UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Soluções Parenterais de Grande Volume: avaliação da estabilidade
da solução e qualidade física e química da embalagem primária**

Ana Claudia Zampronio Bassi

Ribeirão Preto

2012

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Soluções Parenterais de Grande Volume: avaliação da estabilidade da solução
e qualidade física e química da embalagem primária**

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas para obtenção do título de
Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Medicamentos e
Cosméticos.

Orientada: Ana Claudia Zampronio Bassi

Orientador: Prof. Dr. Osvaldo de Freitas

*Versão corrigida da **Dissertação de Mestrado** apresentada ao Programa de Pós-Graduação em **Ciências Farmacêuticas** em 04/05/2012. A versão original encontra-se disponível na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP*.

Ribeirão Preto

2012

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Bassi, Ana Claudia Zampronio

Soluções Parenterais de Grande Volume: avaliação da estabilidade da solução e qualidade física e química da embalagem primária. Ribeirão Preto, 2012.
141p.; 30cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientador: Freitas, Osvaldo de.

1. Soluções Parenterais de Grande Volume. 2. Estabilidade. 3. Embalagem Primária.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Ana Claudia Zampronio Bassi

Soluções Parenterais de Grande Volume: avaliação da estabilidade da solução e qualidade física e química da embalagem primária.

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Mestre em Ciências

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientador: Prof. Dr. Osvaldo de Freitas.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

*Aos meus pais, Ana Maria e Clarindo, pelo
carinho, confiança e apoio nas decisões em
todos os momentos de minha vida.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, que através da fé me proporcionou coragem para realização desse trabalho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Osvaldo de Freitas, pelo apoio e por partilhar de seus conhecimentos para concretização deste trabalho.

À minha irmã Ana Karolina, pela amizade, carinho, amor e diretamente na orientação que tornou possível a conclusão deste trabalho.

Ao meu namorado Alexandre, pelo companheirismo, amor, compreensão e por todos os momentos compartilhados juntos, sempre com paciência e com palavras de incentivo.

Aos meus avós e familiares, que, mesmo longe, sempre torceram por mim.

Aos amigos e colegas, em especial Thaís, Juliana, Drielle, João, Giovana, Dayane, Fernanda e Tozete que, com amizade e carinho diários, tornaram mais especiais todos esses anos de convivência.

A todos os amigos e colaboradores da JP Indústria Farmacêutica S.A., pela confiança, apoio e pelas amizades consolidadas e que contribuíram na realização deste trabalho.

Aos Laboratórios CETEA/Campinas e Laboratório de Bioengenharia da FMRP/USP, pela parceria e troca de conhecimentos, importantes para execução deste trabalho.

A todos os professores e funcionários da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

BASSI, A. C. Z. **Soluções Parenterais de Grande Volume: avaliação da estabilidade da solução e qualidade física e química da embalagem primária.** 2012. 141 f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

As Soluções Parenterais de Grande Volume (SPGV's) são definidas como solução estéril e apirogênica destinada à aplicação parenteral em dose única, na qual o plástico é o material de acondicionamento primário utilizado. O presente trabalho teve como objetivo avaliar as características físico-químicas e microbiológicas da solução fisiológica de cloreto de sódio 0,9% (m/v), bem como as propriedades químicas e físicas da embalagem primária. Foram utilizadas amostras de solução injetável de cloreto de sódio 0,9% m/v de 500 mL em diferentes apresentações comerciais e tipo de embalagem primária (Grupos A, B, C e D), após armazenamento em câmara climática. Foi realizada avaliação físico-química e microbiológica da solução contida nas diferentes embalagens, antes e após armazenamento de 90 e 180 dias em câmara climática, mantida a temperatura de 40°C e umidade relativa de 25% conforme estabelecido pela *International Conference on Harmonisation* (ICH) e 75%, conforme preconizado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Realizou-se a determinação dos ensaios químicos e físicos para a embalagem primária em contato com a solução. Além disso, foram avaliados os cuidados de conservação das SPGV's em instituições hospitalares. Verificou-se a influência da umidade relativa (UR) nas taxas de permeabilidade ao vapor de água, as quais foram estatisticamente significantes ($p < 0,05$) para todos os Grupos. Em todas as comparações, a perda de peso realizada a 25% de UR foi sempre maior que a 75% UR, sendo o Grupo B o que apresentou menor perda de peso comparado aos demais grupos. Foram encontrados volumes abaixo do especificado pela Farmacopéia Americana para o Grupo D em todos os tempos de armazenamento. Falhas de integridade e ruptura das embalagens primárias foram observadas nos Grupos C e D, o que propiciam vazamento da solução e permite a entrada de microorganismos. As propriedades de tração foram avaliadas e o Grupo A apresentou maior valor de ruptura e menor valor de alongamento, quando comparados aos Grupos C e D. Estes apresentaram diferença significativa entre si com relação à resistência máxima à tração, sendo o Grupo C o que apresentou maiores valores deste parâmetro. Os resultados mostram a influência e particularidade de cada tipo de embalagem para acondicionamento primário, além da importância da adequação do ambiente de estocagem do medicamento após a fabricação para que não ocorra o comprometimento da estabilidade e utilização das soluções parenterais.

Palavras-chave: 1. Soluções Parenterais de Grande Volume (SPGV's). 2. Estabilidade. 3. Embalagem primária.

ABSTRACT

BASSI, A. C. Z. **Large Volume Parenteral Solutions: evaluation of the stability of the solution and physical and chemical quality of the primary packing.** 2012. 141 f. Dissertation (Master). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

The Large Volume Parenteral Solutions (LVP's) are defined as an apyrogenic and sterile solution used in a single dosage in parenteral application, in which the plastic is the primary packaging material used. This study aimed to evaluate physical-chemical and microbiological characteristics of physiological sodium chloride solution 0,0% m/v, as well as the chemical and physical properties of the primary packaging material. In this work, samples of sodium chloride solution injection of 0,9% m/v of 500 mL in many different commercial primary packing (Groups A, B, C and D) were used, after being stored in a climatic chamber. An evaluation of the physical-chemical and microbiological characteristics of the solution was performed by storing the different packages in a climatic chamber during the period of 0, 90 and 180 days, under conditions of 40°C of temperature and 75% of humidity, as established by the *International Conference on Harmonisation* (ICH) and 25% RH, according to the specific legislation of the Health Surveillance Agency (ANVISA). An assessment was carried out to determine the chemical and physical tests for the primary packaging in contact with the solution. In addition, was evaluated the conservation of care in hospitals LVP's. The results confirmed the influence of relative humidity (RH) in the rate of permeability to water vapor, which was statistically significant ($p < 0,05$) for all groups. In all comparisons, the weight loss performed at 25% RH was always higher than 75% RH, and Group B showed the lowest weight loss compared to other groups. Group D presented results for volume that are different from the specification of United States Pharmacopoeia, at all storage times. Integrity failures and rupture of the primary packages were observed in Groups C and D, which provide leakage of the solution and allows entry of microorganisms. The tensile properties were evaluated and Group A showed higher breakdown and lower elongation as compared to Groups C and D. These Groups presented significant difference between them related to maximum tensile strength and Group C showed the highest values of this parameter. The evaluation results show the influence and particularity of each packing type and also showed the importance of an adequate product storage environment after manufacturing so the use and stability of the parenteral solutions is not jeopardized.

