

CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA PAULA SOUZA
FACULDADE DE TECNOLOGIA DE CAMPINAS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS

BEATRIZ HADI CATOSI

**VALIDAÇÃO DE LIMPEZA E SUA DIMENSÃO NA
INDÚSTRIA FARMACÊUTICA**

CAMPINAS/SP
2023

CENTRO ESTADUAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA PAULA SOUZA
FACULDADE DE TECNOLOGIA DE CAMPINAS
CURSO SUPERIOR DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS

BEATRIZ HADI CATOSI

**VALIDAÇÃO DE LIMPEZA E SUA DIMENSÃO NA
INDÚSTRIA FARMACÊUTICA**

Trabalho de Graduação apresentado por Beatriz Hadi Catossi, como pré-requisito para a conclusão do Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos, da Faculdade de Tecnologia de Campinas, elaborado sob a orientação do Profa. Dra. Juliana Canto Duarte.

CAMPINAS/SP
2023

FICHA CATALOGRÁFICA
CEETEPS - FATEC Campinas - Biblioteca

C366v

CATOSSI, Beatriz Hadi

Validação de limpeza e sua dimensão na indústria. Beatriz Hadi Catossi. Campinas, 2023.

34 p.; 30 cm.

Trabalho de Graduação do Curso de Processos Químicos
Faculdade de Tecnologia de Campinas.

Orientador: Profa. Dra. Juliana Canto Duarte.

1. Amostragem. 2. Contaminação. 3. Métodos analíticos quantitativos. 4. Resíduos. I. Autor. II. Faculdade de Tecnologia de Campinas. III. Título.

CDD 541.28

Catologação-na-fonte: Bibliotecária: Aparecida Stradiotto Mendes – CRB8/6553

TG PQ 23.2

Beatriz Hadi Catossi

Validação de limpeza e sua dimensão na indústria farmacêutica

Trabalho de Graduação apresentado como exigência parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos, pelo CEETEPS / Faculdade de Tecnologia – FATEC Campinas.

Campinas, 01 de dezembro de 2023.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Juliana Canto Duarte
Fatec Campinas



Prof. Ana Carolina Barros de Gennaro Veredas
Fatec Campinas



Prof. Aurimar Moreira Reis
Fatec Campinas

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me acompanhado por toda a minha jornada e ter me capacitado e me iluminado durante todo o trajeto.

Aos meus pais, Emerson e Magda, por todo amor e apoio, sem eles eu não teria chegado até aqui.

À minha coordenadora Júlia Belussi e ao meu diretor científico Amadeu Iglesias que confiaram em mim e me deram a oportunidade de aprender e me tornar uma boa profissional na área e também por terem me apresentado a análise de validação de limpeza e a manipulação do espectrômetro de massas.

À minha orientadora Juliana Canto Duarte, pelos ensinamentos e pela dedicação e suporte na elaboração desse trabalho.

A todos os amigos da FATEC, Caroline, Andressa, Erasmo, Beatriz, Júlia, Milena, Daniel, Lucas, Vitor e Rafaela, por tornarem os dias mais leves com companheirismo e incentivo.

E a todos os professores da FATEC, por todo ensinamento durante esses seis semestres.

RESUMO

Por meio de uma pesquisa bibliográfica, com auxílio de artigos, guias da ANVISA, normas e trabalhos acadêmicos, esse trabalho teve como objetivo apresentar e discutir três conceitos no âmbito da indústria farmacêutica: amostragem, equipamento e metodologia. A validação de limpeza é fundamental para a indústria farmacêutica, visando prevenir a contaminação cruzada e garantir a eficácia dos produtos. Esta envolve documentação de procedimentos, escolha de métodos analíticos quantitativos adequados, critérios de aceitação, amostragem, e determinação de parâmetros analíticos. A metodologia inclui o uso de diferentes técnicas, como amostragem direta (*swab*) e indireta (rinsagem) da superfície, com vantagens e desvantagens específicas para cada método. Além disso, a validação de limpeza exige o uso de equipamentos analíticos, como o espectrômetro de massas, que oferece benefícios significativos, incluindo a capacidade de identificar e quantificar compostos com alta sensibilidade e seletividade. A conformidade com as diretrizes regulatórias, como a RDC 301/2019 da ANVISA, é crucial para garantir a eficácia e a segurança dos produtos farmacêuticos, e a validação de limpeza desempenha um papel crítico nesse processo, garantindo a conformidade e a qualidade dos produtos finais de forma que os resquícios de quaisquer resíduos sejam eliminados. Com esse trabalho foi possível apresentar e discutir as metodologias de *swab* e rinsagem para validação de limpeza na indústria farmacêutica, destacando suas aplicações. Além disso, realizou-se um estudo sobre a metodologia analítica de UPLC-MS/MS, explorando sua eficácia na validação de limpeza e comparando-a com outras abordagens analíticas. A UPLC-MS/MS é a técnica escolhida para validação de limpeza devido à sua sensibilidade e capacidade de lidar com matrizes complexas. Essa técnica assegura detecção precisa de resíduos, permitindo uma avaliação abrangente da limpeza de equipamentos industriais, contribuindo para a conformidade regulatória e garantindo a segurança dos produtos finais.

Palavras-chave: amostragem, contaminação, métodos analíticos quantitativos e resíduos.

ABSTRACT

Through a literature review utilizing articles, ANVISA guidelines, standards, and academic works, this study aimed to present and discuss three concepts within the pharmaceutical industry: sampling, equipment, and methodology. Cleaning validation is crucial in the pharmaceutical industry to prevent cross-contamination and ensure product efficacy. It involves documenting procedures, selecting appropriate quantitative analytical methods, establishing acceptance criteria, sampling, and determining analytical parameters. Methodology includes employing various techniques such as direct sampling (swab) and indirect sampling (rinse), each with specific advantages and disadvantages. Additionally, cleaning validation requires the use of analytical equipment, such as mass spectrometry, providing significant benefits, including the ability to identify and quantify compounds with high sensitivity and selectivity. Compliance with regulatory guidelines, such as ANVISA's RDC 301/2019, is crucial to ensuring the efficacy and safety of pharmaceutical products, and cleaning validation plays a critical role in this process, ensuring compliance and the quality of final products by eliminating residues. This work presented and discussed swab and rinse methodologies for cleaning validation in the pharmaceutical industry, highlighting their applications. Furthermore, an exploration of the analytical methodology of UPLC-MS/MS was conducted, assessing its efficacy in cleaning validation and comparing it with other analytical approaches. UPLC-MS/MS is the chosen technique for cleaning validation due to its sensitivity and ability to handle complex matrices, ensuring precise detection of residues and contributing to a comprehensive assessment of industrial equipment cleanliness, thus ensuring regulatory compliance and the safety of final products.

