

Validação de limpeza de equipamentos de formas farmacêuticas sólidas: estudo de caso do mebendazol comprimidos

Cleaning validation of equipments in solid pharmaceutical forms: mebendazole tablets' study case

João Rui Barbosa de Alencar, Leduar Guedes de Lima, Selma Verônica Vieira Ramos, Amanda Tatiane C. Oliveira, Fanny Nascimento Moura & Odair José Terrani

RESUMO – Neste trabalho apresenta-se uma metodologia para validação de limpeza de formas farmacêuticas sólidas. O produto escolhido para avaliação da estratégia foi o mebendazol, um medicamento antiparasitário apresentado na forma de comprimidos de 100mg e produzidos pelo LAFEPE® (Recife – PE, Brasil). Como método analítico para quantificação dos resíduos, utilizou-se um método farmacopéico por espectrofotometria cujo limite de quantificação de mebendazol foi de 1,156µg/mL. A validação de limpeza foi avaliada através da técnica de *swab* e as concentrações residuais de mebendazol encontradas foram inferiores aos limites de 9,11µg/mL em cada amostra analisada, 9,11µg/cm² por unidade de área superficial dos equipamentos e 10ppm (µg/g) no produto subsequente adotados como critérios de aceitação da validação de limpeza.

PALAVRAS-CHAVE – Validação de limpeza, medicamentos, mebendazol, comprimidos .

SUMMARY – This work presents a methodology for cleaning validation of solid pharmaceutical forms. The product chosen for evaluation of the strategy was mebendazole tablets, an antiparasites medicine presented in the tablet form of 100mg and produced by LAFEPE® (Recife - PE, Brazil). The analytical method used for residues quantification, was by spectrofotometry with quantification limit of mebendazole of 1.156µg/mL. The cleaning validation was evaluated through the *swab* technique and the residual concentrations of mebendazole had been less to the 9.11 limits of µg/mL in each analyzed sample, 9.11µg/cm² for unit of superficial area of the equipments and 10ppm (µg/g) in the subsequent product, which had been adopted as criteria of acceptance of the cleaning validation.

KEYWORDS – Cleaning validation, medicines, mebendazole, tablets.

INTRODUÇÃO

A validação de limpeza de equipamentos numa indústria farmacêutica é requisito imprescindível dentro das boas práticas de fabricação de medicamentos (Brasil, 2003a). Trata-se de um processo que visa assegurar que os resíduos do produto recém fabricado nos equipamentos utilizados, ainda porventura existentes após a limpeza dos mesmos, não contaminem o produto seguinte. 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. Trata-se de um processo complexo, moroso, que envolve investimentos e resultados a longo prazo. 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.

Uma alternativa para a validação de limpeza de *n* processos produtivos de produção de medicamentos são

as estratégias de agrupamento, onde se escolhe um produto "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, ensejará 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. Alencar *et al.*, 2005b apresentam uma estratégia para escolha do produto pior caso baseado no cálculo de um índice WCI que leva em consideração simultaneamente, fatores de solubilidade, toxicidade, dificuldade e ocupação da unidade de produção.

Várias metodologias de validação de limpeza de equipamentos tem 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). O objetivo deste trabalho é apresentar uma estratégia utilizada para validação de limpeza dos equipamentos do processo de produção de mebendazol comprimidos de 100 mg, fabricado pelo LAFEPE® – Laboratório Farmacêutico do

Recebido em 24/9/2005

Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A – LAFEPE, Recife – PE, Brasil
Largo de Dois Irmãos, 1117 – CEP 52171.011 – Recife – PE, BRASIL

Estado de Pernambuco S/A (Recife - PE, Brasil) um medicamento amplamente utilizado para tratamento de infecções humanas por helmintos, principalmente nematódeos no trato gastrointestinal (Lafepe, 2004). A escolha do mebendazol se constitui o produto eleito como "pior caso" para validação de limpeza na unidade de formas farmacêuticas sólidas da indústria estudada e foi identificado após a aplicação da metodologia desenvolvida por Alencar *et al.*, (2005b). Dentre os muitos fabricados na mesma unidade fabril, o mebendazol reúne propriedades de baixa solubilidade, alta toxicidade, e moderadas taxas de ocupação e dificuldade de limpeza dos equipamentos reconhecida pelos operadores.

METODOLOGIA

A estratégia adotada neste trabalho, pressupõe a existência de procedimentos operacionais escritos para a limpeza de cada equipamento envolvido no processo, bem como operadores treinados para a adequada execução dos mesmos. Com esta premissa este trabalho envolveu as seguintes etapas:

Validação da Metodologia Analítica

A metodologia analítica utilizada neste trabalho para realizar a quantificação do mebendazol foi o método espectrofotométrico constante da Farmacopéia Brasileira (Brasil, 2003b). Utilizou-se um espectrofotômetro da marca Shimadzu UV-2401 PC equipado com detector ultravioleta e cubetas de quartzo de seção transversal de 1 cm². Apesar de ser uma metodologia farmacopéica, a metodologia utilizada foi validada para os parâmetros de linearidade e especificidade conforme a legislação em vigor (Brasil, 2003b) utilizando como substância química de referência, o mebendazol USP, lote 37550.

O procedimento utilizado consistiu das seguintes fases:

– Pesou-se uma quantidade equivalente a 50mg de mebendazol, a qual foi transferida para um balão volumétrico de 100mL.

Adicionou-se 10mL de ácido fórmico e completou-se o volume com isopropanol; agitou-se por 15 minutos e filtrou-se.

– Transferiu-se 1mL do filtrado para balão volumétrico de 100mL adicionou-se 5mL de ácido clorídrico 0,1N e completou-se novamente o volume com isopropanol; a solução resultante possui aproximadamente 0,005mg/mL (5µg/mL).

– Homogeneizou-se e procedeu-se leitura no espectrofotômetro a 290nm usando uma mistura 1:10 de ácido clorídrico 0,1N e isopropanol como branco.

– Diluições sucessivas ou tomadas de amostras distintas da anterior possibilitaram a construção de três curvas de linearidade do método.

Foram utilizadas concentrações de 2,5, 5, 7,5, 10 e 12µg/mL.

A curva de linearidade obtida ao final da validação da metodologia analítica, obtida pela média das três curvas, foi utilizada para fornecer os níveis de concentração residuais das superfícies dos equipamentos após a limpeza, além de possibilitar a obtenção dos limites de detecção e quantificação do método.

Tais limites foram calculados a partir da curva da linearidade resultante e com base na equações previs-

tas no regulamento sanitário em vigor (Brasil, 2003c) para esta finalidade.

A especificidade do método foi avaliada mediante a leitura da absorbância de soluções preparadas a partir de comprimidos placebos preparados com os excipientes do medicamento, seguindo o mesmo procedimento analítico.

O processo de fabricação do mebendazol comprimidos

O produto mebendazol comprimidos de 100mg produzidos pelo LAFEPE possui em sua composição além do princípio ativo mebendazol os excipientes amido de milho, talco magnesita, estearato de magnésio, polivinilpirrolidona, álcool etílico e água. A Tabela I apresenta a função de cada componente na formulação.

Os comprimidos de mebendazol são preparados através de um processo de granulação úmida que consiste inicialmente na mistura do mebendazol e do amido de milho em misturador tipo "V" por 30 minutos. Em recipiente adequado à parte munido de agitação mecânica, prepara-se a solução alcoólica de polivinilpirrolidona. Em seguida transfere-se para uma amassadeira a mistura prévia com o princípio ativo e a solução de alcoólica de polivinilpirrolidona.

A mistura obtida é transferida para um granulador equipado com tamiz de malha nº 2, recolhendo o tamizado em bandejas de aço inox que são, em seguida, colocadas em estufas a 60° C por ± 48 horas.

Após a secagem, o granulado é pesado e calibrado novamente em tamiz de malha nº 1,5.

O granulado assim obtido é colocado num misturador tipo "V" adicionando-se o estearato de magnésio e o talco magnesita, permanecendo sob agitação por 10 minutos. Após avaliação pelo controle de qualidade o granulado final é comprimido com punções de 7,0mm planos, visando obtenção de um peso médio de 150mg ± 7,5% e Dureza: Mínima de 3,5Kgf/cm²

Procedimentos de limpeza dos equipamentos

Os procedimentos de limpeza dos equipamentos consistem basicamente de desmontagem de todas as peças móveis dos mesmos e lavagem com água potável seguida de aplicação de detergente neutro sob fricção e novamente lavagem com água purificada.

Crítérios de aceitação da validação de limpeza

Um aspecto essencial na validação de limpeza é determinar quanto de limpeza é suficiente. Apesar de, oficialmente, não endossar critérios adotados por indústrias farmacêuticas, o FDA (*Food Drug Administration*) dos Estados Unidos da América, faz referência a critérios adotados pela empresa *Eli Lilly* que estabelece os seguintes critérios (LeBlanc, 1999):

TABELA I
Composição do produto mebendazol
e função dos componentes na formulação

Matéria-prima	Função do componente na formulação
Mebendazol	Princípio ativo
Amido de Milho	Diluyente e desintegrante
Estearato de Magnésio	Lubrificante
Talco Magnesita	Lubrificante
Polivinilpirrolidona	Agregante
Álcool Etílico	Veículo para molhagem
Água Purificada	Veículo para molhagem

- O equipamento deve estar visualmente limpo;
- Qualquer agente ativo do produto após a limpeza deve estar presente em níveis máximos de 10 ppm ou 10µg/g do produto após a limpeza em relação ao produto subsequente. Ou
- Qualquer agente ativo do produto após a limpeza deve estar presente em níveis máximos de 1/1000 da dose mínima diária da substância ativa em relação à dose máxima diária do produto subsequente, calculado de acordo com a equação 1, tomando o que for menor

$$L_1 = \frac{1}{1000} \cdot \frac{Z}{W} \quad (1)$$

Onde:

L_1 = Limite no produto subsequente em µg/mL (ppm)
 Z = Dose Mínima Diária do Produto a Ser Limpo
 W = Dose Máxima Diária do Produto Subsequente

Foram considerados dois produtos como subsequentes: o analgésico ácido acetilsalicílico (AAS) e o tuberculostático isoniazida.

Considerando a dose diária mínima do produto a ser limpo (mebendazol) como 200mg (2 x 100mg) e a dose máxima dos produtos subsequentes AAS e isoniazida, respectivamente, como 6000mg e 400mg, o limite L_1 , para ambos os casos foram, 0,000033mg/mg ou 33µg/g para o AAS e 0,0005mg/mg 500µg/g para a isoniazida.

As duas situações apresentaram limites no produto subsequente maiores que a referência de 10ppm sugerida pelo FDA o qual será utilizado como referência de limite do produto subsequente neste trabalho.

No processo de validação de limpeza, outros limites tão importantes quanto o limite L_1 e dependentes um do outro, e que são fundamentais para a análise de cada ponto de amostragem pesquisado neste trabalho. São os limites por área superficial (L_2) e limites na amostra analisada (L_3) definidos segundo as equações 2 e 3 (LeBlanc, 1999):

$$L_2 = L_1 \cdot \frac{TLPP}{ASE} \cdot 1000 \quad (2)$$

Onde L_1 é o limite no produto subsequente calculado pela equação 1 (ou 10ppm, o que for menor), TLPP é o tamanho do lote do próximo produto fabricado e ASE a área superficial do equipamento.

$$L_3 = L_2 \cdot \frac{AA}{VA} \quad (3)$$

Onde AA é a área amostrada (10cm²) e VA é o volume de solvente onde a amostra é imersa (10mL)

O limite por área superficial de cada equipamento estão apresentados na **Tabela II** tendo sido calculados utilizando a equação 2 e considerando o L_1 como 10ppm.

Com o objetivo de calcular o limite aceitável na solução que continha os swabs, o limite por área superficial foi calculado considerando o somatório de todas as áreas dos equipamentos.

$$L_2 = L_1 \cdot \frac{TLPP}{\sum ASE} \cdot 1000 = 10 \frac{\mu g}{g} \cdot \frac{292.250 g}{320.650 cm^2} \cdot 1000 = 9,11 \frac{\mu g}{cm^2}$$

Para determinar o limite dos resíduos na amostra analisada L_3 (solvente contendo o swab imerso) foi utilizada a equação 3, utilizando a quantidade de solvente em mL.

$$L_3 = L_2 \cdot \frac{AA}{VA} = 9,11 \frac{\mu g}{cm^2} \cdot \frac{10 cm^2}{10 mL} = 9,11 \frac{\mu g}{mL}$$

Dessa forma, os critérios de aceitação da validação de limpeza que foram adotados neste trabalho são equipamentos visualmente limpos; 10µg de mebendazol para cada grama do produto subsequente; limite por área superficial de 9,11µg/cm², limite na amostra analisada de 9,11µg/mL, limite microbiológico de até 100UFC/mL de bactérias heterotróficas e ausência de coliformes totais.

Amostragem e procedimentos analíticos

O método utilizado para a coleta das amostras foi o swab, devido à insolubilidade do princípio ativo em água e à complexidade dos equipamentos envolvidos na produção de sólidos (compressora rotativa e envelopadeira). Esta escolha também é justificada pela facilidade de se realizar um mapeamento da contaminação residual em cada equipamento.

Foram realizadas duas amostragens em cada equipamento, isto é, após o encerramento da produção de dois lotes do medicamento e execução dos procedimentos de limpeza.

Foram utilizados swabs com haste de plástico esterilizados por radiação gama da marca Rayswab, tubos de ensaio autoclavados, frascos âmbar e moldes de aço inox demarcando 10cm² de área.

O procedimento consistiu, inicialmente, da passagem de um dos lados do swab por toda área demarcada, 10cm², 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 10mL de uma solução de isopropanol e ácido clorídrico 0,1N a 10%, que estavam em frascos âmbar, para a determinação analítica.

TABELA II
 Limite por área superficial dos equipamentos do processo

Equipamentos	TLPP (Kg)	Área Superficial (cm ²)	Limite (L_2) p/área Superficial - (µg/cm ²)
Misturador em "V" 1000L	292,250	63.500	46,02
Amassadeira	292,250	21.100	138,50
Granulador Oscilante	292,250	2.200	1328,40
Estufa	292,250	138.750	21,06
Calibrador	292,250	2.200	1328,40
Misturador em "V" 500 L	292,250	41.100	71,10
Compressora Rotativa	292,250	21.700	134,68
Envelopadeira	245,400	30.100	81,53
Total	—	320.650	—

Também foi realizado o mesmo procedimento em pontos equivalentes para a verificação microbiológica, porém, os *swabs*, para esta finalidade, foram imersos em tubos de ensaio que continham 10mL de água estéril.

Antes da realização de qualquer coleta, foi efetuada a padronização dos *swabs* com a finalidade eliminar possíveis interferentes advindos das fibras de rayon ou da própria haste de polietileno em contato com o solvente de extração.

Cinco *swabs* foram imersos em 10mL de uma solução 1:10 de ácido clorídrico 0,1N e isopropanol durante 60 minutos. A absorbância média foi determinada pela média da absorbância de cinco *swabs* após leitura no comprimento de onda $\lambda = 290\text{nm}$; o valor resultante foi diminuído de todas as absorbâncias encontradas nas amostragens dos equipamentos.

Ainda, com relação ao procedimento de amostragem, foi determinado o fator de recuperação do *swab* distribuindo 1mg da substância em estudo, mebendazol, em uma área de 10cm^2 . A amostragem dessa área foi realizada e a concentração de princípio ativo quantificada no espectrofotômetro. A porcentagem recuperada foi posteriormente utilizada nos cálculos de concentração residual.

Determinação dos resíduos de limpeza

Dois tipos de análises foram efetuadas: determinação de resíduos do ativo mebendazol após a limpeza dos equipamentos e análises microbiológicas.

Na determinação dos resíduos de mebendazol, após um intervalo de tempo de aproximadamente 1 hora, foi retirada uma alíquota dos frascos âmbar contendo a solução 1:10 de isopropanol e ácido clorídrico 0,1N, em que os *swabs* estavam imersos, sendo as leituras espectrofotométricas realizadas em comprimento de onda de 290nm, utilizando a mesma solução de 1:10 de isopropanol e ácido clorídrico 0,1N como branco. Em seguida a absorbância encontrada em cada ponto de amostragem, foi substituída na equação da reta obtida no teste de linearidade da validação do método analítico para o mebendazol, para assim, obter o valor da concentração residual de cada ponto analisado em $\mu\text{g/mL}$.

Para as análises microbiológicas, os tubos de ensaio foram incubados a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ por 24hs. Após esse tempo, foi adicionado 1mL da água em que os *swabs* estavam imersos em quatro placas de Petri devidamente identificadas. Em seguida foram acrescentados 10mL de meio *Cromocult*, meio de cultura que favorece crescimento de coliformes totais, nas duas primeiras placas e nas outras duas, 10mL de um meio que favorece o crescimento de bactérias heterotróficas, *Trypsoy Agar* e Extrato de Leveduras. As placas foram incubadas a $36 - 37^\circ\text{C}$ por 48 horas e a contagem foi realizada observando o crescimento de coliformes totais, bactérias heterotróficas e de leveduras.

RESULTADOS

Validação da metodologia analítica

Os dados para construção da curva de linearidade do método analítico estão mostrados na Tabela I. Os valores da variável y estão expressos na forma da média \pm desvio-padrão. Para a faixa de concentração estudada de 2,5 a 12,5 $\mu\text{g/mL}$, as variáveis apresentaram respostas lineares com um coeficiente de correlação

para um modelo linear de $R^2 = 0,9994$ e equação característica $y = 0,0462.X - 0,0094$ onde y representa as leituras das absorbâncias e X a concentração residual de mebendazol nas soluções das amostras analisadas expressas em $\mu\text{g/mL}$. Os resultados que permitiram a construção da curva de calibração estão agrupados na Tabela III e a respectiva curva média está representada na Figura 1.

Os limites de quantificação (LQ) e detecção (LD) foram calculados com base na equação da reta obtida e apresentada acima e equações previstas no regulamento específico (Brasil, 2003c), a saber:

$$LQ = \frac{10.\sigma}{S} \quad (3)$$

$$LD = \frac{3,3.\sigma}{S} \quad (4)$$

onde σ é desvio-padrão médio dos três níveis de concentração mais baixos da curva de linearidade e S é o coeficiente angular da equação característica.

Os valores dos limites de quantificação e detecção, obtidos desta forma foram respectivamente, 1,156 e 0,381 $\mu\text{g/mL}$.

Os limites obtidos demonstram que a metodologia é bastante sensível ao princípio ativo e pode servir como um excelente critério de aceitação para a validação de limpeza dos equipamentos do processo de fabricação.

Com relação a especificidade do método, esta foi avaliada mediante a leitura da absorbância de soluções preparadas a partir de comprimidos placebos preparados com os excipientes do medicamento, seguindo o mesmo procedimento analítico. Para amostras em triplicata, todas as leituras obtidas apresentaram valor "zero" de absorbância, indicado à especificidade do método.

TABELA III
Resultados da linearidade do método analítico para o mebendazol

Concentração - $\mu\text{g/mL}$	Curva I	Curva II	Curva III	Média	DP	CV
2,5	0,110	0,106	0,108	0,108	0,0020	1,85
5,0	0,225	0,220	0,225	0,223	0,0029	1,29
7,5	0,338	0,330	0,338	0,335	0,0046	1,38
10,0	0,453	0,438	0,450	0,447	0,0079	1,78
12,5	0,585	0,570	0,568	0,574	0,0093	1,62

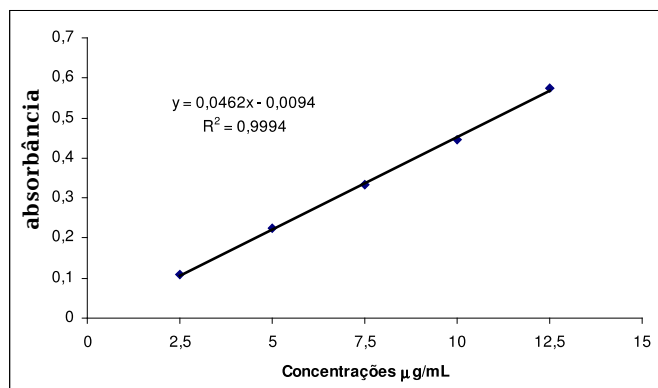


FIG. 1 - Curva de Calibração da Metodologia Utilizada

Determinação dos resíduos de limpeza

Para verificação do grau de limpeza dos equipamentos do processo, a equação acima foi escrita da forma $X = 21,645.y + 0,2035$, para determinação das concentrações associadas a cada uma das leituras das absorvâncias das soluções com os resíduos de meben-

TABELA IV
Padronização dos swabs

Amostras	Absorvância
01	0,0170
02	0,0130
03	0,0110
04	0,0140
05	0,0160
Média	0,0142

TABELA V
Resultados das leituras e concentração (em µg/mL) dos pontos analisados

Equipamentos/ pontos de amostragem	Lote 268	lote 269	Média	Concentração média por ponto	Concentração média geral do equipamento
Misturador em V 500L					
vértice inferior	0,171	0,158	0,165	3,764	4,078
vértice superior	0,109	0,145	0,127	2,952	
tampa-borracha	0,194	0,297	0,246	5,517	
Amassadeira					
parte inter na hélice	0,171	0,158	0,165	3,764	3,429
junção hélice-parede	0,109	0,145	0,127	2,952	
tamiz nº 05	0,124	0,187	0,156	3,569	
Granulador Oscilante					
parte inter na hélice	0,227	0,121	0,174	3,970	5,063
junção hélice-parede	0,297	0,222	0,260	5,820	
tamiz nº 05	0,283	0,197	0,240	5,398	
Estufa					
Bandeja	0,289	0,229	0,259	5,810	5,810
Calibrador					
parte inter na hélice	0,277	0,255	0,266	5,961	5,312
junção hélice-parede	0,271	0,161	0,216	4,879	
tamiz nº 01, 05	0,212	0,240	0,226	5,095	
Misturador em V 1000L					
vértice inferior	0,246	0,184	0,215	4,857	4,464
vértice superior	0,109	0,198	0,154	3,526	
tampa-borracha	0,199	0,245	0,222	5,009	
Compressora Rotativa					
funil alimentador	0,26	0,197	0,229	5,149	7,771
platô	0,144	0,245	0,195	4,413	
orifício de comp.	0,611	0,621	0,616	13,537	
esteira	0,347	0,246	0,297	6,621	
peneirador	0,429	0,396	0,413	9,132	
Envelopadeira					
parte interna funil A	0,233	0,211	0,222	5,009	7,728
parte interna funil B	0,298	0,222	0,260	5,831	
vibrador A	0,321	0,333	0,327	7,281	
vibrador B	0,319	0,345	0,332	7,390	
guia	0,476	0,431	0,454	10,020	
passador	0,346	0,387	0,367	8,136	

dazol. Para aplicação da equação acima, no valor de y foram diminuídas o valor da absorvância resultante da padronização dos swabs. O valor resultante foi, em seguida, dividido pelo fator de recuperação de 0,7 determinado conforme descrito no item *Amostragem e procedimentos analíticos* (pág. 37) deste trabalho.

A padronização dos swabs foi realizada com 5 amostras e a média das absorvâncias foi calculada e está apresentada na **Tabela IV**. Como já relatado, o valor da absorvância média de 0,0142, foi subtraído de todas as absorvâncias encontradas nas amostragens dos equipamentos.

Todos os equipamentos envolvidos no processo foram aprovados no critério de "visualmente limpo", isto é, não se observou a olho nu, a presença de quaisquer resíduos do medicamento em todas as corridas. A **Tabela V** apresenta as leituras das absorvâncias e respectivas concentrações residuais em cada ponto de amostragem e a média geral em cada equipamento do processo, já considerando a subtração do fator de correção da padronização dos swabs bem como, o fator de recuperação dos mesmos.

Analisando os dados da **Tabela V** observa-se que, no geral, tanto os pontos analisados isoladamente como a média de cada equipamento apresentam valores de concentração inferiores ao limite de 9,11 µg/mL para a mostra analisada. Em alguns pontos isolados da compressora rotativa como da envelopadeira apresentaram valores acima do limite de 9,11 µg/mL mas que não comprometem a concentração média geral do equipamento que se manteve abaixo deste limite.

A partir da concentração média residual de cada equipamento obtido na **Tabela V** e considerando o volume da amostra analisada de 10mL e a área amostrada de 10cm² obteve-se as concentrações residuais de mebendazol por área superficial as quais estão mostradas na **Tabela VI**. Analisando os valores desta tabela, podemos observar que as concentrações residuais por área superficial de cada equipamento são inferiores ao limite L₂ por área superficial o que mais uma vez mostra que a limpeza atende aos critérios de aceitação fixados. Ainda na **Tabela VI**, de posse da área superficial de cada equipamento, calcula-se o total do resíduo de mebendazol em cada equipamento assim como o somatório do resíduo em todos os equipamentos.

O somatório dos resíduos de mebendazol em todos os equipamentos da linha de produção atingiu 1.739.992,4µg ou 1.739,99mg. Este valor permite estimar a quantidade, do fármaco a ser transferida para o próximo produto (Romanach, 1999), dividindo o resíduo total encontrado acima (em mg) pelo menor tamanho de lote produzido de outro produto (em Kg). Considerando que vários produtos são produzidos nos mesmos equipamentos e que o menor tamanho de lote produzido na unidade é 200kg, tem-se, portanto: 1739,99mg/200kg = 8,70mg/kg, mostrando que, aproximadamente, 8,70mg de mebendazol será transferido para cada 1kg do próximo produto produzido. Este número é inferior ao limite de 10ppm (µg/g) no produto subsequente. Considerando o produto subsequente como sendo o ácido acetilsalicílico (AAS) cujo tamanho de lote padrão como sendo 292,25kg e peso médio dos comprimidos de 148mg, foi quantificada a contaminação residual em um comprimido de AAS por mebendazol, da seguinte forma:

TABELA VI
Concentração residual total em µg por equipamento

Equipamentos	Média da concentração µg/mL	Limite (L ₂) residual por equipamento µg/cm ²	Concentração residual por equipamento µg/cm ²	Área superficial (cm ²)	Total µg/Equipamento
Misturador em V 500L	4,078	46,02	4,078	41.100	167.603,95
Amassadeira	3,429	138,50	3,429	21.100	72.343,57
Granulador Oscilante	5,063	1328,40	5,063	2.200	11.138,17
Estufa	5,810	21,06	5,810	138.750	806.075,76
Calibrador	5,312	1328,40	5,312	2.200	11.685,78
Misturador em V 1000L	4,464	71,10	4,464	63.500	283.461,3
Compressora Rotativa	7,771	134,68	7,771	21.700	168.621,85
Envelopadeira	7,728	81,53	7,728	30.100	219.062,01
Total	—	—	—	—	1.739.992,4

TABELA VII
Avaliação microbiológica dos equipamentos após a limpeza em UFC/mL

Equipamento/ pontos de amostragem	Coliformes totais		<i>Escherichia coli</i>		Bactérias heterotróficas	
	Lote 268	Lote 269	Lote 268	Lote 269	Lote 268	Lote 269
Misturador em V 500L						
vértice inferior	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
vértice superior	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
tampa-borracha	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
Amassadeira						
área lateral	7	ausência	ausência	ausência	53	ausência
área da dobra inferior	20	ausência	ausência	ausência	86	ausência
parafuso da hélice	44	ausência	ausência	ausência	95	ausência
hélice anterior	ausência	ausência	ausência	ausência	76	ausência
Granulador Oscilante						
par te interna hélice	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
junção hélice-parede	10	ausência	ausência	ausência	ausência	47
tamiz nº05	14	ausência	ausência	ausência	ausência	17
Estufa						
Bandeja	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
Calibrador						
par te interna hélice	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
junção hélice-parede	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
tamiz nº1,5	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
Misturador V 1000L						
vértice inferior	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
vértice superior	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
tampa-borracha	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
Compressora Rotativa						
funil alimentador	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
platô	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
orifício de comp.	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
estera	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
Penetrador	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
Envelopadeira						
par te interna funil A	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
par te interna funil B	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
vibrador A	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
vibrador B	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
guia	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência
passador	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência	ausência

8,70mg de Mebendazol1Kg de AAS
x₁292,25Kg de AAS

x₁ = 2542,58mg de Mebendazol

2542,58mg de mebendazol292.250g de AAS
x₂0,148g de AAS

x₂ = 0,0013mg de mebendazol

O valor obtido indica que aproximadamente 0,0013mg (1,30µg) de mebendazol pode estar presente em um comprimido de AAS. Em relação à atividade farmacológica que este resíduo poderia proporcionar em um homem de 70Kg, cuja volemia é de aproximadamente 5,5L, foi calculada a concentração plasmática do mebendazol, considerando, que este resíduo seria totalmente absorvido e chegue inalterado na corrente sanguínea, sem levar em conta os outros líquidos corporais.

1,30µg de mebendazol5500mL de sangue
x₃1mL de sangue

x₃ = 0,000236µg/mL

Como a dose diária de AAS varia entre 4 a 6 comprimidos, a concentração plasmática de mebendazol residual, considerando a dose máxima, seria 0,00142µg/mL (6 x 0,000236µg/mL), o que não atinge a concentração mínima capaz de desenvolver qualquer atividade terapêutica, que é de 50µg/mL (Goodman & Gilman, 1996).

Determinação dos resíduos de limpeza - avaliação microbiológica

Apesar das farmacopéias e agências reguladoras não exigirem a condução de testes para comprovação de ausência de microorganismos em formas farmacêuticas sólidas (Martinez, 2002), o isolamento e a identificação de bactérias em três grupos: coliformes totais, *Escherichia coli* e bactérias heterotróficas em geral e que foram considerados neste trabalho como forma de se avaliar a eficácia da limpeza dos equipamentos em relação a capacidade de proliferação de microorganismos nestes ambientes. A Tabela VII apresenta o resultado da identificação dos três grupos em todos os pontos de amostragem. Analisando estes dados percebe-se que não houve crescimento algum praticamente em todos os pontos de todos os equipamentos. Em alguns pontos isolados percebe-se que houve a formação de colônias de bactérias heterotróficas e coliformes porém dentro dos limites aceitáveis de 100UFC/mL.

CONCLUSÕES

O presente trabalho possibilitou o estabelecimento de uma metodologia para a validação de limpeza de equipamentos utilizados na fabricação de formas farmacêuticas sólidas. Através de método analítico por espectrofotometria, pôde-se quantificar os níveis residuais do medicamento mebendazol após a limpeza dos equipamentos do processo, obtendo-se valores não superiores a 9,11µg/mL na amostras analisadas, 9,11µg/

cm² de resíduo de mebendazol por unidade de área dos equipamentos, e 10µg/g (ppm) de mebendazol do produto subsequente além de atenderem ao critério de equipamentos visualmente limpos. Pôde-se verificar também que os níveis residuais de mebendazol, ainda presentes nos equipamentos ou transferidos para o produto subsequente, estiveram em concentrações inferiores a menor concentração do fármaco capaz de provocar qualquer ação terapêutica. A metodologia utilizada para validação da limpeza, mostrou-se simples, rápida e eficaz podendo ser aplicada para outras formas farmacêuticas.

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., Monteiro, 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, 2005a
4. 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", submetido à *Revista Brasileira de Farmácia*, em setembro de 2005, ainda não publicado, 2005b
5. Brasil (2003a), 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.
6. Brasil (2003b), Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução RDC Nº150 de 17.06.2003, Farmacopéia Brasileira, 4ª Ed, Parte II, Diário Oficial da União de 20.06.2003
7. Brasil, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução RE Nº 899 de 29.05.2003, Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos, Diário Oficial da União de 02.06.2003, pág. 56-59, 2003b.
8. Goodman & Gilman. *As Bases Farmacológicas da Terapêutica*, 9ª edição, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.
9. 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.
10. Lafepe (2004), Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco S/A, *Manual Terapêutico*, 2ª Edição, Ed. CEPE, Recife-PE, Brasil, 250p.
11. LeBlanc, D. A., Definição de critérios de Aceitação Cientificamente Justificados na Validação de Protocolos Farmacêuticos *Pharmaceutical Technology Brasil*, Fevereiro, pp 34-38, 1999.
12. Martinez, J. E., Carga biológica microbiana em formas farmacêuticas sólidas orais, *Pharmaceutical Technology Brasil*, Fevereiro, Vol.6, No.3, pp 32-41, 2002.
13. Mazonakis, N. E., Karathanassi, P.H., Panagiotopoulos, D.P., Hamosfakidi, P. G., Melissos, D. A., Cleaning validation in the toiletries industry, *Analytica Chimica Acta*, 467, pp 261-266, 2002.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. USA, United States Pharmacopeial Convention, U.S.P 24, 1999.
19. 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

Fone: 55-81-3267.1161, FAX: 55-81-34413375,

e-mail: ruialencar@yahoo.com.br