Keywords: 1. Large Parenteral Solution. 2. Stability. 3. Primary Packaging.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Estrutura química básica do polipropileno.....	12
Figura 2.	Estrutura química básica do copolímero de etileno/propileno, nas quais x e y representam o tamanho dos blocos de etileno e propileno, respectivamente	13
Figura 3.	Estrutura química básica do policloreto de vinila.....	13
Figura 4.	Visão geral do processo <i>blow-fill-seal</i>	17
Figura 5.	Máquina Universal de Ensaio utilizada para realização dos ensaios físicos.....	43
Figura 6.	Ilustração das conexões presentes nas embalagens para acondicionamento de soluções parenterais em sistema fechado.....	44
Figura 7.	Aparato utilizado nos ensaios físicos para recipientes plásticos	45
Figura 8.	Representação gráfica da curva padrão de sódio, obtida por fotometria de chama.....	83
Figura 9.	Espectro de absorção padrão de polivinilcloreto na região do infravermelho (<i>KnowItAll-U[®]</i>).....	97
Figura 10.	Espectro de absorção da amostra do Grupo A na região do infravermelho.....	98
Figura 11.	Espectro de absorção padrão de polietileno na região do infravermelho (<i>KnowItAll-U[®]</i>).....	98
Figura 12.	Espectro de absorção da amostra do Grupo B na região do infravermelho.....	99
Figura 13.	Espectro de absorção padrão de polipropileno na região do infravermelho (<i>KnowItAll-U[®]</i>).....	99
Figura 14.	Espectro de absorção da amostra do Grupo C na região do infravermelho.....	100
Figura 15.	Espectro de absorção da amostra do Grupo D na região do infravermelho.....	100
Figura 16.	Representação gráfica da curva analítica da solução padrão de cloreto de vinila obtida em cromatógrafo gasoso	110
Figura 17.	Cromatograma obtido com a análise do branco n,n'-dimetilacetamida (DMA)	110
Figura 18.	Cromatograma obtido com a análise da solução padrão de cloreto de vinila diluída.....	111
Figura 19.	Cromatograma representativo do Grupo A para determinação de cloreto de vinila	112

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Propriedades dos polímeros mais utilizados em recipientes para acondicionamento primário de produtos farmacêuticos	10
Tabela 2.	Confirmação da sensibilidade do LAL (λ) no Tempo 0	37
Tabela 3.	Confirmação da sensibilidade do LAL (λ) no Tempo 180 dias	38
Tabela 4.	Parâmetros instrumentais do equipamento ICP-MS	59
Tabela 5.	Demonstração do volume de solução padrão de cloreto de vinila e das concentrações dos padrões	65
Tabela 6.	Tipos de material de acondicionamento, com as respectivas datas de validade	73
Tabela 7.	Resultados da avaliação dos rótulos constante na embalagem primária	74
Tabela 8.	Avaliação do pH dos Grupos A, B, C e D realizados a 40°C/75% UR (ANVISA) e 40°C/25% UR (ICH).	75
Tabela 9.	Comparação entre o comportamento do pH dos Grupos A, B, C e D nos diferentes tempos de armazenamento com relação à exposição de 40°C/25% UR (ICH) e 40°C/75% UR (ANVISA)	76
Tabela 10.	Avaliação do Volume (mL) dos Grupos A, B, C e D realizados a 40°C/75% UR (ANVISA) e 40°C/25% UR (ICH).	77
Tabela 11.	Comparação entre o comportamento do volume (mL) dos Grupos A, B, C e D nos diferentes tempos de armazenamento com relação à exposição de 40°C/25% UR (ICH) e 40°C/75% UR (ANVISA)	78
Tabela 12.	Avaliação da quantidade de partículas com tamanhos de 10 μ m e 25 μ m para os Grupos A, B, C e D nos tempos de armazenamento de 0, 3 e 6 meses	79
Tabela 13.	Avaliação do Peso (g) e as respectivas porcentagens de perda para os Grupos A, B, C e D realizados a 40°C/75% UR (ANVISA) e 40°C/25% UR (ICH)	80
Tabela 14.	Comparação entre o comportamento do Peso (g) para os Grupos A, B, C e D nos diferentes tempos de armazenamento com relação à exposição de 40°C/25% UR (ICH) e 40°C/75% UR (ANVISA)	81
Tabela 15.	Valores obtidos da leitura da curva padrão do método de fotometria de chama proposto para o teor de sódio nas amostras de solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v)	82

Tabela 16.	Resultados do teor nas amostras de solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v).....	83
Tabela 17.	Resultados da avaliação da exatidão do método para teor de sódio em amostras de solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v) por fotometria de chama.....	84
Tabela 18.	Teste de robustez do método de teor de sódio ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) em amostras de solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v) com relação ao tempo de agitação da amostra diluída	84
Tabela 19.	Teste de robustez do método de teor de sódio ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) em amostras de solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v) com relação à temperatura da amostra.....	85
Tabela 20.	Avaliação do teor de cloreto de sódio (%) para os Grupos A, B, C e D realizados a 40°C/75% UR (ANVISA) e 40°C/25% UR (ICH)	86
Tabela 21.	Comparação entre o comportamento do teor de cloreto de sódio (%) para os Grupos A, B, C e D nos diferentes tempos de armazenamento com relação à exposição de 40°C/25% UR (ICH) e 40°C/75% UR (ANVISA)	87
Tabela 22.	Avaliação do ensaio de esterilidade para os Grupos A, B, C e D	88
Tabela 23.	Determinação da espessura (mm) das embalagens primárias dos Grupos A, B, C e D.....	90
Tabela 24.	Polímeros que compõem o invólucro protetor das embalagens e as respectivas espessuras (mm).....	90
Tabela 25.	Avaliação da presença de vazamento por meio do ensaio de Resistência à pressão após ciclo gela/degela para os Grupos A, B, C e D.....	91
Tabela 26.	Comparação entre os Grupos A, B, C e D para a avaliação da presença de vazamento por meio do ensaio de Resistência à pressão após ciclo gela/degela	91
Tabela 27.	Avaliação dos resultados de Força Máxima (N) necessária para penetração e retirada do equipo para os Grupos A, B, C e D	92
Tabela 28.	Comparação entre os Grupos A, B, C e D para o teste de força de penetração e retirada do equipo (N)	92
Tabela 29.	Avaliação da Força Máxima (N) necessária para introdução das agulhas com especificações de 0,6 mm x 25 mm e 1,20 mm x 40 mm para os Grupos A, B, C e D	93
Tabela 30.	Comparação entre os Grupos A, B, C e D para o teste de Força máxima (N) de Inserção das agulhas com especificações de 0,6 mm x 25 mm e 1,20 mm x 40 mm	94
Tabela 31.	Taxa permeabilidade ao vapor d'água expressa em (g água/embalagem.dia) e (%/ano) para os Grupos A, B, C e D	95