Keywords: sampling, contamination, quantitative analytical methods, and residues.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Amostragem direta da superfície, <i>swab</i>	18
Figura 2 – Movimentos de amostragem, <i>swab</i>	19
Figura 3 – Amostragem indireta da superfície, rinsagem.....	20
Figura 4 – Cromatografia de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas (UPLC-MSMS).....	22
Figura 5 – Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	22
Figura 6 – Espectrofotometria de ultravioleta-visível (UV-vis).....	23

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Amostragem direta da superfície, <i>swab</i> – vantagens e desvantagens	26
Quadro 2 – Amostragem indireta da superfície, rinsagem – vantagens e desvantagens	27

LISTA DE ABREVIACOES

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
IFA	Ingrediente farmacêutico ativo
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
MRM	Monitoramento de reações múltiplas
MS	Espectrometria de Massas
MS/MS	Espectrometria de Massas em Tandem
PPM	Partes por milhão
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
s.d.	Sem Data
SQR	Substâncias químicas de referência
UPLC	Cromatografia Líquida de Ultra Alta Performance

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
1.1	CONTEXTUALIZAÇÃO	11
1.2	JUSTIFICATIVA/PROBLEMÁTICA	11
1.3	OBJETIVOS	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
3	METODOLOGIA	24
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
5	CONCLUSÃO	30
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1 INTRODUÇÃO

A validação de limpeza está sendo a solução dos problemas das contaminações cruzadas (ANALYTICA, 2020). O seu principal objetivo é a remoção de resíduos dos produtos que acabaram de ser produzidos, para estes não alterarem o próximo produto a ser formulado.

Esse procedimento torna-se algo tão essencial a partir do momento em que uma contaminação dentro de uma indústria farmacêutica pode ocasionar variação farmacológica nos medicamentos, podendo deixá-los inativos ou até mesmo tóxicos (TAVARES, 2018).

Essa metodologia nada mais é que a documentação de procedimentos de limpeza. É a escolha do procedimento adequado a cada equipamento e resíduo, dentro desse procedimento, tem-se o critério de aceitação, o método de limpeza de acordo com o processo, o equipamento, os agentes da limpeza e as técnicas de limpeza. É o desenvolvimento e validação dos métodos de amostragem e determinação de métodos analíticos. É a determinação da porcentagem de recuperação, bem como os parâmetros de metodologia analítica (especificidade, linearidade, intervalo, precisão, limite de detecção, limite de quantificação e exatidão do método) (BIDO, 2020).

1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO

A RDC 301/2019 publicada pela ANVISA trata das diretrizes para boas práticas de fabricação para medicamentos, sendo também aplicável a indústria de cosméticos. Com a resolução, aumentou-se a preocupação com a contaminação cruzada proveniente de insumos ou produtos utilizados em processos anteriores no mesmo sistema

1.2 JUSTIFICATIVA/PROBLEMÁTICA

A validação de limpeza foi metodologia analítica escolhida para dar fim às contaminações em indústrias (ANVISA, 2013), por meio de diferentes métodos (cada um com uma particularidade, definidos a partir do ativo que passou por aquela máquina), diferentes amostragens e diferentes limites (concentração do ativo). Segundo a ANVISA (2013), a técnica é uma evidência documental de que um processo de limpeza aprovado é capaz de providenciar equipamentos adequados para o processamento de produtos medicinais. Este tem como objetivo

comprovar que os níveis de princípio ativo, detergentes e microrganismos existentes depois do procedimento de limpeza são adequados. Esta é realizada por um grupo de trabalho que envolve recursos dos departamentos de Garantia de Qualidade, Controle de Qualidade, Produção e Engenharia.

A validação de limpeza geralmente só é necessária para equipamentos não dedicados, ou seja, aqueles utilizados na produção de produtos diferentes, sendo esta validação realizada para as superfícies em contato com o produto. Nestes processos, pode ser aplicado o conceito de *bracketing*, onde apenas o pior caso, relativamente aos equipamentos ou produtos, é analisado. São necessárias três corridas, ou seja, amostragens após execução dos procedimentos de limpeza três vezes consecutivas, para proceder à validação do mesmo (SILVA, 2014).

Diante disto, o entendimento sobre esse método na indústria farmacêutica é importante, pois implica no consumo de medicamentos, no sentido de que o consumidor espera que alguém tenha se preocupado com a limpeza dos equipamentos que foram passados tal medicamento.

1.3 OBJETIVOS

- A) Apresentar e discutir as metodologias (*swab* e rinsagem) para validação de limpeza no âmbito da indústria farmacêutica;
- B) Estudar a metodologia analítica de UPLC-MS/MS empregada na validação de limpeza e compará-la com outras metodologias utilizadas para mesma finalidade.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 VALIDAÇÃO DE LIMPEZA

A validação de limpeza é a documentação de um procedimento e segundo a ANVISA (2013), a validação é a solução das contaminações cruzadas nas indústrias.

Para executar uma validação, deve-se seguir alguns passos: Procedimento adequado ao equipamento (critério de aceitação, método de limpeza de acordo com o processo, equipamento, agentes da limpeza e técnicas de limpeza).

2.2 A QUALIDADE NA VALIDAÇÃO DE LIMPEZA

Através da leitura do Guia de validação de limpeza para farmoquímicas (ANVISA, 2013), foi observado que:

Desenvolvimento e validação do método de amostragem, determinação de método analítico (*swab* ou rinsagem). Deve-se determinar a porcentagem de recuperação, bem como os parâmetros de metodologia analítica (especificidade, linearidade, intervalo, precisão, limite de detecção, limite de quantificação e exatidão do método), avaliação de superfícies do equipamento (pontos mais difíceis de limpar, “pior caso”, é nele que é realizado a amostragem de *swab* e volume e tipo de solvente, para a rinsagem, elaboração de protocolo de validação e elaboração de relatório de validação. O relatório deve fornecer um fundamento técnico detalhado do estudo de validação de limpeza e deve avaliar todos os dados gerados em relação aos critérios de aceitação empregados no estudo, incluindo os desvios encontrados durante o processo de validação. O relatório deve também indicar os requerimentos para revalidação (periodicidade e controle de mudanças) (ANVISA, 2013).

Além disso, foi visto que,

A combinação de métodos pode permitir identificar contaminantes provenientes de várias fontes, incluindo as águas de processos, ingredientes ativos, excipientes, e agentes de limpeza. Para utilizar estas técnicas, todo o resíduo detectado é assumido como sendo o composto pior caso, e, em seguida, é comparado com os critérios de aceitação estabelecidos. Se os resultados forem superiores aos critérios de aceitação, processos de limpeza adicionais são necessários (PORTO, 2015, p. 23).

