



Determinação simultânea de resíduos de etinilestradiol e gestodeno em superfícies de equipamentos de produção

Caroline Moura Ramirez^{1*}; Armi Wanderley Nobrega¹

¹Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, INCQS – Fiocruz, Manguinhos, RJ, Brasil.

RESUMO

Um método de validação de limpeza foi desenvolvido e validado, baseado na amostragem por *swab* e na determinação cromatográfica simultânea de resíduos de gestodeno e etinilestradiol. O método apresenta limite de quantificação de 0,036 µg/mL de etinilestradiol e 0,009 µg/mL de gestodeno. Este foi considerado seletivo, preciso, exato e robusto de acordo com as normas da ANVISA. O fator de recuperação para etinilestradiol foi 90,45% e para gestodeno foi 83,52% em superfície de inox e 87,31% para etinilestradiol e 81,21% para gestodeno em superfície emborrachada. O método foi aplicado com sucesso no teste de amostragem por *swab* de todos os pontos de superfície dos equipamentos. O método de limpeza foi considerado validado.

Palavras-chave: Gestodeno. Etinilestradiol. Validação. CLAE. Limpeza. Amostragem.

INTRODUÇÃO

Um conjunto de procedimentos operacionais denominado Boas Práticas de Fabricação (BPF) é utilizado para garantir que medicamentos sejam consistentemente produzidos e controlados de acordo com padrões de qualidade, visando eliminar riscos envolvidos na produção (Araújo et al., 2008). O cumprimento das BPF está direcionado para minimizar os riscos presentes na produção farmacêutica, que não podem ser detectados com a análise do produto final: contaminação cruzada, contaminação com material particulado ou alteração ou mistura de produtos (Botet, 2006).

As agências regulatórias na área sanitária constantemente publicam resoluções, normas e guias a fim de assegurar que a qualidade e a segurança dos medicamentos produzidos pela indústria farmacêutica contribuam adequadamente para a saúde da população que os consome. Neste contexto, um dos principais focos,

no momento da auditoria e no registro do medicamento, realizados por agências regulatórias, são as validações.

A Validação é definida como ato documentado que atesta que qualquer procedimento, processo, equipamento, material, atividade ou sistema real, consistentemente, leva aos resultados esperados, e esta é uma exigência regulatória no Brasil tanto para métodos, quanto para processos e procedimento de limpeza (Brasil, 2010).

O objetivo particular da Validação de Limpeza é garantir que através do procedimento de limpeza empregado não haverá contaminação cruzada significativa entre um produto e outro da mesma rota.

A contaminação cruzada é um problema de saúde pública, ao qual toda sociedade pode estar exposta, a cada dia, ao comprar um simples analgésico ou qualquer outro medicamento vendido em qualquer farmácia. Um caso clássico que evidencia o quão danoso pode ser uma contaminação cruzada em casos extremos foi notificada em 1958 nos Estados Unidos da América, onde ocorreu uma intoxicação em massa de crianças entre cinco e dez anos que estavam recebendo tratamento com produto vitamínico para melhorar seu desenvolvimento. Houve aparecimentos de mamas e outras modificações relacionadas a estrógenos. A investigação chegou à conclusão que as cápsulas estavam contaminadas com estrógenos, já que nesta planta fabril eram produzidos produtos hormonais e vitamínicos e a limpeza não foi eficiente.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) cobra incisivamente a Validação de Limpeza em processos fabris desenvolvidos pela indústria farmacêutica. Portanto, as empresas se interessam em garantir o atendimento integral a esta exigência, a fim de manter sua licença de funcionamento e, principalmente, garantir um medicamento de alta qualidade no mercado (Brasil, 2010).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver a Validação de Limpeza para as superfícies de equipamentos utilizados em uma rota farmacêutica hormonal onde são produzidos medicamentos contendo etinilestradiol, gestodeno e tibolona. A validação em questão exigiu que fosse desenvolvida a determinação cromatográfica simultânea por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de resíduos de etinilestradiol e gestodeno, utilizando a técnica de amostragem por *swab*. A metodologia analítica foi validada de acordo com as resoluções da ANVISA, e foi aplicada na determinação dos resíduos em cinquenta e seis pontos de amostragem na superfície de sete equipamentos.

O grande diferencial deste trabalho é o alto número de amostragens, que levam a uma maior confiança de que o produto proveniente desta rota não terá contaminação cruzada.