Tabela 32.	Comparação entre os Grupos A, B, C e D para a avaliação da Taxa permeabilidade ao vapor d'água expressa em (g água/embalagem.dia) e (%/ano) para os Grupos A, B, C e D	95
Tabela 33.	Propriedades de tração das amostras dos Grupos A, C e D	96
Tabela 34.	Avaliação do ensaio de acidez (mL) e alcalinidade (mL) das amostras dos Grupos A, B, C e D.....	102
Tabela 35.	Comparação entre os Grupos A, B, C e D para o teste de Acidez e Alcalinidade.....	102
Tabela 36.	Avaliação do ensaio de Absorbância (nm) para os Grupos A, B, C e D	103
Tabela 37.	Comparação entre os Grupos A, B, C e D para o ensaio de Absorbância (nm)	103
Tabela 38.	Avaliação do ensaio de Substâncias Redutoras (mL) para os Grupos A, B, C e D	104
Tabela 39.	Comparação entre os Grupos A, B, C e D para o ensaio de Substâncias Redutoras (mL)	104
Tabela 40.	Resultados do resíduo (%) obtido para a avaliação de Substâncias Solúveis em Hexano para os Grupos B, C e D	105
Tabela 41.	Comparação entre os Grupos B, C e D para o ensaio de Substâncias Solúveis em Hexano	105
Tabela 42.	Avaliação do ensaio de cinzas sulfatadas (%) para os Grupos A, B, C e D	106
Tabela 43.	Comparação entre os Grupos A, B, C e D para o ensaio de cinzas sulfatadas (%).....	106
Tabela 44.	Coeficientes angulares e coeficientes de correlação (R) das curvas analíticas para cada analito.....	107
Tabela 45.	Determinação dos ensaios de metais para o Grupo A	108
Tabela 46.	Determinação dos ensaios de metais ($\mu\text{g.L}^{-1}$) para os Grupos C e D.....	108
Tabela 47.	Comparação entre os Grupos C e D para o ensaio de metais em $\mu\text{g.L}^{-1}$	109
Tabela 48.	Avaliação da quantidade de plastificante DEHP para o Grupo A	112
Tabela 49.	Determinação do óleo de soja e linhaça epoxidados (mg) para o Grupo A	113
Tabela 50.	Avaliação do teor de policloreto de vinila (%) o Grupo A.....	114
Tabela 51.	Avaliação do aditivo plástico BHT (%) para os Grupos B, C e D	114
Tabela 52.	Comparação entre os Grupos B, C e D para o ensaio de BHT	115
Tabela 53.	Avaliação dos cuidados de conservação das SPGV's	116

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
BFS	<i>Blow Fill Seal</i>
BHT	Butilhidroxitolueno
CCD	Cromatografia em Camada Delgada
CPHD	Concentrado Polieletrólítico para Hemodiálise
DCB	Denominação Comum Brasileira
DEHP	Ftalato de di-(2-etilexila)
DIBP	Padrão interno diisobutil ftalato
DMA	Dimetilacetamida
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared Spectrophotometer</i>
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
ICH	<i>International Conference on Harmonisation</i>
ICP-MS	<i>Espectrômetro de massa com plasma acoplado indutivamente</i>
ISO	<i>International Standard Organization</i>
MDV	Máxima Diluição Válida
MG	Média Geométrica Logarítmica
MS	Ministério da Saúde
PEAD	Polietileno de Alta Densidade
PEBD	Polietileno de Baixa Densidade
PVC	Policloreto de Vinila
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
SPGV	Solução Parenteral de Grande Volume
TPVA	Taxa de Transmissão de vapor d'água
UR	Umidade Relativa
WFI	Água para Injetáveis

Resumo	i
Abstract	ii
Lista de Figuras	iii
Lista de Tabelas	iv
Lista de Abreviaturas e Siglas	vii
 1. INTRODUÇÃO	 1
 2. REVISÃO DE LITERATURA	 4
2.1 Soluções Parenterais de Grande Volume	4
2.1.1 Solução injetável de cloreto de sódio 0,9% m/v	6
2.2 Embalagens para acondicionamento de Soluções Parenterais de Grande Volume	6
2.2.1 Definição e classificação dos plásticos	8
2.2.2 Estrutura básica dos polímeros	9
2.2.3 Categoria dos plásticos	9
2.2.4 Polietileno	10
2.2.5 Polipropileno	12
2.2.6 Policloreto de vinila – PVC	13
2.3 Processo de fabricação das embalagens plásticas	14
2.3.1 Moldagem por extrusão	15
2.3.2 Moldagem por sopro	15
2.3.3 Moldagem por injeção	16
2.3.4 Processo <i>Blow Fill Seal</i> (BFS)	16
2.4 Características das embalagens plásticas	17
2.4.1 Propriedades físicas, químicas e de barreira	18
2.4.2 Aditivos plásticos	19
2.5 Estudos de Estabilidade	20
2.5.1 Zonas Climáticas	22
2.5.2 Estudo de Estabilidade acelerado	22
2.5.3 Legislações referentes aos Estudos de Estabilidade	23
2.5.4 Prazo de validade, armazenagem, bulas e rótulos	24
 3. OBJETIVOS	 25
3.1 Objetivo Geral	25
3.2 Objetivos Específicos	25
 4. MATERIAL E MÉTODOS	 26
4.1 Material	26
4.2 Métodos	26
4.2.1 Estudo I – Caracterização das soluções segundo métodos preconizados pela USP 33 e recomendações de armazenamento da ANVISA	26
4.2.1.1 Avaliação dos dizeres do rótulo constante na embalagem primária	27
4.2.1.2 Identificação qualitativa de íons sódio	28
4.2.1.3 Identificação qualitativa de íons cloreto	28
4.2.1.4 Determinação do pH	28
4.2.1.5 Determinação do Volume	28

4.2.1.6 Determinação e contagem de Partículas	29
4.2.1.6.1 Preparação das vidrarias e do equipamento	29
4.2.1.6.2 Procedimento	30
4.2.1.7 Ensaio-limite para Ferro	30
4.2.1.7.1 Preparação do padrão	30
4.2.1.7.2 Preparação da amostra	30
4.2.1.7.3 Procedimento	31
4.2.1.8 Ensaio-limite para Metais Pesados	31
4.2.1.8.1 Preparação do padrão	31
4.2.1.8.2 Preparação da amostra	31
4.2.1.8.3 Preparação do controle	31
4.2.1.8.4 Procedimento	32
4.2.1.9 Determinação de perda de peso	32
4.2.1.10 Determinação do teor	33
4.2.1.11 Determinação de contaminantes microbiológicos	34
4.2.1.11.1 Ensaio de esterilidade	34
4.2.1.11.2 Ensaio de endotoxinas bacterianas.....	36
4.2.2 Estudo II – Caracterização das soluções segundo recomendações de armazenamento da ICH.....	39
4.2.2.1 Determinação do pH.....	39
4.2.2.2 Determinação do Volume	39
4.2.2.3 Determinação de perda de peso	40
4.2.2.4 Determinação do teor.....	40
4.2.2.4.1 Validação do método	41
4.2.2.4.2 Procedimento para ensaio de teor por fotometria de chama.....	42
4.2.3 Estudo III – Ensaio físicos das embalagens para acondicionamento de soluções parenterais.....	43
4.2.3.1 Espessura da embalagem primária e envólucro protetor	44
4.2.3.2 Resistência à pressão após ciclo gela/degela.....	44
4.2.3.3 Capacidade de penetração do equipo.....	45
4.2.3.4 Força de adesão do equipo e impermeabilidade no ponto de inserção	46
4.2.3.5 Estanqueidade no ponto de injeção	46
4.2.3.6 Resistência à queda.....	47
4.2.3.7 Transparência	47
4.2.3.8 Alça de sustentação	48
4.2.3.9 Identificação	48
4.2.3.10 Permeabilidade ao vapor d'água ou Taxa de Transmissão de vapor d'água (TPVA)	49
4.2.3.11 Resistência à tração das embalagens flexíveis.....	50
4.2.4 Estudo IV – Ensaio químicos das embalagens para acondicionamento de soluções parenterais.....	50
4.2.4.1 Preparação das soluções	50
4.2.4.2 Ensaio de identificação.....	52
4.2.4.2.1 Ensaio de identificação por Espectrofotometria na região do infravermelho.....	52
4.2.4.2.2 Ensaio específico para identificação de polipropileno dos Grupos C e D.....	53
4.2.4.3 Aparência da solução.....	54
4.2.4.4 Acidez e alcalinidade.....	54
4.2.4.5 Absorbância	55
4.2.4.6 Substâncias redutoras.....	55