De acordo com a ANVISA (2013, p.6), em validação de limpeza, o grau de utilização determina o nível de limpeza que é necessário submeter cada tipo de equipamento para poder

promover a eficácia da lavagem, eliminando (ou minimizado) as fontes de contaminação cruzada. Desta forma, é necessário efetuar-se uma primeira avaliação do tipo de substância que passou pelo equipamento antes do mesmo ser lavado, tendo-se em conta qual irá ser a substância que irá passar imediatamente após a lavagem, sendo que este é um dos passos necessários para determinar qual será o nível de limpeza necessário, como especificidade do equipamento (se o mesmo é dedicado a uma substância ou não); da etapa de produção (se a lavagem for aplicada a equipamentos que participem ativa e diretamente num processo produtivo) e da natureza de substâncias potencialmente contaminantes. Após a análise dos vários parâmetros, existem três níveis de limpeza/lavagem:

>Nível 0 – É o nível menos crítico em lavagem. Este tipo não requer validação de limpeza após a sua implementação já que é utilizado para lavagens intra-campanhas, onde o risco de contaminação é nulo.

>Nível 1 – Este nível de limpeza é aplicado quando se transita entre passos de produção de um primeiro produto para um passo produtivo inicial ou intermediário de outro produto. É também aplicado quando se transita de passos iniciais de produção de um produto para passos intermediários desse mesmo produto.

>Nível 2 – É o nível de limpeza que se considera mais crítico e é aplicado quando existe mudança entre qualquer passo e o passo final de produção de um determinado produto. É o nível onde a validação de limpeza é fundamental por ser aplicado em transições muito sensíveis e críticas intra e inter processos produtivos já que o produto segue para o consumo final. Para o caso dos materiais de amostragem, no presente estudo, o nível de limpeza pode ser de nível 1 ou nível 2 já que as amostragens consistem sempre, ou em partes iniciais de processo (matérias-primas) ou em partes processuais em que as amostragens são de produto final.

2.3 DOCUMENTAÇÃO DE VALIDAÇÃO DE LIMPEZA

De acordo com o livro Validação de limpeza para farmoquímicas, publicado pela ANVISA (2013), a avaliação do processo de limpeza é o primeiro passo da validação. Alguns passos importantes para essa avaliação devem ser levados em consideração:

- I) O procedimento deve ser registrado, tanto com a metodologia, quanto com os treinamentos (somente pessoas treinadas fazem o procedimento).
- II) No procedimento deve-se esclarecer todos os pontos difíceis de se alcançar em um equipamento, deve-se ter a maneira de limpar cada equipamento, cada ponto

crítico citado nessa etapa deve-se obter códigos de identificação para não haver esquecimento de nenhuma partícula.

- III) Se a limpeza for manual, deve-se detalhar no procedimento o tempo que se leva, a quantidade de solvente utilizada, o tipo de solvente que foi escolhido, tipo de detergentes e os métodos (quantas vezes uma determinada área deve ser esfregada, por quanto tempo e em que sentido).
- IV) Todo o material utilizado deve ser registrado, para que não haja mudanças na concentração, lote e marca.
- V) Nele também deve conter o tempo que a peça pode ficar suja, pois alguns tipos de produtos dificultam a limpeza dependendo do tempo que ficou na superfície.
- VI) Nesse procedimento deve-se conter a informação. Jamais um equipamento, após ser limpo, deve permanecer com água estagnada, seja no seu interior ou no interior de suas válvulas. O estudo de validação deve assegurar que as operações de limpeza e armazenagem não permitam proliferação microbiana.
- VII) No procedimento, em casos de campanhas, onde são realizadas limpezas parciais entre diferentes lotes de produção, a validação de limpeza deve definir o tempo máximo de campanha. Na etiqueta de identificação do status de limpeza deve constar nome, concentração, lote do último produto utilizado no equipamento ou utensílio, prazo de validade da limpeza, nome dos funcionários que executaram e supervisionaram a limpeza.

O passo do registro é chamado elaboração de um protocolo de validação de limpeza, este deve apresentar um detalhamento do procedimento e todas as fases críticas. Além disso, deve conter todas os possíveis contratempos que podem ser evitados, o tipo de amostragem e os limites aceitáveis (ANVISA, 2013).

2.4 PARÂMETROS PARA VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO

2.4.1 Linearidade

De acordo com a RDC 166, publicada em 2017, a linearidade deve ser comprovada pelo estabelecimento de uma relação proporcional entre as respostas analíticas e as concentrações do analito na amostra, dentro do intervalo determinado para o método. Para realizar essa verificação, é necessário utilizar no mínimo cinco concentrações diferentes da Solução-Padrão de Referência (SQR), preparadas em triplicata de forma independente ou a partir de uma solução mãe da SQR diluída. Todos os cálculos para a avaliação da linearidade devem ser

baseados em dados de concentrações reais e respostas analíticas individuais. Na avaliação da linearidade, é crucial exibir graficamente as respostas em relação à concentração do analito, gerar um gráfico de dispersão dos resíduos com análise estatística e fornecer a equação da reta de regressão de y em x , obtida por meio do método dos mínimos quadrados. A observância desses requisitos assegura uma análise abrangente e precisa da linearidade do método de análise, sendo fundamental para a validade dos resultados obtidos.

2.4.2 Exatidão

De acordo com a RDC 166, publicada em 2017, a exatidão de um método analítico deve ser determinada pela concordância entre os resultados e um valor de referência aceito. A verificação da exatidão deve envolver no mínimo 9 determinações, em três níveis de concentração: baixa, média e alta, com três réplicas em cada nível. As amostras devem ser preparadas independentemente, podendo ser derivadas de uma solução mãe de substância química de referência (SQR). Define abordagens específicas para avaliar a exatidão de acordo com o tipo de análise (Ingrediente farmacêutico ativo - IFA, produto final e impurezas). A exatidão pode ser expressa como a relação percentual de recuperação do analito de concentração conhecida adicionado à amostra ou como a relação entre a concentração média experimental e a concentração teórica correspondente. O cálculo do desvio padrão relativo (DPR) é necessário para cada concentração. Os critérios de aceitação para percentuais de recuperação e desvio padrão relativo devem ser justificados de acordo com os critérios estabelecidos no artigo 39.

2.4.3 Precisão

No trecho regulamentar, publicado na RDC 166 (2017), são estabelecidas diretrizes para a avaliação da precisão de métodos analíticos, tais como:

- VIII) Artigo 33: A precisão é avaliada com base na proximidade entre os resultados obtidos de ensaios com amostras preparadas de acordo com o método analítico a ser validado.
- IX) Artigo 34: A precisão pode ser expressa por meio da repetibilidade, precisão intermediária ou reprodutibilidade.
- X) Artigo 35: A precisão é demonstrada pela dispersão dos resultados, usando o desvio padrão relativo (DPR) da série de medições.

- XI) Artigo 36: Amostras devem ser preparadas independentemente desde o início do procedimento descrito no método, exceto no caso de amostras sólidas e semissólidas.
- XII) Artigo 37: Caso a avaliação da precisão envolva contaminação da matriz com substância em quantidade muito baixa, procedimentos específicos devem ser seguidos, incluindo fortificação da amostra com concentrações conhecidas do padrão de impurezas.
- XIII) Artigo 38: Critérios específicos devem ser seguidos para determinar a repetibilidade, incluindo avaliação das amostras sob as mesmas condições de operação e o uso de um número mínimo de determinações em diferentes concentrações.
- XIV) Artigo 39: Os critérios de aceitação devem ser definidos e justificados com base no objetivo do método, variabilidade intrínseca, concentração de trabalho e concentração do analito na amostra.
- XV) Artigos 40 e 41: São detalhados critérios e procedimentos para a determinação da precisão intermediária e reprodutibilidade, incluindo a necessidade de testes estatísticos apropriados para estudos colaborativos ou para a padronização de métodos analíticos em compêndios oficiais.

2.4.4 Seletividade

A seletividade do método deve ser comprovada pela capacidade de identificar ou quantificar o analito na presença de outros componentes da amostra, como impurezas e componentes da matriz. Para métodos cromatográficos, a pureza cromatográfica do sinal do analito deve ser comprovada, exceto para produtos biológicos. Nos métodos de identificação, é necessário demonstrar a capacidade de obter um resultado positivo para a presença do analito e um resultado negativo para outras substâncias na amostra. A comparação com a resposta obtida para o analito utilizando uma solução padrão de referência (SQR) é requerida. Além disso, ensaios com substâncias estruturalmente semelhantes ao analito devem resultar em um critério de aceitação negativo. Para insumos farmacêuticos ativos de origem vegetal e seus medicamentos, a capacidade do método de distinguir o material de interesse de outras espécies vegetais semelhantes deve ser demonstrada. Em métodos quantitativos e ensaios limite, a seletividade deve ser demonstrada garantindo que a resposta analítica seja exclusivamente do analito, sem interferência de outros componentes da amostra, como o diluente, a matriz, as

impurezas ou os produtos de degradação. É necessário expor a amostra a condições de degradação variadas para comprovar a ausência de interferência de produtos de degradação (RDC 166, 2017).

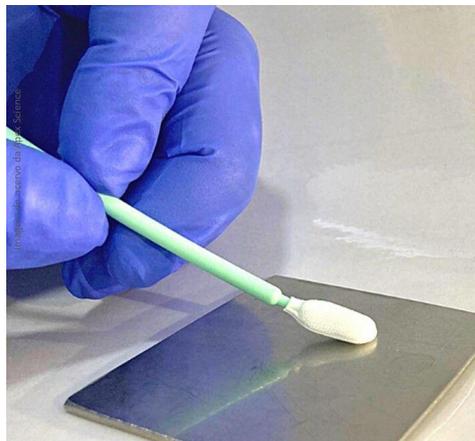
2.5 AMOSTRAGEM E PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS

Os tipos de amostragem, conhecidos como *swab* e rinsagem, ambos utilizados para retirada de resíduos, possuem suas particularidades (CMS, 2020):

2.5.1 *Swab*

A amostragem direta é a mais utilizada na validação de limpeza, de acordo com o Guia de Inspeções da *Food and Drug Administration* - FDA (FDA, 2014). Uma das maiores vantagens é que, diferente da rinsagem, é utilizada com resíduos secos e insolúveis, ou seja, essa amostragem é usada com resíduos que precisam de “esforço” físico (CMS, 2020).

Figura 1 – Amostragem direta da superfície, *swab*.



Fonte: APEX SCIENCE (2022).

O *swab* é uma ferramenta para a coleta de amostras de superfícies ou determinadas áreas, chamada de método de esfregaço, é composto por uma haste feita de plástico e contém uma extremidade coberta de um material absorvente. Quando se trata de higienização de áreas críticas, deve-se usar produtos específicos, de modo que o *swab* é um método que emprega a força física na remoção de resíduos (AXIOS, 2022).

Para a preparação de uma validação de limpeza usando o método *swab*, também chamado de método do esfregaço, primeiro precisa-se selecionar o tipo de *swab* apropriado,

sendo que o que mudará de um modelo para o outro é o tamanho e o material da área absorvente. Após essa seleção delimita-se a área de amostragem e, por fim, umedecendo o *swab* no diluente escolhido, amostra-se (AXIOS, 2022).

Esse ato de amostrar com o *swab* auxilia em uma melhor recuperação quando se tem superfícies irregulares, áreas de difícil acesso, espaço onde há presença de produto ou resíduo de limpeza, superfícies em maiores temperaturas e superfícies que contém poros (AXIOS, 2022).

A utilização do *swab* na superfície se dá através do desenvolvimento de metodologia, onde a escolha do diluente, quantidades de *swab*, tipo e movimentos de amostragem é escolhida conforme melhor recuperação. Destacando que os movimentos têm que ser feitos de forma uniformizada (USC, s.d) .

Na Figura 2 é demonstrado um exemplo de movimentos de amostragem. Nesta figura são apresentados 2 *swabs*, frente e verso, movimentos horizontais, verticais e diagonais (CMS, 2020).

Figura 2 – Movimentos de amostragem, *swab*.



Fonte: CMS (2020).

2.5.2 Rinsagem

Na rinsagem (amostragem indireta da superfície) a última lavagem do equipamento é utilizada como uma amostra para quantificar os resíduos que podem ter ficado no equipamento. A vantagem de se escolher essa amostragem indireta é que ela, em si, cobre o equipamento inteiro, isso indica que a parte inacessível será alcançada. A desvantagem de se escolher esse

tipo de amostragem é que alguns tipos de resíduos podem não “desgrudar” facilmente da superfície, precisando-se utilizar um *swab* (BIDOIA, 2014).

A figura seguir é uma demonstração de rinsagem em uma superfície de INOX, com área de 25 cm², o pesquisador com o auxílio de uma pinça, segura a superfície e a enxagua com o diluente escolhido, essa lavagem é coletada em um béquer para análise posterior.

Figura 3 – Amostragem indireta da superfície, rinsagem.



Fonte: Apex Science (2023).

De acordo com o Guia de validação de limpeza para farmoquímicas (ANVISA, 2013), tem-se que:

A quantidade de resíduo no equipamento pode ser assumida ser igual à quantidade de resíduo na última porção de solvente de lavagem/rinsagem. Esta suposição é baseada na consideração de pior caso, ou seja, que uma lavagem/rinsagem posterior (ou qualquer reação) não lavaria mais do que esta porção faria. A vantagem deste tipo de amostragem é que todo o equipamento será alcançado pelo solvente, mesmo as partes mais inacessíveis e que não podem ser desmontadas (ex.: vedações, frestas, tubulações etc.). O resíduo na amostra de solvente deve ser determinado por métodos analíticos adequados e o resíduo no equipamento como um todo pode ser calculado através de uma equação, cuja fórmula é expressa pelo volume da última porção de solvente multiplicado pela diferença entre a concentração de impurezas na amostra e o branco do solvente de lavagem, resultado na quantidade de resíduo em mg. A determinação do volume do solvente de rinsagem a ser utilizado é muito importante para permitir a determinação dos contaminantes. Se utilizar volume elevado, a metodologia analítica poderá não ser capaz de detectar a presença dos contaminantes no solvente de lavagem, induzindo a conclusões errôneas, como a consideração que o método de limpeza foi eficaz (ANVISA, 2013).

2.6 METODOLOGIAS ANALÍTICAS

2.6.1 Cromatografia Líquida de Ultra Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (UPLC-MS/MS)

De acordo com Magalhães (s.d), a técnica de cromatografia permite a separação de componentes de uma mistura entre duas fases, a fase móvel e a fase estacionária, enquanto que a técnica de Espectrometria de Massas (EM) converte moléculas individuais em íons e analisa a abundância relativa destes íons. A análise é feita pela introdução da amostra pelo injetor na fase móvel, em seguida, ela passa pela coluna contendo a fase estacionária e, posteriormente, ocorre a ionização das moléculas. A principal vantagem de acoplar a cromatografia com a espectrometria é que o espectrômetro é um detector universal, ou seja, permite uma análise qualitativa inequívoca utilizando o espectro de massa (BUSTILLOS, s.d).

A espectrometria de massas por si só (MS) é capaz de fornecer informações sobre a massa de íons presentes na amostra, permitindo a identificação de compostos com base na comparação das massas medidas com aquelas de compostos conhecidos. No entanto, em ambientes complexos, como a validação de limpeza, onde diferentes resíduos podem coexistir, a MS/MS se destaca. A espectrometria de massas em Tandem (MS/MS) envolve a seleção de íons específicos para posterior fragmentação, produzindo íons secundários que podem fornecer informações mais detalhadas sobre a estrutura molecular dos compostos presentes. Isso aumenta a especificidade e a confiança na identificação, sendo particularmente útil quando se lida com matrizes complexas e a presença de múltiplos resíduos (JUNIOR, s.d).

A escolha da técnica UPLC-MS/MS para a validação de limpeza é recomendada por sua sensibilidade, especificidade e habilidade de lidar com matrizes complexas. Ou seja, oferece informações detalhadas sobre os resíduos presentes nos equipamentos de fabricação o que é crucial no quesito controle de qualidade (PINTO, 2022).

A cromatografia acoplada ao Espectrômetro de massas é a UPLC (*Ultra Performance Liquid Chromatography*). O UPLC é uma evolução do HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Eficiência), projetado para oferecer maior eficiência, velocidade e resolução em análises cromatográficas. O uso de partículas de enchimento menores e a operação em pressões mais elevadas são características distintas do UPLC em comparação com o HPLC, proporcionando benefícios significativos em termos de desempenho analítico (MODUM TECH, 2022).

Além da Espectrometria de massas, pode-se utilizar outras técnicas na validação de limpeza, tais como a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e a Espectrofotometria Ultravioleta-Visível (UV-vis), que serão apresentadas abaixo:

Figura 4 – Cromatografia de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas (UPLC-MSMS).



Fonte: Google imagens (2023).

2.6.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), em inglês, *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), é uma técnica utilizada para separar os componentes de uma amostra em duas fases diferentes: uma estacionária e outra móvel. A fase estacionária pode ser um sólido, um líquido retido em um sólido ou um gel, enquanto a fase móvel pode ser líquida ou gasosa. Seu objetivo é separar os constituintes de uma mistura para identificação, quantificação ou obtenção de substâncias puras para diversas finalidades. A CLAE ou HPLC é usada para separar compostos químicos em solução, exigindo a partição dos componentes da amostra entre a fase móvel e a fase estacionária. Esta técnica permite análises quantitativas de diversos compostos em várias amostras, com alta resolução e sensibilidade, desde que a fase móvel correta seja aplicada à fase estacionária apropriada (CSA, 2019).

Figura 5 – Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).



Fonte: Google imagens (2023).

2.6.3 Espectrofotometria Ultravioleta-Visível (UV-vis)

A Espectrofotometria UV-vis estuda como os materiais reagem à radiação eletromagnética nas regiões ultravioleta e visível. É usada para análises quantitativas de compostos orgânicos e inorgânicos por meio de medidas de transmitância ou absorbância. Quando os materiais absorvem essa radiação, os elétrons passam para um estado excitado, formando grupos cromóforos que determinam os comprimentos de onda absorvidos. Devido a sobreposições nas faixas de absorção, é frequentemente combinada com outras técnicas, como ressonância magnética nuclear e infravermelho, para caracterização mais precisa. Os espectros são obtidos com espectrofotômetros que utilizam uma fonte de energia radiante, um seletor de comprimento de onda, um recipiente para a amostra, um detector de radiação e uma unidade de processamento. A escolha do solvente é crucial para evitar interferências. A Lei de Beer-Lambert descreve como a absorbância varia com a concentração, o caminho óptico e a absorvidade molar. Os espectros geralmente mostram uma banda larga de absorção centrada no comprimento de onda da transição principal. Bancos de dados online, como NIST e PubChem, fornecem informações para comparação de resultados. Apesar das limitações, a Espectrofotometria UV-vis complementa outras técnicas, fornecendo informações detalhadas sobre um composto (CSA,2020).

Figura 6 – Espectrofotometria de ultravioleta-visível (UV-vis).



Fonte: Google imagens (2023).

3 METODOLOGIA

Neste trabalho optou-se pelo desenvolvimento em forma de pesquisa bibliográfica exploratória. Nesse tipo de pesquisa buscamos analisar as teorias principais sobre o tema com diferentes finalidades (CHIARA *et al.*, 2008). Este trabalho tem como intuito aprimorar o conhecimento sobre as teorias de validação de limpeza no âmbito da indústria farmacêutica, bem como analisar e explicar o tema investigado. Para isso, realizou-se uma ampla análise de referenciais teóricos, dentre eles trabalhos acadêmicos, livros e publicações de referência, assim como as definições de cada ferramenta e norma apresentada, abrangeu as principais normas/legislações vigentes sobre a validação de limpeza, sendo elas a RDC 17 (Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos), Guia de Validação de Limpeza para Farmoquímicas da ANVISA (documento direcionado a farmacêuticas que tem como objetivo a melhor orientação a respeito dos procedimentos de validação de limpeza), artigos científicos publicados (pesquisados na internet com auxílio do Google Acadêmico), trazendo uma abordagem qualitativa, estabelecendo a análise de finalidade, o entendimento do tema proposto e seu objetivo. Sendo assim, apontando os pontos positivos da validação de limpeza visando discutir a respeito das metodologias analíticas, tanto da parte experimental (amostragem), quanto da parte do mecanismo da análise (equipamento UPLC-MS/MS) e por fim, tratando a importância da validação na indústria. Os artigos escolhidos para análise foram publicados entre o período de 2006 a 2023.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na indústria farmacêutica, a validação de limpeza desempenha um papel crucial na garantia da segurança e qualidade dos medicamentos produzidos, uma vez que a contaminação cruzada pode levar a efeitos farmacológicos indesejados nos produtos. A implementação de diretrizes como a RDC 301/2019 da ANVISA visa minimizar o risco de contaminação cruzada, destacando a importância da validação de limpeza no setor.

Para assegurar a eficácia da validação de limpeza, é crucial desenvolver protocolos detalhados que abranjam todas as etapas do processo de limpeza, desde o procedimento de limpeza propriamente dito até a análise dos resultados. A escolha de metodologias adequadas, como o uso de *swab* e rinsagem, aliada a técnicas analíticas avançadas, como a UPLC-MS/MS, desempenha um papel fundamental na determinação da eficácia do processo de limpeza e na identificação de quaisquer resíduos que possam comprometer a qualidade dos produtos farmacêuticos.

A compreensão e implementação adequada dos parâmetros de validação de métodos analíticos são essenciais para garantir a precisão, confiabilidade e consistência dos resultados analíticos, promovendo a conformidade com as normas regulatórias e a segurança dos consumidores.

4.1 AMOSTRAGEM E PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS – VANTAGENS, DESVANTAGENS E DIFERENÇAS

A partir das pesquisas e estudos, pode-se compreender alguns dos materiais utilizados na validação de limpeza. Foram apresentados os métodos de amostragens (*swab* e rinsagem), foi possível apontar a metodologia da própria validação de limpeza, dentre o processo de validar, limpar e documentar e foi possível expor a respeito do espectrômetro de massas (capaz de detectar, identificar e quantificar moléculas de interesse).

As boas práticas de laboratório impõem que todo processo de produção de medicamentos deve ser documentado e, para isso, são feitas as validações e as qualificações. Um processo de limpeza bem elaborado e feito de maneira correta evita a contaminação cruzada

dentro da Indústria Química, uma vez que a contaminação cruzada faz com que os medicamentos sofram mudança farmacológica (ARAÚJO, 2014).

O *swab* é usado para coletar microrganismos e resíduos de superfícies, enquanto a rinsagem é utilizada para concentrar e coletar substâncias dissolvidas em líquidos ou partículas em suspensão. Ambas as técnicas desempenham um papel fundamental na análise e no controle de qualidade em diversas áreas da ciência e da indústria. De acordo com ANVISA (2013), o método de amostragem direta da superfície, chamado amostragem por *swab*, possui as seguintes vantagens e desvantagens:

Quadro 1 – Amostragem direta da superfície, *swab* – vantagens e desvantagens.

<i>SWAB</i>	
Vantagens	Desvantagens
<ul style="list-style-type: none"> • Resíduos secos e insolúveis podem ser retirados; • Permite o estabelecimento do nível de contaminação por área, estabelecendo onde o procedimento precisa ser melhorado e se realmente os pontos críticos correspondem às expectativas; • Permite a recuperação do contaminante a partir de áreas onde a água de rinsagem teve contato deficiente. 	<ul style="list-style-type: none"> • A área a ser amostrada deve permitir livre acesso ao operador, o que é impraticável em muitos equipamentos; • O solvente e o material do <i>swab</i> não devem ser fonte de contaminação adicional ou interferirem na metodologia analítica; • A porcentagem de recuperação do ativo por parte do <i>swab</i> deve ser estabelecida utilizando um estudo de recuperação que mimetiza exatamente o procedimento utilizado na prática (mesmo <i>swab</i>, placa com o mesmo tipo de aço do equipamento, definição da área); • Possível interferência do material de construção do <i>swab</i> deve ser avaliada durante o estudo de validação da metodologia analítica.

Fonte: ANVISA (2013).

Já o método de amostragem indireta da superfície, chamada amostragem por rinsagem, possui as seguintes vantagens e desvantagens (ANVISA, 2013):

Quadro 2 – Amostragem indireta da superfície, rinsagem – vantagens e desvantagens.

RINSAGEM	
Vantagens	Desvantagens
<ul style="list-style-type: none"> • Permite a amostragem de grandes áreas; • Permite a amostragem de áreas de difícil acesso como bicos de envase, tubulações e pequenas peças. 	<ul style="list-style-type: none"> • Causa a diluição do contaminante, o que às vezes compromete ou impossibilita o desempenho da metodologia analítica; • O contaminante pode não ser solúvel no solvente utilizado; • O contaminante pode estar ocluído ou aderido em alguma superfície, de modo que a simples rinsagem não é capaz de retirá-lo; • A metodologia analítica utilizada deve ser específica para o contaminante, métodos não específicos como a adoção do critério farmacopeico para a água utilizada na rinsagem não são aceitáveis; • Em alguns casos, como por exemplo, com bicos de envase, as primeiras porções extraídas sempre serão as mais contaminadas, portanto a uniformização com todo o conteúdo deve ser feita.

Fonte: ANVISA (2013).

A escolha do método de amostragem está relacionada às superfícies que serão amostradas, após as pesquisas pode-se inferir que o *swab* é um método eficaz para coletar amostras em pontos específicos e podem ser utilizados em áreas críticas. Por outro lado, a rinsagem, quando escolhida, é usada como parte integrante da validação de limpeza, e como o próprio sinônimo informa, enxágue significa lavar, não sendo necessário um consumível para realizá-la. Em alguns casos, *swab* e rinsagem podem ser usados de maneira complementar. Por exemplo, após a aplicação de um *swab* para coleta de amostras, uma rinsagem pode ser realizada para garantir uma limpeza mais completa.

4.2 A ESPECTROMETRIA DE MASSAS ACOPLADA À CROMATOGRRAFIA E SUAS VANTAGENS UTILIZANDO-A PARA VALIDAÇÃO DE LIMPEZA

As vantagens do uso de espectrômetros de massa como detectores de cromatografia, incluem: detector universal, possibilidade de confirmação de identidade (análise qualitativa inequívoca utilizando o espectro de massa), possibilidade de identificação de compostos mesmo sem o uso de padrões, capacidade de quantificar sem falsos positivos, realiza a deconvolução de picos não separados (utilizando as massas/cargas), elimina interferentes de matriz e co-eluições (no caso de MS/MS – triplo quadrupolos), aumenta a sensibilidade e seletividade do método e calcula a pureza de sinal cromatográfico (PINTO, 2022).

O processo da validação de limpeza segue uma ordem para sua boa execução, onde primeiro, escolhe-se o ativo mais crítico (de acordo com sua toxicidade, solubilidade em água, classe terapêutica, atividade farmacológica do produto anterior, produtos de degradação, dificuldade de limpeza, se é um produto controlado, entre outros tópicos), depois iniciam-se os testes de recuperação onde o método analítico deve ser desafiado em combinação com o método de amostragem, ou seja, precisa-se comprovar que o contaminante pode ser recuperado da superfície do equipamento (BIDOIA, 2014).

Dito que a determinação do limite de aceitação é a concentração máxima permitida de resíduos de produtos anteriores em equipamentos para que possa passar para o lote seguinte, ou seja, depois que ocorrer a limpeza de certo equipamento, poderá seguir para o próximo lote sem que haja um nível prejudicial de contaminação. De acordo com o FDA e a ANVISA, qualquer princípio ativo pode estar presente no produto subsequente num nível máximo de 10 ppm (BIDOIA, 2014).

4.2.1 A Espectrometria de massas e a Cromatografia líquida

O espectrômetro de massas (EM) e a cromatografia líquida (CL) são duas técnicas analíticas distintas, mas frequentemente utilizadas em conjunto para análise química. A espectrometria de massas é uma técnica que mede a massa de íons para identificar e quantificar compostos químicos. Ela envolve a ionização de moléculas para gerar íons, seguido pela separação e detecção desses íons com base em suas massas. As amostras são vaporizadas e ionizadas, e os íons resultantes são acelerados através de um campo elétrico em direção a um analisador de massa. O analisador de massa separa os íons com base em sua razão carga/massa, permitindo a identificação dos compostos pela sua assinatura de massa (ANALYTICA, 2020).

A cromatografia líquida é uma técnica de separação que utiliza uma fase estacionária e uma fase móvel para separar os componentes de uma mistura. A fase estacionária pode ser sólida ou líquida, enquanto a fase móvel é um líquido. As amostras são introduzidas na fase móvel e passam pela fase estacionária. Os componentes da amostra interagem de maneira diferente com a fase estacionária, resultando em diferentes taxas de movimento. Isso leva à separação dos componentes da amostra ao longo do tempo (NOVAIS, s.d).

Em muitas análises, a cromatografia líquida é frequentemente usada como uma etapa de preparação para o espectrômetro de massas. Após a separação dos componentes pela cromatografia, a amostra é introduzida no espectrômetro de massas para a identificação

específica dos compostos. Pode-se dizer que a cromatografia, acoplada à espectrometria de massas é mais adequada para se utilizar na validação de limpeza por ser uma técnica mais completa, onde sozinha, abrange os resultados.

4.2.2 A Espectrometria de massas e a Espectrofotometria Ultravioleta-Visível (UV-vis)

O espectrômetro de massas se concentra na medida da massa de íons para identificação e quantificação de compostos. Já a espectrofotometria UV-vis se baseia na absorção de luz por compostos em uma faixa específica do espectro eletromagnético para determinar a concentração (SARAN, s.d).

Essas técnicas podem ser usadas de maneira complementar em análises. Por exemplo, amostras separadas por cromatografia líquida podem ser analisadas por espectrômetro de massas para identificação precisa dos componentes, enquanto a espectrofotometria UV-vis pode ser utilizada para quantificar a concentração de um composto específico (UFJF, 2016).

Em resumo, o espectrômetro de massas e a espectrofotometria UV-vis são técnicas distintas que servem a propósitos diferentes, mas podem ser utilizadas em conjunto para abordagens analíticas mais abrangentes (UFJF, 2016).

4.2.3 A relação entre UPLC-MS/MS e a validação de limpeza

O uso do UPLC-MS/MS (espectrômetro de massas acoplado à cromatografia) é uma técnica com vantagens quando se trata de validação de limpeza, pois é uma técnica altamente sensível e específica, ou seja, ela pode detectar e quantificar traços muito pequenos de resíduos de produtos farmacêuticos. Ela permite uma identificação mais precisa dos resíduos, pois fornece informações sobre a massa molecular e a estrutura do composto. Isso é útil quando se tem que lidar com misturas complexas e as outras técnicas citadas neste trabalho não possuem tamanha função. A técnica de MS/MS permite a utilização de múltiplas reações de monitoramento (MRM), o que melhora a seletividade da análise. Isso significa que monitora várias transições específicas de íons para aumentar a confiança na identificação dos compostos. Muitas agências regulatórias, como a FDA (Administração de Alimentos e Medicamentos dos EUA), recomendam ou exigem o uso de técnicas sensíveis e específicas, como UPLC-MS/MS, na validação de limpeza para garantir a segurança e qualidade dos produtos farmacêuticos.

5 CONCLUSÃO

É imprescindível que as indústrias farmacêuticas se atentem à implementação rigorosa de procedimentos padronizados e à adoção de tecnologias avançadas para a validação de limpeza, a fim de garantir a segurança e eficácia dos produtos finais e, conseqüentemente, proteger a saúde dos consumidores. A constante atualização e o cumprimento das regulamentações vigentes são essenciais para manter a qualidade e a integridade dos processos na indústria farmacêutica.

A realização desta pesquisa permitiu uma abordagem das metodologias de validação de limpeza dentro do contexto da indústria farmacêutica, com foco específico nas técnicas de *swab* e rinsagem. A discussão em torno dessas abordagens revelou suas vantagens e limitações, fornecendo uma compreensão dos desafios práticos e teóricos associados à garantia da segurança e eficácia dos produtos farmacêuticos. Além disso, o estudo da metodologia analítica de UPLC-MS/MS destacou sua crescente importância na validação de limpeza e permitiu uma comparação com outras técnicas frequentemente empregadas para o mesmo propósito. A técnica UPLC-MS/MS é escolhida para a validação de limpeza devido à sua sensibilidade, especificidade, capacidade de lidar com matrizes complexas e sua capacidade de fornecer informações detalhadas sobre os resíduos presentes nos equipamentos de fabricação. Isso é crucial para garantir a conformidade regulatória e a segurança dos produtos finais.

A abordagem e discussão sobre a validação de limpeza e sua relevância na indústria farmacêutica destacam a importância crítica de garantir a qualidade e a segurança dos produtos. Esta validação desempenha um papel fundamental na prevenção de contaminações, assegurando assim a excelência dos produtos finais. Dessa forma, os consumidores podem confiar na eficácia e segurança dos medicamentos, com a certeza de que os processos de fabricação foram cuidadosamente validados e mantidos em conformidade com os mais altos padrões regulatórios.

Em conclusão, este estudo abre caminho para a exploração de uma série de tópicos correlatos, incluindo a análise de situações específicas de contaminação cruzada, bem como a investigação da quantificação de elementos em produtos específicos. Essas áreas emergentes de pesquisa têm o potencial de ampliar ainda mais o entendimento sobre a importância da validação de limpeza na indústria farmacêutica e suas implicações diretas na segurança e na qualidade dos produtos farmacêuticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANALYTICA, 2020. **Cromatografia acoplada a espectrometria de massas**. Disponível em: <https://revistaanalytica.com.br/a-cromatografia-liquida-acoplada-a-espectrometria-de-massas-em-tandem-hplc-ms-ms>. Acesso em 26/04/2023.

ANVISA, 2013. **Validação de limpeza para farmoquímicas**. Disponível em: <https://crfms.org.br/upload/validacao-de-limpeza-para-farmoquimica.pdf>. Acesso em 11/03/2023.

ANVISA, 2018. Consolidação de normas de registro e notificação de fitoterápicos. Disponível em: https://fitoterapiabrasil.com.br/sites/default/files/legislacao/consolidado_fitoterapicos_2018.pdf. Acesso em 07/05/2023

ARAÚJO, Emiliane Rodrigues de. **Validação de metodologia analítica para determinação de residual de detergente alcalino**. 2014. 58 f. , 2014. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/124340>>. Acesso em 17/09/2023

BIDOIA, Fernanda de Oliveira, 2014. **Uso de amostragem por rinsagem na validação de limpeza**. Disponível em: <https://www.farmaceuticas.com.br/uso-de-rinsagem-na-validacao-de-limpeza>. Acesso em 07/05/2023.

BIDOIA, Fernanda de Oliveira, 2014. **11 passos para a execução da validação**. Disponível em: <https://www.farmaceuticas.com.br/11-passos-para-execucao-da-validacao-de-limpeza/>. Acesso em 17/09/2023.

BIDO, Fernanda. **O que se deve saber sobre a validação de limpeza**, 2020. Disponível em: <https://ictq.com.br/opiniao/1138-o-que-voce-deve-saber-sobre-a-validacao-de-limpeza-2f>. Acesso em 09/04/2023.

CONCEITOS BÁSICOS EM CROMATOGRAFIA LIQUIDA | HPLC. Disponível em: <https://csaeducacional.com.br/materias/conceitos-basicos-em-cromatografia-liquida-hplc#:~:text=A%20cromatografia%20L%C3%ADquida%20%2F%20HPLC%20%C3%A9,estacion%C3%A1ria%20e%20a%20outra%20m%C3%B3vel.&text=A%20fase%20estacion%C3%A1ria%20pode%20ser,um%20s%C3%B3lido%2C%20ou%20um%20gel.&text=A%20fase%20m%C3%B3vel%20pode%20ser%20l%C3%ADquida%20ou%20gasosa>. Acesso em 30/10/2023.

ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO MOLECULAR NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA E VISÍVEL | UV-VIS. Disponível em: <https://csaeducacional.com.br/materias/espectroscopia-de-absorcao-molecular-na-regiao-do-ultravioleta-e-visivel-uv-vis>. Acesso em: 30/10/2023

ESPECTROMETRIA DE MASSA. Disponível em: <https://multilab-uerj.com.br/metodos/espect.massa>. Acesso em 09/05/2023

FUNDAMENTOS DA ESPECTROFOTOMETRIA. Disponível em: <https://www2.ufjf.br/quimica/files/2016/08/Espectrometria-UV-vis.pdf>. Acesso em 15/11/2023

GUIA GARANTIA DA QUALIDADE, 2006. Disponível em: https://www.saude.gov.br/images/imagens_migradas/upload/arquivos/2012-07/guia-garantia-da-qualidade.pdf. Acesso em 26/04/2023.

INSTRUÇÕES PARA COLETA DE SWAB. Disponível em: https://www.ucs.br/site/midia/arquivos/instrucoes-coleta-envio-amostras-swab_3.pdf. Acesso em 14/11/2023

JÚNIO, João Luiz Bronzel Junior. Espectrometria de massas. Disponível em: <https://www.iq.unesp.br/#!/multiusuarios/espectrometria-de-massas-novo1657espectrometria-de-massas/> Acesso em 15/11/2023

MAGALHÃES, Professora Lana de Biologia. Cromatografia. Disponível em: <https://www.todamateria.com.br/cromatografia>. Acesso em 26/04/2023

Material suplementar, **Validação de método espectrofotométrico de análise para a quantificação de ácido acetilsalicílico em formulações farmacêuticas: uma proposta de aula experimental para análise instrumental.** Disponível em: <https://minio.scielo.br/documentstore/16787064/Kk7PvRdtqx75PbgQqKYj7XJ/9249eb8035a922181317660d5855196d2c77ed41.pdf>. Acesso em 12/11/2023

NOVAIS, Stéfano Araújo. "Cromatografia"; Brasil Escola. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/quimica/cromatografia.htm>. Acesso em 15/11/2023

PINTO, Glaucia Maria, 2022. **Quais as vantagens de utilizar o detector de espectrometria de massas acoplado à cromatografia líquida ou gasosa?** Disponível em: <https://cromvallab.com/2022/01/10/quais-as-vantagens-de-utilizar-o-detector-de-espectrometria-de-massas-acoplado-a-cromatografia-liquida-ou-gasosa/> Acesso em 17/09/2023

PROCEDIMENTO DE AMOSTRAGEM COM SWAB PARA VALIDAÇÃO DE LIMPEZA, 2020. Disponível em: <https://cmscientifica.com.br/procedimento-de-amostragem-com-swab-para-validacao-de-limpeza>. Acesso em: 26/04/2023.

RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 166, DE 24 DE JULHO DE 2017. Disponível em: https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401. Acesso em 30/10/2023.

SARAN, Luciana Maria. Fundamentos de Espectroscopia molecular UV-visível. Disponível em: <https://www.fcav.unesp.br/Home/departamentos/tecnologia/LUCIANAMARIASARAN/fundamentos-de-espectrofotometria-uv-visivel-2012.pdf>. Acesso em 15/11/2023

Seleção da técnica HPLC ou UHPLC: vantagens e desvantagens relacionadas às aplicações. Disponível em: <https://modumtech.com.br/selecao-tecnica-hplc-uhplc-vantagens-desvantagens/#:~:text=A%20fundamenta%C3%A7%C3%A3o%20do%20UHPLC%20%C3%A9,diminuindo%20o%20tempo%20de%20an%C3%A1lise>. Acesso em 15/11/2023

SILVA, 2014. **Estudo Geral.** Disponível em: https://estudogeral.uc.pt/bitstream/10316/79672/1/R_IF%20joao%20silva.pdf. Acesso em 09/04/2023.

Swabs para validação de limpeza em ambientes de sala limpa. Disponível em: <https://axiosbrasil.com.br/swabs-para-validacao-de-limpeza-em-ambientes-de-salalimpa/>
Acesso em 12/11/2023

TAVARES, Andressa Santos; et.al. **A Importância da Validação de Limpeza na Indústria Farmacêutica: Revisão de Literatura.** Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento. Ano 03, Ed. 01, Vol. 02, pp. 85-100, Janeiro de 2018. ISSN: 2448-0959. Acesso em 09/04/2023.

VALIDAÇÃO DE LIMPEZA DESAFIOS E IMPORTÂNCIAS, 2020. Disponível em: <https://revistaanalytica.com.br/validacao-de-limpeza-desafios-e-importancia>. Acesso em 10/05/2023.

VALIDATION OF CLEANING PROCESSES, 2014. Disponível em: <https://www.fda.gov/inspections-compliance-enforcement-and-criminal-investigations/inspection-guides/validation-cleaning-processes-793>. Acesso 07/05/2023.