MATERIAL E MÉTODO

Rota de produção farmacêutica estudada

Foi validada a limpeza de uma planta de sólidos hormonais contendo rota com sete equipamentos, por onde os constituintes da formulação passam de forma cronológica respeitando a seguinte sequência: misturador, granulador, estufa, moinho, compressora, desempoeirador e blisterizadora.

Escolha do pior caso

A rota produtiva selecionada para a realização desse estudo fabrica dois produtos utilizando três ativos. Em situações dessa natureza, uma vez que é muito laborioso validar o processo de limpeza para cada um dos produtos, segue-se a recomendação de escolher o *pior caso* (Alencar et al., 2006).

Limites de aceitação

O cálculo utilizado para determinação do limite de resíduo aceitável foi realizado conforme o guia relacionado à Garantia da Qualidade específico para Validação de Limpeza (Brasil, 2006), em que se utilizou entre o limite “0,1% da dose limite” e “10 ppm”, do qual obtivesse o menor valor.

Validação do método analítico

A validação do método foi realizada através dos seguintes testes: seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limites de detecção e de quantificação e robustez (Brasil, 2003).

Reagentes

Os padrões usados foram de gestodeno (lote 1 - European Pharmacopeia) e etinilestradiol (lote Q0C162 -United Stated Pharmacopeia). Foram utilizados etanol e acetonitrila (J.T.Baker) de grau cromatográfico, detergente (Johnson Diversey) e água deionizada (Milli-Q). A amostragem foi feita usando *swabs* de poliéster Texwipe TX715 (Large Alpha®).

Equipamento e condições cromatográficas

O sistema CLAE utilizado foi Agilent, consistindo de módulo Degasser modelo G1322A, bomba modelo G1311A, interface modelo G1329A, forno modelo G1316A e detector modelo G1314B. Para o controle do sistema cromatográfico e coleta dos dados foi usado o programa EZ

Chrom Elite. Foi usada coluna Lichrospher RP-8, 125 X 4,6 mm, 100-5 mm com partículas de 5 µm. A fase móvel foi uma mistura de água/acetonitrila (40:60, v/v), em um fluxo de 1,5 mL/min. O volume de injeção foi de 20 µL e a detecção no UV foi feita em 205 nm. Todas as análises foram feitas em temperatura ambiente (25 °C).

Preparação dos padrões de calibração

As soluções estoque de gestodeno e etinilestradiol foram preparadas pesando-se exatamente 72,5 mg e 18,0 mg de cada padrão, respectivamente, os quais foram transferidos para balões volumétricos de 50 mL. Os padrões foram dissolvidos em fase móvel, com o auxílio de um banho ultrassônico (15 min), e os balões foram completados com o mesmo solvente. A partir da diluição dessas soluções, foram preparadas as demais concentrações. As alíquotas dessas soluções padrão foram filtradas através de membranas de 0,45 mm de porosidade.

Ensaio de Seletividade

Para este teste foram preparadas nove amostras doseadas pelo método a ser avaliado: Amostra 100% etinilestradiol, Amostra 100% gestodeno, Amostra 100% etinilestradiol e gestodeno, Diluente puro, Diluente com presença de *swab* (possível interferente se escolhido em item posterior como forma de amostragem), Amostra 100% combinada com presença de *swab* (possível interferente se escolhido em item posterior como forma de amostragem), Placebo com todos os excipientes possíveis, Amostra 100% Tibolona, Amostra 100% Detergente (Milenović & Todorović, 2009).

Ensaio de Linearidade (Curva de calibração)

Para esta avaliação foram preparadas três soluções de cinco concentrações conhecidas e crescentes, nomeadas de 80, 90, 100, 110 e 120% (2,88; 3,24; 3,60; 3,96 e 4,32 µg/mL para etinilestradiol e 11,60; 13,05; 14,50; 15,95 e 17,40 µg/mL para gestodeno), além destas, foram injetadas três soluções placebo, contendo apenas os excipientes (Milenović & Todorović, 2009; Dhoka et al., 2010).

Ensaio de Precisão inter e intra corrida / Exatidão

Para avaliar ambas as características simultaneamente foi utilizado o método do placebo contaminado, em que foram preparadas por dois analistas diferentes em dois dias, três soluções de três tipos de concentrações e crescentes, sendo estas 80, 100 e 120% (Milenović & Todorović, 2009; Dhoka et al., 2010). No ensaio de exatidão avaliam-se os resultados de recuperação (Recuperado = Valor encontrado / Valor teórico X 100).

Ensaio de Robustez

Foram variados os fluxos, proporção acetonitrila: água, temperatura e coluna na análise de duas amostras. Os resultados obtidos foram confrontados com os resultados

observados nas condições propostas pelo método (Milenović & Todorović, 2009).

Ensaio para Limite de Quantificação e Detecção

A determinação do limite de quantificação (LQ) e limite de detecção (LD) foi realizada conforme indicado na fórmula abaixo, em que 's' é o desvio padrão do intercepto e S é a inclinação da curva de calibração (Dhoka et al., 2010).

$$LD = 3,3 \times (s/S)$$

$$LQ = 10 \times (s/S)$$

Amostragem

Placas de aço inoxidável e placas de superfície emborrachada de 100 cm² (Coutinho et al., 2009) foram contaminadas evaporando em sua superfície 1,00 mL de solução contendo gestodeno e etinilestradiol, nas concentrações desejadas (36,6 µg/mL para etinilestradiol e 145,0 µg/mL para gestodeno). A amostragem foi feita com *swabs* descartáveis de poliéster, previamente embebidos em etanol. Inicialmente, um lado da ponta do *swab* foi deslizado firmemente pela superfície como indicado na Fig.1(a); em seguida, o outro lado da ponta do *swab*, não utilizado até então, foi deslizado firmemente pela superfície, conforme Fig.1(b). Finalmente, o *swab* foi colocado em um tubo contendo 10,0 mL da fase móvel selecionada para a realização dos ensaios cromatográficos e colocado em um banho ultrassônico por 15 min. Aliquotas das soluções obtidas nas amostragens foram filtradas através de membranas de 0,45 mm de porosidade e injetadas no cromatógrafo. O fator de recuperação encontrado neste item será usado para corrigir o resultado final das análises da superfície do equipamento (se de uma superfície só se recupera 80% do ativo contido neste, por exemplo, todo resultado encontrado deve ser considerado 80% do que realmente existia na superfície, logo os resultados encontrados devem ser multiplicados por 100 e divididos pelo fator de recuperação).

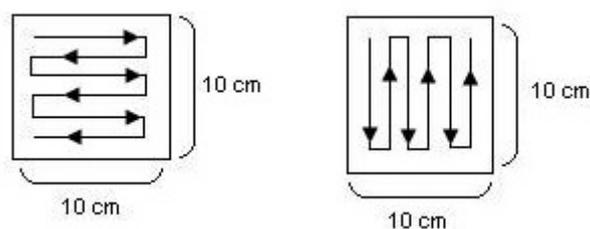


Figura 1. Modo de amostragem

Autor: Caroline M. R. Pribul

Amostras coletadas dos equipamentos de produção

A metodologia de validação de limpeza foi aplicada à rota de produção farmacêutica estudada (misturador, granulador, estufa, moinho, compressor, desempoeirador e blisterizadora), composta por equipamentos de aço inox, com algumas partes emborrachadas, localizada

no setor de fabricação de sólidos da instalação. Após o processo de validação de limpeza, 56 pontos considerados representativos para as diversas superfícies de contato oferecidas pelos equipamentos, foram amostrados usando *swab*. A amostragem foi feita como descrita na seção anterior. Três limpezas subsequentes foram analisadas.

RESULTADOS

Escolha do pior caso

Definiu-se o *pior caso* a partir dos valores tabelados para a solubilidade e toxicidade de cada ativo. A associação gestodeno – etinilestradiol foi escolhida para a validação de limpeza como *pior caso*.

Limites de aceitação

Todos os valores necessários para o cálculo de resíduo aceitável foram levantados para o produto escolhido como *pior caso* (aquele que contém etinilestradiol e gestodeno). Como resultado do uso destes dados para cálculo de resíduo aceitável chegou-se aos valores da Tabela 1.

Tabela 1 – Resultados dos dois critérios para os dois ativos

Substâncias ativas	0,1% da dose limite (µg/mL)	10 ppm (µg/mL)
Etinilestradiol	≤3,66	≤174,05
Gestodeno	≤14,50	≤174,05

Logo, no decorrer do trabalho será usado como critério que o limite de quantificação do método analítico tem que ser menor ou igual a 3,66 µg/mL para o etinilestradiol e menor ou igual a 14,50 µg/mL para o gestodeno.

Validação do método analítico

A validação do método foi realizada através dos seguintes testes: seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limites de detecção e de quantificação e robustez (Brasil, 2003).

Ensaio de Seletividade

Os resultados obtidos no teste de seletividade encontram-se na tabela 2.

Tabela 2 – Resultados para o teste de especificidade/seletividade

Amostras/ Ativos	Etinilestradiol	Gestodeno
Amostra 100% etinilestradiol	100,84%	0,00%
Amostra 100% gestodeno	0,00%	100,98%
Amostra 100% etinilestradiol e gestodeno	100,50%	100,55%
Diluyente puro	0,01%	0,00%
Diluyente + swab	0,01%	0,00%
Amostra 100% etinilestradiol e gestodeno + swab	100,32%	100,08%
Placebo de excipientes	0,00%	0,00%
Amostra 100% outro ativo da rota (tibalona)	0,00%	0,00%
Amostra 100% detergente	0,01%	0,00%

Ensaio de Linearidade (Curva de calibração)

As seguintes equações de regressão foram obtidas para as retas da área do pico versus a concentração do analito ($\mu\text{g/mL}$): $y = 0,9952x + 0,1718$ ($R^2=0,9998$) para etinilestradiol e $y = 0,9954x + 0,2647$ ($R^2=0,9996$) para gestodeno.

Ensaio de Precisão inter e intra corrida / Exatidão

Os resultados obtidos neste ensaio encontram-se na tabela 3 e 4.

Tabela 3 – Avaliação da precisão intracorrída do Analista 1, intracorrída do Analista 2 e intercorrída

Precisão	Média Etinilestradiol	Média Gestodeno	Desvio Padrão Etinilestradiol	Desvio Padrão Gestodeno
Intracorrída Analista 1	99,88%	100,22%	0,66	0,71
Intracorrída Analista 2	99,56%	99,98%	0,58	0,73
Intercorrída	99,72%	100,10%	0,63	0,71

Tabela 4 – Resultados da exatidão

Concentração Teórica (%)	Concentração Encontrada Etinil (%)	Concentração Encontrada Gestodeno (%)	Recuperado Etinilestradiol (%)	Recuperado Gestodeno (%)
80	79,99	79,99	99,99	99,98
	79,71	80,63	99,64	100,79
	79,64	80,67	99,56	100,84
	79,46	79,51	99,33	99,39
	79,23	80,26	99,04	100,33
	79,87	79,57	99,83	99,47
	100,84	100,98	100,84	100,98
	100,50	100,55	100,50	100,55
100	100,70	100,75	100,70	100,75
	100,94	100,94	100,94	100,94
	99,64	100,79	99,64	100,79
	99,56	100,84	99,56	100,84
	119,38	119,37	99,48	99,47
120	118,88	119,06	99,07	99,21
	118,98	119,28	99,15	99,40
	119,35	119,33	99,45	99,44
	118,88	119,06	99,07	99,21
	118,98	119,28	99,15	99,40

Ensaio de Robustez

O resultado para o ensaio de robustez pode ser observado na tabela 5.

Ensaio para Limite de Quantificação e Detecção

Como resultado do ensaio para limite de quantificação e de detecção, temos o disposto na tabela 6.

Tabela 5 - Resultado ensaio de Robustez

Condições	Amostra 1		Amostra 2		Desvio Padrão	
	Etinil	Gest	Etinil	Gest	Etinil	Gest
Normal	99,74	100,46	99,37	100,48	0,26	0,01
Fluxo 2,0 mL/min	99,10	100,35	99,11	100,98	0,26	0,33
Fluxo 0,5 mL/min	99,60	100,55	99,04	100,77	0,40	0,16
ACN: Água (80:20)	99,48	100,88	99,46	100,63	0,01	0,18
ACN:Água (60:40)	99,41	100,89	99,28	100,42	0,10	0,24
ACN: Água (70:30)	99,29	100,81	99,31	100,73	0,02	0,05
ACN: Água (50:50)	99,52	100,54	99,36	100,81	0,11	0,19
Coluna Lichrospher150/4,6mm	99,48	100,86	99,43	100,71	0,04	0,10
Temp. 45°C	99,63	100,56	99,93	100,63	0,21	0,05

Tabela 6 - Resultados do limite de quantificação e detecção em $\mu\text{g/mL}$ pelo método matemático e experimental

Limites	Etinilestradiol	Gestodeno
Quantificação	0,036	0,009
Detecção	0,011	0,002

Amostragem

Os fatores de recuperação para a amostragem usando *swab* encontram-se disponíveis na tabela 7 para superfície de inox e tabela 8 para superfícies emborrachadas.

Tabela 7 – Fator de recuperação de ativos em superfície de aço inox

Amostra	% Recuperação etinilestradiol	% Recuperação gestodeno
1	90,49	85,05
2	90,45	83,52
3	92,31	84,22
4	92,89	85,13
5	92,12	85,54
6	91,31	84,4
7	90,66	85,22
8	90,61	84,78
9	90,96	85,37
10	91,84	84,12
Desvio Padrão	0,87	0,65

Tabela 8 – Fator de recuperação de ativos em superfície emborrachada

Amostra	% Recuperação etinilestradiol	% Recuperação gestodeno
1	87,49	82,05
2	88,45	81,52
3	88,31	82,22
4	89,89	82,13
5	89,12	81,54
6	87,31	83,4
7	87,66	81,22
8	88,61	83,78
9	89,96	82,37
10	87,84	81,12
Desvio Padrão	0,94	0,88

Determinação das amostras coletadas nas superfícies de um equipamento de produção

O método, depois de validado, pode ser aplicado na validação de limpeza de equipamentos de produção. Após a limpeza de três lotes de produção da associação etinilestradiol-gestodeno, em todos os equipamentos descritos acima, as amostras reais de 56 pontos foram coletadas por *swab* e analisadas pelo método validado. Foram analisadas ao todo 168 amostras (3 x 56 pontos). Todos os resultados foram menores que os limites pré-estabelecidos.

DISCUSSÃO

Escolha do pior caso

A associação gestodeno – etinilestradiol foi escolhida para a validação de limpeza como pior caso, já que são os ativos insolúveis, de maior toxicidade.

Limites de aceitação

Quando as superfícies dos equipamentos forem amostradas, após execução do procedimento de limpeza, o resíduo encontrado deve ser menor que estes limites para que a limpeza seja considerada aprovada. Para alcançar o *status* “Validação de Limpeza aprovada” devem-se obter três limpezas consecutivas aprovadas após a produção dos lotes.

Validação do método analítico

Ensaio de Seletividade

Como pode ser observado o método é seletivo e específico para etinilestradiol e gestodeno, não havendo interferência de outros componentes que podem ser encontrados na superfície de equipamentos após a limpeza.

Ensaio de Linearidade (Curva de calibração)

Como pode ser observado, ambos ativos apresentaram comportamento linear quando analisados pelo método em questão com R^2 superior a 0,99, logo o método alcança linearidade adequada.

Ensaio de Precisão inter e intra corrida / Exatidão

Observa-se que os desvios padrão para ambos ativos, tanto inter quanto intra corridas são menores que 1% podendo assim afirmar que não há mudança significativa de resultados alterando dia e analista.

Utilizando o teste de Kolmogorov Smirnov (Moore, 2005) chega-se a conclusão que não existe evidência estatística que comprove que a distribuição não é normal a um nível de confiança de 95%. Portanto aplicou-se o teste *t* (Lapponi, 2005) para duas amostras a fim de avaliar se há diferença estatística entre as médias obtidas para analista

1 no dia 1 e analista 2 no dia 2 a um nível de confiança de 95%, concluindo-se que não se pode afirmar que há diferença estatística entre estas. Aplicando-se, além disto, o teste *F* (Moore, 2005) para duas amostras a fim de avaliar se há diferença estatística entre os desvios padrão obtidos pelo analista 1 no dia 1 e analista 2 no dia 2 a um nível de confiança de 95% chegou-se a conclusão que não se pode afirmar que há diferença estatística entre estes.

Como não foi possível provar que a distribuição é normalizada, podem-se utilizar testes não paramétricos. Foi utilizado o Teste de Mann-Whitney (Moore, 2005) para comparar a média do Analista 1 no dia 1 e do analista 2 no dia 2, concluindo que não existe diferença estatística entre as médias a um nível de significância de 95%.

Os resultados de recuperação do ensaio de exatidão para etinilestradiol variam de 99,04 a 100,94%; para gestodeno variam de 99,21 a 100,98%. Ambos encontram-se dentro do intervalo $100,0 \pm 1,0\%$, sendo então considerados aceitáveis.

Ensaio de Robustez

Como pode ser observado o desvio padrão entre os resultados é pequeno e a variação do doseamento é $100,0 \pm 1,0\%$, desta forma o método pode ser considerado robusto.

Aplicando-se o teste ANOVA (Lapponi, 2005) para comparação de médias não se pode afirmar que há diferença estatística entre as condições variadas em nível de confiança de 95%.

Ensaio para Limite de Quantificação e Detecção

Sendo ambos LQs menores que os limites de resíduo aceitável, o método pode ser utilizado para determinação de resíduos na validação de limpeza.

Amostragem

Para trabalhar sempre com o pior caso não se utilizará neste trabalho a média dos resultados de recuperação de ativo, e sim o menor fator de recuperação, que neste momento passa a ser o fator de correção dos resultados encontrados nas análises provenientes das superfícies dos equipamentos, pois com isto se garante um resultado de resíduo o maior possível de ser encontrado. Ressalta-se desta forma a importância da execução do teste de recuperação de ativo para determinação da metodologia de amostragem de superfícies de equipamentos e correção dos resultados para serem os mais próximos do resíduo real a ser avaliado na superfície do equipamento.

Estes fatores encontram-se na tabela 9.

Tabela 9 – Fator de correção de trabalho em superfícies de aço inox e emborrachadas

Fator de correção	etinilestradiol	gestodeno
Inox	90,45%	83,52%
Emborrachada	87,31%	81,12%

Apesar de alguns autores considerarem como critério de utilização do método que a eficiência de remoção do

analito pelo *swab* de diferentes superfícies deve ser apenas maior que 50% para garantir que o analito pode ser extraído do material (Milenović & Todorović, 2009), segundo a ANVISA (Brasil, 2006) a recuperação de ativo deve ser maior ou igual a 75%

Como pode ser observado tanto em superfície de aço inox quanto emborrachada, os resultados de recuperação são maiores ou iguais a 75% garantindo que mais que ¾ de todo resíduo de ativo da superfície é recuperado pela metodologia e no final todo resultado será corrigido por este fator, a fim de garantir um resultado o mais próximo da realidade, garantindo uma estimativa sempre para cima. Os desvios padrão encontrados também foram menores que 1,00 garantindo que não há grande dispersão entre os resultados. Apesar de Milenovic e Todorovic (2009) afirmarem que o ideal é amostrar a superfície com dois *swabs*, neste trabalho constatou-se que apenas um foi suficiente para alcançar recuperação satisfatória.

Conforme Fekete e colaboradores (2009), superfícies emborrachadas apresentam maior dificuldade de remoção de resíduos, o que pode ser confirmado pelos resultados encontrados neste trabalho. Foi realizado o teste Q para valores aberrantes nos resultados das tabelas acima; não havendo valor discrepante, o Teste de Kolmogorov Smirnov (Moore, 2005) foi aplicado com nível de confiança de 95% e baseado neste, não se pode afirmar que a distribuição não é normal. E, finalmente, ao comparar as médias dos resultados de etinilestradiol e gestodeno em inox e emborrachado chegou-se a conclusão que estes são diferentes com 95% de confiança, confirmando que em superfícies emborrachadas a recuperação dos ativos é menor do que em superfícies de inox.

Determinação das amostras coletadas nas superfícies de um equipamento de produção

Para avaliar se todos os resultados encontrados nas amostragens apresentavam distribuição normal foi aplicado o Teste de Kolmogorov Smirnov (Moore, 2005) com nível de confiança de 95% e não se pode afirmar que a distribuição não é normal.

Posteriormente, foi realizado o teste para determinar o intervalo de confiança (Lapponi, 2005) com um nível de 95%, e todos os intervalos de confiança para gestodeno encontraram-se abaixo de 14,5 µg/mL e para etinilestradiol abaixo de 3,66 µg/mL.

Além deste, foi realizado o teste t (Lapponi, 2005) para uma amostra e se tem evidência estatística que o valor da média dos resultados em todos os equipamentos para gestodeno é menor que 14,5 µg/mL e para etinilestradiol é menor que 3,66 µg/mL com 95% de confiança.

Baseado nos valores encontrados e nos testes estatísticos aplicados pode-se concluir que os resultados encontrados estão abaixo dos limites especificados para as três limpezas em relação aos dois ativos. Desta forma, os procedimentos de limpeza dos equipamentos descritos encontram-se validados.

Este trabalho propôs uma metodologia analítica completa para a validação de limpeza de resíduos de gestodeno e etinilestradiol em superfícies de equipamentos de produção farmacêutica, incluindo a extração por *swab* usando método cromatográfico para a determinação

simultânea desses dois ativos. O método foi validado de acordo com as resoluções da ANVISA (Brasil, 2003, 2010) e considerado seletivo, sensível, preciso, exato e robusto, além de linear. Após alcançar estes resultados, há a garantia de que os produtos provenientes desta rota fabril desde que sejam limpos conforme os procedimentos de limpeza previamente estabelecidos, não sofrerão contaminação cruzada entre si, garantindo segurança à população. Cabe ainda ressaltar que este trabalho pode ser usado para direcionar estratégias de validação de limpeza em diferentes rotas fabris.

ABSTRACT

Simultaneous determination of ethynylestradiol and gestodene residues on manufacturing equipment surfaces

A cleaning technique validation method was developed and validated, based on swab sampling and simultaneous chromatographic determination of gestodene and ethynyl estradiol residues. The method exhibited limits of quantitation (LOQs) of 0.036 µg/mL for ethynyl estradiol and 0.009 µg/mL for gestodene. It was considered selective, precise, accurate and robust, according to the standards set by ANVISA, the Brazilian regulatory agency. Mean swab recovery factors were 90.45% for ethynyl estradiol and 83.52 % for gestodene on an inox surface and 87.31% for ethynyl estradiol and 81.21 % for gestodene on a rubberized surface. The method was successfully applied to the assay of actual swab samples collected from all points on equipment surfaces. The cleaning method was validated.

Keywords: Gestodene. Ethynylestradiol. Validation. Cleaning. HPLC. Sampling.

REFERÊNCIAS

Alencar JRB, Lima LG, Ramos SVV, Oliveira ATC, Moura FN, Terrani JO. Validação de limpeza de equipamentos de formas farmacêuticas sólidas: estudo de caso do mebendazol comprimidos. *Rev Bras Cienc Farm* 2006;87(2):35-41.

Araújo EB, Lavinias T, Colturato MT, Mengatti J. Garantia da qualidade aplicada à produção de radiofármacos. *Braz J Pharm Sci*. 2008;44(1):10-2.

Botet J. Boas práticas em instalações e projetos farmacêuticos. São Paulo: RCN editora; 2006.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE n° 899, de 29 de maio de 2003. Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos. Diário Oficial da União, Brasília, 2 de junho de 2003. Seção 1.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guias relacionados à Garantia da Qualidade. Brasília (DF); 2006.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n° 17, de 16 de abril 2010. Estabelece os requisitos mínimos a serem seguidos na

fabricação de medicamentos para padronizar a verificação do cumprimento das Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos (BPF) de uso humano durante as inspeções sanitárias. Diário Oficial da União, Brasília, nº 19, abril de 2010. Seção 1.

Coutinho RC, Barbosa ET, Sena MM, Pérez CN. Determinação simultânea de resíduos de sulfametoxazol e trimetoprima em superfícies de equipamentos de produção. Quím Nova 2009;32(8):2214-7.

Dhoka MV; Vaidya PD; Pande AV; Arora AS. Development and Validation of Analytical Method for Estimation of Cefixime in Swab Samples. Int J ChemTech Res. 2010;2(4):1918-23.

Fekete S, Fekete J, Ganzler K. Validated UPLC method for the fast and sensitive determination of steroid residues in support of cleaning validation in formulation area. J Pharm Biomed Anal. 2009;49:833-8.

Lapponi JC. Estatística usando Excel. 4ª. ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005.

Milenović DM, Todorović ZB. Development and Validation of a High-Performance Liquid Chromatographic Method for Analysis of Nimesulide Residues on Manufacturing Equipment Surfaces. Acta Chromatogr. 2009;21(4):603-18.

Moore DS. A estatística básica e sua prática. 3ª. ed. Rio de Janeiro: LTC; 2005.

Recebido em 15 de janeiro de 2013

Aceito para publicação em 11 de abril de 2013