4.2.4.7 Substâncias solúveis em hexano	56
4.2.4.8 Metais Pesados extraíveis.....	57
4.2.4.8.1 Preparação da amostra	57
4.2.4.8.2 Preparação do padrão	57
4.2.4.8.3 Preparação do branco	58
4.2.4.8.4 Procedimento	58
4.2.4.8.5 Cinzas sulfatadas	58
4.2.4.8.6 Ensaio de metais	59
4.2.4.8.6.1 Preparação das amostras	60
4.2.4.8.6.2 Procedimento para determinação de metais do Grupo A.....	61
4.2.4.8.6.3 Procedimento para a determinação de metais dos Grupos C e D	62
4.2.4.8.6.4 Curva analítica	62
4.2.4.8.7 Ensaio de cloreto de vinila.....	63
4.2.4.8.7.1 Preparação das amostras	63
4.2.4.8.7.2 Preparação dos padrões para a curva analítica	63
4.2.4.8.8 Ensaio de quantificação do plastificante di-2-etilhexil ftalato e di-2-etilhexil adipato	65
4.2.4.8.9 Determinação de óleo de soja e linhaça epoxidados	66
4.2.4.8.9.1 Preparo das soluções padrão.....	66
4.2.4.8.9.2 Preparo da amostra.....	66
4.2.4.8.9.3 Procedimento	67
4.2.4.8.10 Ensaio de aminas aromáticas primárias.....	67
4.2.4.8.10.1 Preparação da amostra.....	67
4.2.4.8.10.2 Preparação do padrão.....	68
4.2.4.8.10.3 Procedimento	68
4.2.4.8.11 Ensaio de teor de policloreto de vinila.....	68
4.2.4.8.11.1 Preparação das amostras	68
4.2.4.8.12 Ensaio de substâncias extraíveis em água	69
4.2.4.8.13 Perfil de aditivos	70
4.2.5 Estudo V – Avaliação dos cuidados de conservação das SPGV's armazenadas nos serviços de saúde	71
4.2.6 Análise Estatística.....	71
5. RESULTADOS.....	73
5.1 Avaliação das soluções segundo as recomendações da ANVISA (40°C/75%UR) e ICH (40°C/25% UR).....	73
5.1.1 Avaliação dos dizeres do rótulo constante na embalagem primária	73
5.1.2 Identificação qualitativa de íons.....	75
5.1.3 Determinação do pH	75
5.1.4 Determinação do Volume	77
5.1.5 Determinação e contagem de Partículas.....	79
5.1.6 Determinação da perda de peso.....	80
5.1.7 Determinação do teor	82
5.1.7.1 Validação do método.....	82
5.1.7.2 Avaliação dos resultados.....	85
5.1.8 Determinação de contaminantes microbiológicos	88
5.1.8.1 Ensaio de esterilidade	88
5.1.8.2 Ensaio de endotoxinas bacterianas.....	89
5.2 Ensaios físicos das embalagens para acondicionamento de soluções parenterais.....	89

5.2.1 Espessura da embalagem primária e invólucro protetor	89
5.2.2 Resistência à pressão após ciclo gela/degela.....	90
5.2.3 Capacidade de penetração, força de adesão do equipo e impermeabilidade do ponto de inserção	92
5.2.4 Estanqueidade no ponto de injeção.....	93
5.2.5 Resistência à queda, transparência, alça de sustentação e identificação	94
5.2.6 Permeabilidade ao vapor d'água ou Taxa de Transmissão de vapor d'água.....	94
5.2.7 Resistência à tração para embalagens flexíveis.....	96
5.3 Ensaios químicos das embalagens para acondicionamento de soluções parenterais	97
5.3.1 Ensaios de identificação.....	97
5.3.1.1 Ensaio de identificação por Espectrofotometria na região do infravermelho.....	97
5.3.1.2 Ensaio de identificação específico para material plástico de polipropileno dos Grupos C e D.....	101
5.3.2 Aparência da solução	101
5.3.3 Acidez e alcalinidade	101
5.3.4 Absorbância.....	102
5.3.5 Substâncias redutoras	103
5.3.6 Substâncias solúveis em hexano.....	105
5.3.7 Metais Pesados extraíveis	106
5.3.8 Cinzas sulfatadas	106
5.3.9 Ensaio de metais	107
5.3.9.1 Determinação de metais do Grupo A	107
5.3.9.2 Determinação de metais dos Grupos C e D	108
5.3.10 Ensaio de cloreto de vinila.....	109
5.3.10.1 Curva analítica.....	109
5.3.10.2 Amostra	111
5.3.11 Ensaio de quantificação do plastificante di-2-etilhexil ftalato (DEHP) e di-2-etilhexil adipato.....	112
5.3.12 Determinação de óleo de soja e linhaça epoxidados.....	113
5.3.13 Ensaio de aminas aromáticas primárias	113
5.3.14 Ensaio de teor de policloreto de vinila	113
5.3.15 Ensaio de substâncias extraíveis em água.....	114
5.3.16 Perfil de aditivos	114
5.4 Avaliação dos cuidados de conservação e utilização das SPGV's nos serviços de saúde.....	115
6. DISCUSSÃO	118
6.1 Avaliação das soluções segundo as recomendações da ANVISA (40°C/75%UR) e ICH (40°C/25% UR).....	118
6.2 Ensaios físicos das embalagens para acondicionamento de soluções parenterais.....	124
6.3 Ensaios químicos das embalagens para acondicionamento de soluções parenterais	127
6.4 Avaliação dos cuidados de conservação e utilização das SPGV's nos serviços de saúde.....	134
7. CONCLUSÃO	135

8. REFERÊNCIAS.....	136
----------------------------	------------

1. INTRODUÇÃO

Produtos parenterais são definidos como formas de dosagem de agentes terapêuticos livres de microrganismos viáveis, administrados por método invasivo, injetável, através da pele, membranas mucosas ou em compartimentos internos do corpo (AVIS; LACKMAN; LEIBERMAN, 1992).

Soluções parenterais de grande volume (SPGV) são empregadas em terapia de manutenção nos períodos pré e pós-cirúrgicos, para pacientes inconscientes ou impossibilitados de absorver líquidos, eletrólitos e nutrientes por via oral e também podem ser utilizadas na terapia de reposição em pacientes que sofrem grande perda de líquidos e eletrólitos (ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2000).

Em geral, os medicamentos são compostos por várias substâncias químicas sujeitas a instabilidade física e química, além de possíveis reações entre elas. Este quadro pode ser agravado pelas condições de armazenagem e por interações com a embalagem. O material utilizado na embalagem dos medicamentos também está sujeito a mudanças causadas por influências climáticas. Portanto, a estabilidade do produto é dependente da relação entre os componentes da formulação, o material de embalagem e as condições ambientais. Assim em alguns casos, o período de validade pode ser dilatado pela seleção adequada do material de embalagem (GRIMM, 1986).

São frequentes os casos em que a delimitação dos vários fatores que afetam a estabilidade da formulação de medicamentos só é possível através da aplicação de métodos estatísticos como, por exemplo, a distinção entre o fechamento de um frasco plástico na área de fechamento e a permeação do solvente através da parede do material (GRIMM, 1986).

Além disso, o objetivo dos sistemas de acondicionamento e fechamento é conferir proteção ao produto contra oxigênio, umidade e microorganismos. Testes de integridade estabelecidos para produtos estéreis são necessários para assegurar a esterilidade e a manutenção dos atributos totais do produto de acordo com as especificações rotuladas e durante o prazo de validade (PINTO; KANEKO; PINTO, 2010).

A embalagem primária, em contato direto com o produto, deve ser considerada um dos elementos importantes no controle da contaminação. No caso de produtos estéreis como parenterais de grande volume, preparados em condição

asséptica, qualquer contaminante presente na embalagem torna-se crítico. Os plásticos empregados nestes produtos são produzidos por processos de moldagem a elevadas temperaturas, seguido de sopro com ar estéril, o qual confere a esterilidade do produto. A esterilidade pode ser mantida pelo fechamento automático inerente ao processo de moldagem ou através da operação de moldagem em ambiente controlado e subsequente embalagem estéril hermética (PINTO; KANEKO; PINTO, 2010).

A proliferação microbiana, no produto acabado, pode ser influenciada pelas condições de estocagem. Neste caso, deve-se considerar questões que incluem a manutenção da integridade do fechamento e o controle de temperatura durante o transporte e o armazenamento (PINTO; KANEKO; PINTO, 2010).

Os testes de estabilidade devem ser delineados para abranger as características susceptíveis a mudanças durante a estocagem e provavelmente influenciar a qualidade, a segurança e/ou eficácia, incluindo, conforme necessário, as características físicas, químicas e microbiológicas. A extensão dos estudos e as condições de estocagem devem ser suficientes para abranger o transporte, estocagem e subsequente uso (LUCISANO, 2003).

Métodos para acelerar a decomposição de fármacos, usando temperaturas elevadas, são aplicados para se prever a estabilidade, nas condições requeridas de estocagem. Para assegurar que uma formulação particular, quando embalada em recipiente específico, mantenha suas especificações físicas, químicas, microbiológicas, terapêuticas e toxicológicas durante a estocagem por um período de tempo específico, é necessário conduzir um programa rigoroso de estudo de estabilidade, sob condições específicas tais como temperatura, umidade, oxigênio e luminosidade (LUCISANO, 2003).

As interações entre a embalagem e o medicamento podem provocar efeitos adversos à saúde humana, modificações na disponibilidade do fármaco, alterando os níveis terapêuticos desejados, além de alterações no material da embalagem (MONTEIRO; GOTARDO, 2005).

Não deve haver qualquer interação entre o material de embalagem primária e o seu conteúdo capaz de alterar a concentração, a qualidade ou a pureza do material acondicionado (COMISSÃO FARMACOPÉIA ANVISA, 2010).

O acondicionamento de preparações injetáveis pode ser realizado em frasco, frasco-ampola ou bolsa. Os principais tipos de material de embalagem empregados

no acondicionamento de SPGV são o vidro e o plástico. O plástico é uma boa alternativa para este tipo de embalagem, sobretudo nas formas de frasco-ampola e bolsa, devido ao baixo custo e peso, flexibilidade, transparência, resistência mecânica e propriedades de barreira adequadas dependendo do tipo de material plástico empregado (MONTEIRO; GOTARDO, 2005).

Os polímeros termoplásticos freqüentemente empregados em embalagens de Soluções Parenterais de Grande Volume são: polietileno, polipropileno e policloreto de vinila (RIBEIRO; OLIVEIRA, 2009), nas formas de frasco-ampola ou bolsa (MONTEIRO; GOTARDO, 2005).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Soluções Parenterais de Grande Volume

Preparações parenterais são administradas por via invasiva através da pele, de outros tecidos ou de vasos sanguíneos, sendo a aplicação feita com o uso de injeção ou outro dispositivo, por meio de força da gravidade, bomba de infusão ou outra (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

As Soluções Parenterais de Grande Volume (SPGV) são considerados os medicamentos mais utilizados no sistema de saúde com a função de substituição de fluidos corporais, nutrição e como veículo para a administração de outros medicamentos (ISHII et al., 2007).

As SPGV's são preparadas em água para injetáveis - WFI (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010); estéreis e apirogênicas, destinadas à aplicação parenteral em dose única, cujo volume é de 100 mL ou superior (BRASIL, 2010).

No Brasil são utilizadas aproximadamente 150 milhões de unidades de SPGV/ano, das quais 80% são formulados com cloreto de sódio ou glicose (ISHII et al., 2007).

Soluções de Grande e Pequeno Volume, parenterais ou não; Concentrados Polieletrólíticos para Hemodiálise (CPHD); soluções para irrigação, diálise, enemas e expansores plasmáticos; nutrição parenteral; produtos para a prevenção da desidratação e para a manutenção da hidratação; opoterápicos isolados ou associados; medicamentos à base de fitofármaco ou associações; antiácidos isolados ou associação; medicamentos à base de vitaminas e/ou minerais de uso tópico ou injetável, entre outros, representam a classe de medicamentos específicos que não se enquadram nas categorias de medicamento novo, genérico, similar, biológico e fitoterápico. Para esta classe de medicamentos a Agência Nacional de Vigilância Sanitária estabeleceu a Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº. 24 (BRASIL, 2011).

O risco de infecção associado a produtos farmacêuticos está vinculado à via de administração, sendo maior para produtos introduzidos nas áreas estéreis do corpo. As mais sérias ocorrências de infecção são aquelas associadas a produtos

injetáveis contaminados, cujas conseqüências podem envolver choque, o qual pode levar o paciente a óbito (PINTO; KANEKO; PINTO, 2010).

Os sistemas de infusão intravenosa são classificados em abertos ou fechados. Os sistemas abertos incluem todas as embalagens que permitem o contato da solução estéril com o ambiente externo, seja no momento da abertura da embalagem, na adição de medicamentos ou na introdução dos dispositivos utilizados na administração da solução (GUIMARÃES, 2008). As embalagens em sistema aberto de infusão necessitam de ventilação externa ao ar ambiente para permitir a saída de líquido, aumentando o risco de contaminação extrínseca (ROSENTHAL; MAKI, 2004).

Os sistemas fechados possuem como principal característica impedir o contato da solução com o meio ambiente durante a administração (BRASIL, 2003), reduzindo o risco de infecções e reações pirogênicas (GUIMARÃES, 2008).

As infecções sistêmicas são as mais graves e estão relacionadas ao aumento da morbidade e mortalidade e, ainda, contribuem para o aumento do tempo de hospitalização dos pacientes e, conseqüentemente, dos custos (PEARSON, 1996).

Uma das principais vantagens do sistema de infusão fechado é a redução na probabilidade de ocorrência de infecções hospitalares, as quais representam um dos mais sérios riscos à saúde dos pacientes internados em hospitais (RIBEIRO; OLIVEIRA, 2009).

No Brasil, a obra “Boas Práticas de Utilização de Soluções Parenterais nos Serviços de Saúde” foi estabelecida pela RDC nº. 45 (BRASIL, 2003). Nesta resolução foi estabelecido que os produtos em sistema aberto poderiam ser fabricados até março de 2008. Durante este período, foi publicada a RDC nº. 29 de 17 de abril de 2007, que estabeleceu as regras para o registro, comercialização e substituição do sistema aberto de infusão. O prazo limite para a fabricação e uso dos sistemas abertos foi alterado pelas Resoluções RDC nº. 11, de 29 de fevereiro de 2008 e RDC nº. 14, de 12 de março de 2008, estabelecendo os prazos até 30 de novembro de 2008 para a produção, e até março de 2009 para que as instituições de saúde pudessem utilizar os produtos ainda em sistema aberto (GUIMARÃES, 2008).

2.1.1 Solução injetável de cloreto de sódio 0,9% m/v

Trata-se de uma solução estéril de cloreto de sódio em água para injetáveis, sem a presença de agentes antimicrobianos. A preparação contém não menos de 95,0 % e não mais que 105,0 % da quantidade indicada de cloreto de sódio (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

É utilizada no tratamento de depleção do volume extracelular, desidratação, depleção de sódio, o qual pode ocorrer após diurese excessiva, gastroenterites e restrição ao sal. A solução de cloreto de sódio 0,9% m/v é o veículo e diluente de escolha para a preparação de muitos medicamentos administradas via parenteral. A solução de cloreto de sódio 0,9% m/v é a que mais se aproxima da composição do líquido extracelular, apresentando na sua composição cátions (mais de 90% de sódio), que agem como repositor fisiológico deste íon com conseqüente retenção de água (MARTINDALE; REYNOLDS, 1996).

2.2 Embalagens para acondicionamento primário de Soluções Parenterais de Grande Volume

O material de acondicionamento primário é definido como o recipiente que contém o produto ou aquele que está em contato direto com o mesmo, incluindo-se o dispositivo de fechamento. Não devem interagir física ou quimicamente com o produto terminado ou interferir na potência e pureza. Além disso, devem ser limpos e adequadamente planejados para efetivamente proteger o produto (PINTO; KANEKO; PINTO, 2010). Devem possuir transparência que possibilite a inspeção visual do aspecto primário da preparação. As tampas, quando aplicável, tampouco podem influir na composição ou na conservação do medicamento, oferecendo perfeita vedação, mesmo após as perfurações (COMISSÃO FARMACOPÉIA ANVISA, 2010).

O campo das embalagens parenterais sofreu diversas alterações desde o advento da tecnologia da administração de medicamentos por via parenteral. No início, os medicamentos eram quase que exclusivamente embalados e administrados em vidro, devido sua disponibilidade e propriedades físicas, limpidez, resistência térmica, propriedades de barreira e pelo fato de serem quimicamente inertes. Com a necessidade de melhoramento de embalagens e o desenvolvimento

tecnológico de polímeros na década de 1950, houve a introdução do uso dos plásticos em substituição ao vidro (AVIS; LACKMAN; LEIBERMAN, 1992).

Durante a vida útil do produto, as embalagens destinadas ao acondicionamento de preparações para uso parenteral devem ser quimicamente inertes, em relação à preparação com a qual está em contato e evitar a permeação de material estranho, assim como a difusão de componentes através do recipiente e deste para a preparação (MONTEIRO; GOTARDO, 2005). O estudo da compatibilidade desses recipientes com o conteúdo que está em contato é necessário para o registro do medicamento (SARBACH et al., 1996).

Atualmente, recipientes plásticos são amplamente utilizados como embalagem primária de medicamentos, devido às vantagens destes em relação ao vidro como, entre outras, leveza e resistência a impactos, que diminuem os custos de transporte e as perdas por danos no recipiente, e versatilidade do desenho do recipiente (ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2000).

As embalagens plásticas possuem vantagens competitivas comparadas ao vidro, relacionadas à possibilidade de combinação de diferentes polímeros para obtenção de propriedades balanceadas, que atendam a requisitos econômicos, ambientais, de conservação e comercialização de produtos. Na fabricação de uma embalagem plástica, vários requisitos devem ser considerados na escolha dos polímeros, incluindo permeabilidade a gases, aromas e vapor d'água, temperatura de processamento ou de acondicionamento do produto acabado, temperatura de estocagem e de uso pelo consumidor, custo do material, custo do processo de transformação, processabilidade do polímero, rigidez, propriedades mecânicas, características de termossoldagem, resistência química, estabilidade dimensional, propriedades óticas, requisitos da Legislação e impacto ambiental (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

As especificações dos materiais de acondicionamento são planejadas de acordo com o produto a ser acondicionado, entre outras: a) mecânicas – dureza e flexibilidade; b) físicas – hermeticidade e permeabilidade e, c) químicas – atóxicos e compatíveis com o produto neles contidos (PINTO; KANEKO; PINTO, 2010).

Os plásticos podem conter resíduos do processo de polimerização, plastificantes, estabilizadores, antioxidantes, pigmentos e lubrificantes. Assim, a composição do plástico, processamento e procedimentos de limpeza, tratamento de superfície, meios de contato, corantes, adesivos, absorção e permeabilidade de

conservantes e condições do armazenamento, também podem afetar a adequação de um plástico para um uso específico (COMISSÃO FARMACOPÉIA ANVISA, 2010).

Embalagens plásticas flexíveis são aquelas na qual o formato depende da forma física do produto acondicionado e cuja espessura da parede seja inferior a 250 μm . A integridade da termossoldagem de embalagens flexíveis pode influir na vida útil dos produtos nelas acondicionados, uma vez que falhas no fechamento constituem-se em pontos de entrada de microorganismos, oxigênio e/ou umidade ou ainda para a perda de misturas gasosas e vapores orgânicos (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

A perda de vapores orgânicos pode comprometer o princípio ativo, levando à perda de sua função, como também contaminar o ambiente de estocagem (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Durante o armazenamento a longo prazo, o vapor d'água pode se difundir para fora da embalagem, resultando em alterações na concentração do fármaco. A permeação de gás pode ser minimizada pela vedação do recipiente plástico dentro de embalagens laminadas, o qual funcionam como uma espécie de camada de embalagem secundária para proteção. Tais materiais de embalagem secundária são normalmente compostas por várias camadas de polímeros como, por exemplo, poliéster, polipropileno ou polietileno, tintas, adesivos, bem como, possivelmente, monômeros não reagidos e oligômeros derivados de materiais adesivos (LIU et al., 2011).

Em muitos casos, o invólucro protetor também é usado para proteger as embalagens flexíveis durante o processo de esterilização em alta temperatura, melhorar as propriedades de barreira, prolongando a vida útil do produto (CLARK et al., 2006).

2.2.1 Definição e classificação dos plásticos

Plásticos são polímeros orgânicos de alto peso molecular, sintéticos ou derivados de compostos orgânicos naturais, os quais podem ser moldados, repetidamente, em formas apropriadas, normalmente pelo auxílio de calor e pressão (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Existem mais de 100 tipos diferentes de polímeros empregados na fabricação de embalagens plásticas, os quais podem ser classificados em duas categorias: polímeros termoplásticos e termorrígidos (RIBEIRO; OLIVEIRA, 2009).

Os termoplásticos amolecem quando aquecidos em altas temperaturas e solidificam por resfriamento. Os termorrígidos somente amolecem durante a fabricação de um artigo e solidificam permanentemente, entretanto não podem ser re-manufaturados por simples aquecimento. Para embalagens parenterais, polímeros termoplásticos são preferidos aos polímeros termorrígidos, devido à disponibilidade, reutilização e processabilidade (BERTAGNOLLI, 2008).

2.2.2 Estrutura básica dos polímeros

Os polímeros apresentam moléculas longas, cuja estrutura é formada pela repetição de pequenas unidades, denominadas monômeros. Além disso, os polímeros podem ser classificados em homopolímeros, compostos por unidades repetitivas de um único monômero, e heteropolímeros, compostos por unidades repetitivas de dois ou mais monômeros diferentes. As unidades que compõem os heteropolímeros são denominadas comonômeros e são conhecidos como copolímeros quando apresentam dois comonômeros. (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

A estrutura química das moléculas poliméricas determina as propriedades físicas, químicas e mecânicas, bem como a estabilidade térmica e a resistência ao envelhecimento (AVIS; LACKMAN; LEIBERMAN, 1992).

A utilidade de polímero e o tempo de vida útil como recipiente para acondicionamento de formulações parenterais aquosas podem ser fortemente influenciados pela interação do polímero com a solução (HAYWARD; JENK, 1990).

2.2.3 Categoria dos plásticos

Atualmente diferentes tipos de plásticos estão disponíveis no mercado, cada um deles adequado para determinada aplicação médica. Deste modo, é importante conhecer os requisitos da aplicação pretendida e relacionar com o plástico apropriado (AVIS; LACKMAN; LEIBERMAN, 1992).

Os plásticos mais utilizados como material de embalagem de SPGV são: polietileno na forma de frasco ampola, polipropileno, na forma de laminados, objetivando aumentar a propriedade de barreira e PVC na forma de bolsas flexíveis, com elevada quantidade de aditivos (MONTEIRO; GOTARDO, 2005).

Cada material plástico utilizado como embalagem primária de produtos farmacêuticos possui características específicas as quais estão sumarizadas na Tabela 1 (RIBEIRO; OLIVEIRA, 2009).

Tabela 1. Propriedades dos polímeros mais utilizados em recipientes para acondicionamento primário de produtos farmacêuticos.

Material	Características				
	Autoclavável (estabilidade física)	Quantidade de aditivos	Permeação ao vapor	Reação potencial com o produto	Propriedades físicas
PEBD	Não	Pequena	Elevada	Baixa	Flexível
PEAD	Sim	Pequena	Baixa	Baixa	Semiflexível
Polipropileno	Sim	Pequena	Moderada	Baixa	Semiflexível
PVC flexível	Sim (com precaução)	Elevada	Elevada	Moderada	Flexível
PVC rígido	Sim	Pequena	Elevada	Baixa	Rígido

PEBD = polietileno de baixa densidade, PEAD = polietileno de alta densidade, PVC = policloreto de vinila.

Fonte: RIBEIRO; OLIVEIRA, 2009.

As poliolefinas são definidas como um grupo de materiais plásticos amplamente utilizados para fabricação de embalagens, formadas pela polimerização de monômeros insaturados simples. O plástico polimerizado torna-se um polímero saturado composto apenas por átomos de carbono e hidrogênio em cadeias repetidas. Os polímeros mais conhecidos e utilizados dentro do grupo das poliolefinas são polietileno e polipropileno (AVIS; LACKMAN; LEIBERMAN, 1992).

2.2.4 Polietileno

Os polietilenos são polímeros de cadeia longa (COMISSÃO FARMACOPÉIA ANVISA, 2010), podem ser lineares ou ramificados, homo ou copolímeros, na qual a

estrutura básica é formada por $(-CH_2-)_n$, com ramificações ou cadeias laterais em maior ou menor quantidade. As características de densidade e cristalinidade do polietileno são influenciadas pelo grau de ramificação e comprimento das cadeias laterais, uma vez que estas são obstáculos à formação de cristais (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Durante o resfriamento do polímero, ocorre a cristalização do polietileno e, quando incompleta, resulta na formação de cristais rodeados por polietileno amorfo. A fração cristalina apresenta maior densidade e é responsável pela resistência, a parte amorfa contribui para a elasticidade, maciez e flexibilidade (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

O Polietileno é disponível na forma de pó, esferas, grânulos ou pré-processado na forma de lâminas translúcidas de espessura variável. Amolece a partir de 65°C e tem densidade relativa está compreendida entre 0,910 e 0,937 m/v (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

O polietileno de baixa densidade (PEBD) é obtido por processo de polimerização catalisada, sob alta pressão e temperatura inferior a 300°C, para evitar a degradação do polímero (SARANTÓPOULOS et al., 2002), a partir de, no mínimo, 85% de etileno e um total de 95% de olefinas (COMISSÃO FARMACOPÉIA ANVISA, 2010).

O PEBD é parcialmente cristalino (50 – 60%), amolece em torno de 100°C (SARANTÓPOULOS et al., 2002) e funde entre 110 a 115°C (COUTINHO; MELLO; SANTA MARIA, 2003). Tem uma combinação única de propriedades: tenacidade, alta resistência ao impacto, alta flexibilidade, boa processabilidade, estabilidade e propriedades elétricas notáveis. A permeabilidade ao vapor de água é baixa quando comparada a de outros polímeros. É menos permeável a compostos orgânicos polares como álcool ou éster quando comparado aos compostos orgânicos apolares como heptano ou éter dietílico (COUTINHO; MELLO; SANTA MARIA, 2003).

O PEBD pode ser processado por extrusão, moldagem por sopro e moldagem por injeção (COUTINHO; MELLO; SANTA MARIA, 2003). É muito utilizado na obtenção de tanto mono como multicamadas, especialmente devido à barreira que oferece ao vapor d'água, propriedades de selagem, ao bom equilíbrio em propriedades mecânicas e ao baixo custo (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Estudo de estabilidade visando determinar o prazo de validade deve ser realizado com a forma farmacêutica embalada no recipiente de polietileno desejado. Qualquer alteração na composição da forma farmacêutica, da embalagem ou ambos, exige novo estudo de estabilidade, para garantir que a identidade, a qualidade e a pureza da forma farmacêutica sejam mantidas durante o período de validade (COMISSÃO FARMACOPÉIA ANVISA, 2010).

2.2.5 Polipropileno

O Polipropileno é definido como uma poliolefina obtida pela polimerização do propileno, em estrutura linear e raras insaturações, como pode ser observada na Figura 1.

Figura 1. Estrutura química básica do polipropileno

Fonte: SARANTÓPOULOS et al., 2002.

É um homopolímero ou um copolímero do propileno, contendo até 25% de etileno ou uma mistura de polipropileno com no máximo 25% de polietileno (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

Algumas propriedades tais como: permeabilidade ao oxigênio e à umidade, módulo de elasticidade, índice de fluidez, resistência à quebra sob tensão ambiental e grau de cristalinidade após a moldagem, podem dificultar a obtenção de embalagens adequadas para medicamentos (COMISSÃO FARMACOPÉIA ANVISA, 2010).

As características que determinam a aplicação do polipropileno em embalagens flexíveis são: transparência, rigidez, resistências a óleos e gorduras e baixa permeabilidade ao vapor d'água (SARANTÓPOULOS et al., 2002). Estas características podem ser otimizadas com o uso de aditivos específicos, visando melhor adequação ao uso pretendido (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

O polipropileno exibe alta resistência à tração, minimizando e até evitando a deformação da embalagem. A alta resistência à tração associada ao alto ponto de fusão, 165°C, possibilitam a esterilização em autoclave, características desejáveis para embalagens de medicamentos (AVIS; LACKMAN; LEIBERMAN, 1992).

Copolímeros de etileno e propileno em diferentes proporções possibilitam, em muitos casos, a adequação da embalagem, pois a adição de etileno diminui a rigidez do polipropileno, melhora a processabilidade e diminui ligeiramente o ponto de fusão. O ponto de fusão típico está entre temperaturas de 145° e 150°C (AVIS; LACKMAN; LEIBERMAN, 1992). A Figura 2 ilustra a estrutura química básica deste polímero.

Figura 2. Estrutura química básica do copolímero de etileno/propileno, nas quais x e y representam o tamanho dos blocos de etileno e propileno, respectivamente.

Fonte: AVIS; LACKMAN; LEIBERMAN, 1992.

2.2.6 Policloreto de vinila – PVC

O policloreto de vinila é obtido a partir da polimerização do cloreto de vinila, cuja estrutura básica é apresentada na Figura 3. Na polimerização, normalmente, o posicionamento do átomo de cloro é aleatório, formando um polímero atático, linear e amorfo que, devido ligação Carbono-Cloro, apresenta elevada atração molecular, tornando-o um polímero rígido e duro em estado natural à temperatura ambiente, mais permeável ao vapor d'água que as poliolefinas e quando plastificado, apresenta alta permeabilidade a gases (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Figura 3. Estrutura química básica do policloreto de vinila

Fonte: SARANTÓPOULOS et al., 2002.

A rigidez do PVC puro, limita seu uso em embalagens. No entanto, o elevado teor de cloro e estrutura molecular com alta polaridade, facilita a adição de vários aditivos, antes de sua transformação em produto final e, assim, ampliando o seu uso. Por outro lado, a aditivação pode representar desvantagem, pois em geral aumentam a probabilidade de lixiviação destes componentes para o produto acondicionado, além de aumentar a permeabilidade do polímero (RIBEIRO; OLIVEIRA, 2009).

Dentre os principais aditivos, destacam-se os plastificantes, os quais são líquidos orgânicos de baixa volatilidade e que facilitam o movimento molecular das cadeias (SARANTÓPOULOS et al., 2002). Quando combinado com plastificantes, o PVC torna-se flexível, permitindo ajustar as características físicas e mecânicas exigidas pelo tipo e formato da embalagem como, por exemplo, nos casos dos recipientes para acondicionamento de soluções parenterais com sistema fechado de infusão (RIBEIRO; OLIVEIRA, 2009).

O PVC aditivado é amplamente utilizado para a fabricação de embalagens flexíveis e bolsas para a administração de soluções parenterais de grande e pequeno volume e diversas preparações de líquidos de nutrição enteral. As bolsas, freqüentemente, são acrescidas de uma embalagem protetora constituída de polietileno de alta densidade para evitar a perda de vapor d'água (AVIS; LACKMAN; LEIBERMAN, 1992). Este material de embalagem provou ser vantajoso devido à sua resistência ao calor que permite a esterilização terminal de produtos farmacêuticos utilizados por via intravenosa (CLARK et al., 2006).

O PVC é comercializado na forma de pó, esferas, grânulos ou pré-processado em folhas translúcidas de espessura variável, de incolores a amarelo pálido, com odor fraco (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2010).

2.3 Processo de fabricação das embalagens plásticas

O processo de moldagem é o mais utilizado na fabricação de embalagens plásticas e artigos médicos de uso parenteral e pode ser realizado por: extrusão, injeção, sopro ou em sistema *blow-fill-seal*.

2.3.1 Moldagem por extrusão

Envolve a fusão e compressão sob pressão do plástico fundido, em molde adequado, para modelagem (RODOLFO JR.; NUNES; ORMANJI, 2002).

A extrusora possui três zonas: 1) a zona de alimentação, que promove o pré-aquecimento do plástico e o envia para as zonas subseqüentes; 2) a zona de compressão, que compacta o plástico e melhora a transferência de calor através da redução da espessura do material; e 3) zona de medição, onde o plástico sob temperatura e pressão uniforme é comprimido em uma matriz que dá forma desejada ao filme ou tubo (CRAWFORD, 1998).

A moldagem por extrusão é utilizada para a obtenção de filmes a partir de um ou mais tipos de plásticos, os quais serão, posteriormente, utilizados na fabricação de embalagens para acondicionamento de Solução Parenteral de Grande Volume. O processo é realizado pela passagem forçada da resina plástica pelo extrusor de matriz plana, sob condições de calor e pressão específicas. O filme formado é esticado em um conjunto de rolos de superfície altamente polida e pressionado para adquirir espessura específica, quando arrefecido. Também podem ser fabricados em múltiplas camadas utilizando-se processos sofisticados com múltiplas extrusoras. A combinação de diferentes tipos de plásticos pode ser utilizada para melhorar o desempenho do produto final, com relação ao impacto, força e propriedades de barreira. Este processo também se aplica à fabricação de embalagem protetora externa (AVIS; LACKMAN; LEIBERMAN, 1992).

2.3.2 Moldagem por sopro

O processo de moldagem por sopro foi desenvolvido seguindo as primeiras tentativas para produzir frascos utilizando-se agulhas de sopro, semelhante ao processo de fabricação de vidro. Tempos depois foi encontrada uma solução na qual a resina plástica foi transformada em um tubo uniforme com uma extremidade fechada, conhecido como *parison*. Este tubo é soprado para fora em uma cavidade do molde utilizando-se ar pressurizado e é transferido diretamente para o molde de sopro (AVIS; LACKMAN; LEIBERMAN, 1992).

2.3.3 Moldagem por injeção

A moldagem por injeção é o processo utilizado para converter a resina fundida em uma forma moldada, utilizando-se um molde padrão. Neste processo o plástico é fundido, injetado em um molde e posteriormente resfriado o suficiente para ser removido em estado sólido. Aplica-se principalmente à fabricação de seringas estéreis de uso único ou outros artigos de injeção intravenosa (AVIS; LACKMAN; LEIBERMAN, 1992).

2.3.4 Processo *Blow Fill Seal* (BFS)

O processo de produção de embalagens por BFS envolve extrusão de plástico, moldagem, envase asséptico e selagem hermética em uma operação seqüencial, como ilustrado na Figura 4. O plástico para embalagem primária é normalmente recebida em grânulos como, por exemplo, polietileno de baixa densidade ou polipropileno. Na etapa de extrusão, os grânulos fluem para a extrusora, na qual são fundidos em temperaturas acima de 160° C. Como pode ser observado na primeira etapa da Figura 4, o plástico fundido é pressionado e extrudado através de um orifício, formando um tubo oco contínuo de plástico fundido, definido como *parison*. Em seguida, o molde de metal move-se até envolver o *parison*. A moldagem ocorre pela pressão negativa entre o *parison* e a parede do molde ou por sopro de ar estéril, pressão positiva, dentro do *parison*, conforme ilustrado na Figura 4, Etapa 2. Posteriormente, ocorre o corte do topo do *parison* e envio do recipiente já moldado em direção ao envase. