificados, atualizados e tiveram como resultado dessa avaliação o que está sendo apresentado no quadro 5.

Quadro 5 – Resultado da avaliação dos POPs da divisão de antirretrovirais do LAFEPE

REQUISITOS EXIGIDOS	A.C.	A.P.	N.A.
Existe procedimento de limpeza escrito, aprovado e com seus respectivos registros de treinamento anexados.	X		
Somente funcionários treinados podem executar o processo de limpeza.	X		
O procedimento detalha pontos críticos dos equipamentos e a maneira como cada ponto deste deve ser limpo.	X		
Existem códigos de identificação para os vários pontos críticos de limpeza.	X		
O procedimento detalha os tempos, quantidade de solvente utilizado, tipo de solventes e tipo de detergente.	X		
O procedimento detalha o método de limpeza (quantas vezes uma determinada área deve ser esfregada, por quanto tempo e em que sentido).	X		
O material utilizado é padronizado (o procedimento detalha a metodologia de preparação do detergente e estabelece sua concentração de uso).	X		
O procedimento define por quanto tempo o equipamento pode permanecer sujo, antes que a limpeza seja executada.	X		
1- O procedimento define por quanto tempo o equipamento pode permanecer limpo, antes que a limpeza seja executada.	X		

Legenda: AT: atende; AP: atende parcialmente; NA: Não atende.

Com isso, foi possível observar que todos os POPs, depois da avaliação do procedimento, passaram a atender as recomendações descritas no guia de validação de limpeza (BRASIL, 2006). Para tornar o procedimento mais fácil de ser compreendido, todos

eles passaram a conter ilustrações, fotografias e setas apontando a maneira de se esfregar, quais são os pontos críticos e qual o nome de cada parte dos equipamentos.

7.2 Teste de recuperação por swab

O teste de recuperação por *swab* foi realizado, contaminando-se seis placas de inox de 25cm² com 1mL de uma solução que continha 10ppm dos ativos Zidovudina e Lamivudina. Coletou-se o resíduo de cada placa, passando-se dois *swabs* em cada uma. Um dos lados de cada *swab* foi esfregado por toda área da placa no sentido vertical e o outro lado no sentido horizontal. As amostras foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a quantidade de resíduo foi calculada através da equação da reta de uma curva controle feita com soluções padrão nas concentrações de 5ppm, 10ppm e 15ppm de Zidovudina + Lamivudina (tabela 7 e figuras 2 e 3).

Conforme os Guias Relacionados à Garantia da Qualidade, é desejável que o fator de recuperação de cada amostra esteja acima de 75% e que a dispersão entre eles não seja acentuadamente elevada. Observando as tabelas 3 e 4, verifica-se que os resultados obtidos atendem as recomendações estabelecidas pela ANVISA e, portanto, o tipo de *swab* que foi utilizado realmente consegue recuperar o contaminante que foi estudado (AZT + 3TC).

Tabela 2 – Valores das áreas dos picos de AZT + 3TC obtidos na curva controle

Curva controle / AZT	Área	Curva controle /3TC	Área
5ppm	821924	5ppm	919211
10ppm	1699505	10ppm	1906547
15ppm	2535639	15ppm	28411821

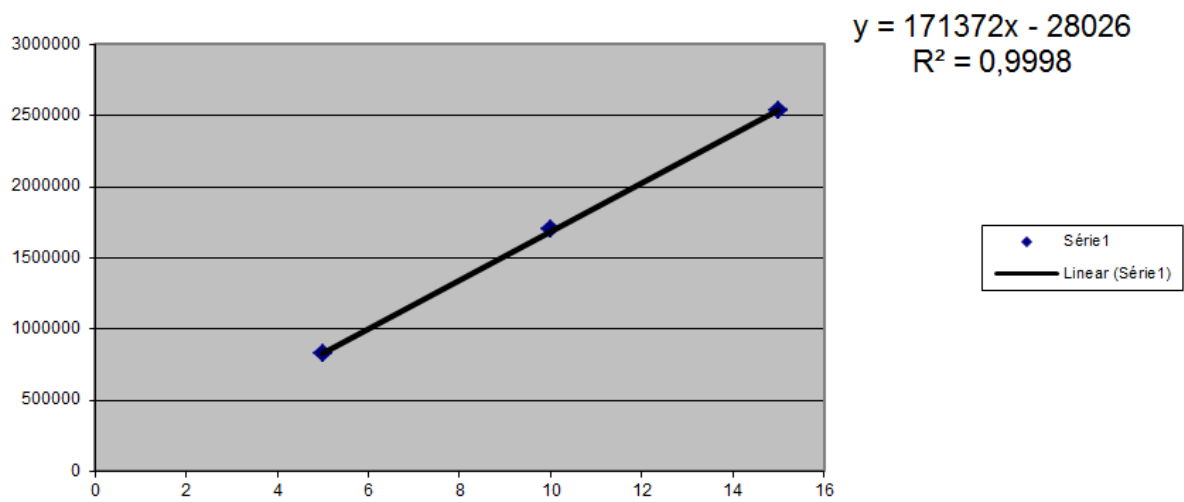


Figura 2 – Curva controle da Zidovudina

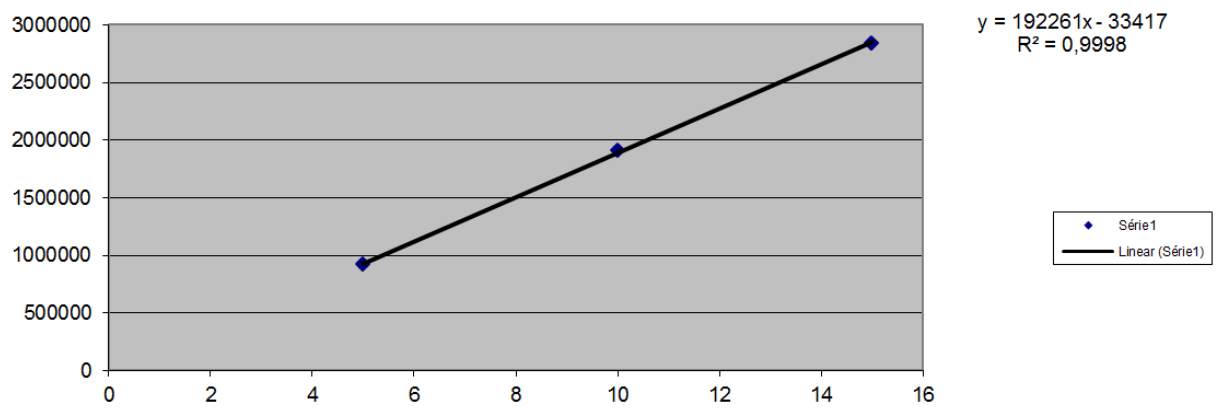


Figura 3 – Curva controle da Lamivudina

Tabela 3 – Fator de recuperação para Zidovudina.

Amostra	Área	Recuperação (ppm)	Fator de Recuperação (%)
AZT 001	1374192	8,18	81,82
AZT 002	1457983	8,67	86,71
AZT 003	1479547	8,80	87,97
AZT 004	1424523	8,48	84,76
AZT 005	1775282	10,52	105,23
AZT 006	1738721	10,31	103,09
Média			91,6
Desvio Padrão			9,97
CV%			10,89

Tabela 4 – Fator de recuperação para Lamivudina

Amostra	Área	Recuperação (ppm)	Fator de Recuperação (%)
3TC 001	1525470	8,11	81,08
3TC 002	1625725	8,63	86,3
3TC 003	1644478	8,73	87,27
3TC 004	1575815	8,37	83,7
3TC 005	1984665	10,50	104,97
3TC 006	1874948	9,93	99,26
Média			90,43
Desvio Padrão			9,48
CV%			10,48

7.3 Determinação da quantidade de resíduo do princípio ativo

Os resultados foram obtidos através de amostragem direta (*swab*), feitas em uma área de 25cm², demarcada com um gabarito. As amostras foram analisadas por CLAE e os resultados foram calculados pela equação da reta de uma curva controle obtida com soluções padrão de AZT + 3TC, nas concentrações de 5ppm, 10ppm e 15ppm.

Tabela 5 – Valores das áreas dos picos de AZT + 3TC obtidos na curva controle

Curva controle / AZT	Área	Curva controle /3TC	Área
5ppm	202517	5ppm	239240
10ppm	417062	10ppm	493850
15ppm	620437	15ppm	732518

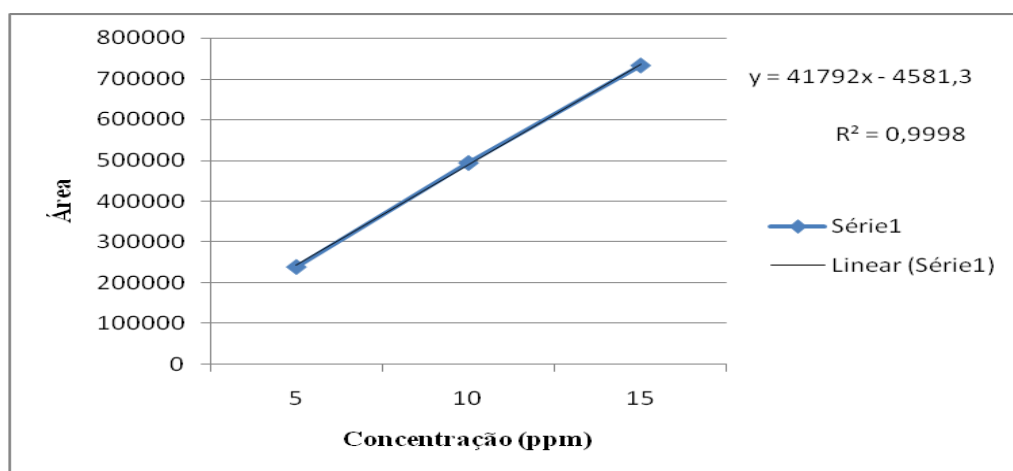
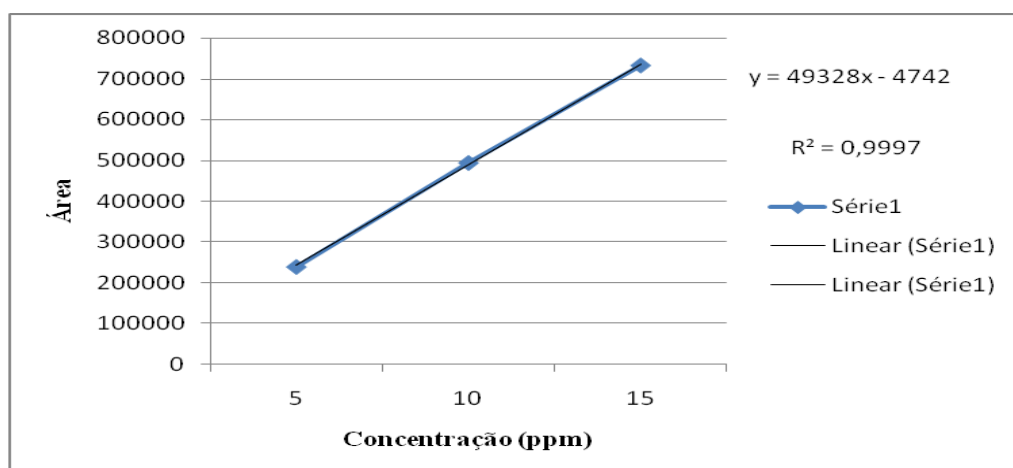
**Figura 4** – Curva Controle da Zidovudina**Figura 5** – Curva controle da Lamivudina

Tabela 6 – Resíduo de AZT em cada ponto de amostragem

Equipamentos	Pontos críticos	Lotes		
		1	2	3
		PPM	ppm	ppm
Malaxadeira	Superfície interna inferior	ND	ND	ND
	Parede lateral interna	0,88	ND	ND
	Hélice	ND	ND	ND
Granulador oscilante	Rotor	1,40	ND	ND
	Tamis	ND	ND	ND
	Caixa de granulação (parede interna)	ND	ND	ND
Estufa	Parede lateral da câmara	ND	ND	ND
	Bandeja 1	ND	ND	ND
	Bandeja 2	ND	ND	ND
	Bandeja 3	ND	ND	ND
	Superfície inferior da câmara	ND	ND	ND
Granulador cônico	Superfície inferior da mesa	ND	ND	ND
	Tamis	ND	ND	ND
	Parede interna da câmara de granulação	ND	ND	ND
Misturador em “V”	Tampa da extremidade superior (parte interna)	ND	ND	ND
	Válvula de saída	ND	ND	ND
	Câmara de mistura	ND	ND	ND
	Vértice inferior	ND	ND	ND

LEGENDA - ND = não detectável

Conforme observado na tabela 6, praticamente todas as amostras analisadas apresentaram um nível de contaminação tão baixo que não foram quantificadas pelo equipamento de CLAE. Apenas as amostras que correspondem a coleta feita no dia da produção do lote 1, feita no rotor do granulador oscilante e na parede lateral interna da malaxadeira, apresentaram uma quantidade de zidovudina quantificável, mas que, ainda assim, está muito abaixo do valor máximo do limite de aceitação calculado que é de 10 ppm.

Tabela 7 – Resíduo de 3TC em cada ponto de amostragem

Equipamentos	Pontos críticos	Lotes		
		1	2	3
		ppm	ppm	PPM
Malaxadeira	Superfície interna inferior	ND	ND	ND
	Parede lateral interna	ND	ND	ND
	Hélice	ND	ND	ND
Granulador oscilante	Rotor	0,74	ND	ND
	Tamis	ND	ND	ND
	Caixa de granulagem (parede interna)	ND	ND	ND
Estufa	Parede lateral da câmara	ND	ND	ND
	Bandeja 1	ND	ND	ND
	Bandeja 2	ND	ND	ND
	Bandeja 3	ND	ND	ND
	Superfície inferior da câmara	ND	ND	ND
Granulador cônico	Superfície inferior da mesa	ND	ND	ND
	Tamis	ND	ND	ND
	Parede interna da câmara de granulação	ND	ND	ND
Misturador em “V”	Tampa da esxtremidade superior (parte interna)	ND	ND	ND
	Válvula de saída	ND	ND	ND
	Câmara de mistura	ND	ND	ND
	Vértice inferior	ND	ND	ND

LEGENDA – ND = não detectável

Observando a tabela 12, constata-se que apenas uma amostra apresentou um resultado acima do limite de quantificação para Lamivudina e que, assim como aconteceu para a Zidovudina, o valor obtido está muito abaixo do valor máximo do limite de aceitação calculado que é de 10ppm.

8. CONCLUSÃO

Após a realização deste estudo, pôde-se concluir que o método de limpeza utilizado remove as substâncias consideradas como pior caso contaminante, deixando pouco resíduo das mesmas. Isso mostra que com a aplicação do respectivo método de limpeza consegue-se atender as recomendações da ANVISA no que diz respeito a remoção do pior caso contaminante. Isso foi possível devido ao fato de que a metodologia utilizada neste trabalho é adequada e eficiente.

Dessa maneira, o estudo desenvolvido ajudou o setor de Boas Práticas de Fabricação, pois forneceu dados relevantes para a gestão de processos de produção e melhoria contínua da qualidade.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, S. C. I. **Validação de Limpeza de Equipamentos Farmacêuticos**. 124f. Dissertação (Mestre em Gestão da Qualidade e Segurança Alimentar) – Instituto Politécnico de Leiria, Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar, Portugal, 2012. Disponível em: <https://iconline.ipleiria.pt/bitstream/10400.8/743/1/Mestrado%20GQSAalimentar_Ines_Andrade.pdf>. Acesso em: 05 ago. 2013.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 17, de 16 de abril de 2010. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 19 de abril de 2010.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guias Relacionados à Garantia da Qualidade, 2006. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/eb33c500474580fd8d1ddd3fbc4c6735/guias_qualidade.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 25 ago. 2013.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Validação de Limpeza para Farmoquímicas, 2013. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/2443e9804f1af51ea138bdc88f4b6a31/Guia+de+valida%C3%A7%C3%A3o+de+limpeza+para+Farmoqu%C3%ADmicas.pdf?MOD=AJPERES>>. Acesso em: 05 ago. 2013.
- BRASIL. Lei nº 9.782 de 26 de janeiro de 1999. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L9782.htm>. Acesso em: 05 ago. 2013.
- FDA – Food and Drug Administration. Validation of cleaning processes (7/93): Guide to inspections validation os cleaning processes, 1993. Disponível em: <<http://www.fda.gov/ICECI/Inspections/InspectionGuides/ucm074922.htm>>.
- FONSECA, T. I. M. **Controlo de Qualidade Microbiológica na Indústria Farmacêutica**. 123f. Dissertação (Mestre em Tecnologia Bioquímica em Saúde) – Instituto Politécnico do Porto, Escola Superior de Tecnologia da Saúde do Porto.
- JIMENEZ, L. Microbial Contamination Control in the Pharmaceutical Industry. New York, Ed. Jimenez, L. , 2004, 310p.
- KLINKENBERG, R.; STREEL, B.; CECCATO, A. Development and validation of a liquid chromatographic method for the determination of amlodipine residues on manufacturing equipment surfaces. **J. pharm. biomed. anal.** v.32 p. 345-352, 2003.
- MAGESTE, J. O. et al. Estudo da microbiota fúngica anemófila de uma indústria farmacêutica em Juíz de Fora – MG. **Revista FACIDER**, v.1, n.1, 2012. Disponível em: <<http://sei-cesucol.edu.br/revista/index.php/facider/article/view/20/48>>. acesso em: 05 ago. 2013.

PINTO, T. J. A. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e cosméticos**. ed. 3, São Paulo, Atheneu Editora São Paulo, 2010.

MILENOVIC, D. M. et al, Validation of an HPLC Method for Analysis of Nifedipine Residues on Stainless-Steel Surfaces in the Manufacture of Pharmaceuticals, A Chrom., v.20, n.2, p. 183-194, 2008.

MINGORANCE, J. Sistema de Validação de Limpeza (Parte I). **Sociedade Brasileira de Controle de Contaminação**, 2005. Disponível em: http://www.sbcc.com.br/revistas_pdfs/ed%2019/19validacao_p1.pdf>. Acesso em: 05 ago. 2013.

MINGORANCE, J. Sistema de Validação de Limpeza (Parte II). **Sociedade Brasileira de Controle de Contaminação**, 2005a. Disponível em: [http://www.sbcc.com.br/revistas_pdfs/ed%2020/20ValidLimp\(parte2\).pdf](http://www.sbcc.com.br/revistas_pdfs/ed%2020/20ValidLimp(parte2).pdf)>. Acesso em: 05 ago. 2013.

OLIVEIRA, A. T. C. **Estratégia para validação de limpeza de equipamentos e ambiente ocupacional da área de produção de antirretrovirais**. 135f. Dissertação (Mestre em Ciências Farmacêuticas) – Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, 2011.

OLIVEIRA, J. O. Gestão da Qualidade: Tópicos Avançados. **Cengage Learning Editores**, 2006, p.3-8, p. 321.

SILVA, G. T. Desenvolvimento de estratégia de limpeza de área e equipamentos da fábrica de antirretrovirais. 2012. **Monografia de Conclusão de Curso** (Graduação em Farmácia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, 2012.

VALENTINI S. R.; SOMMER, W. A.; MATIOLI, G. Validação de métodos analíticos. **Arq. Mudi.** , v.11, n.2, p. 26-31, 2007.

YUGUE, V. C. Validação de processos farmacêuticos; **Fármacos & Medicamentos**, Ano 1, n.2, p.40-44, Jan/Fev 2000.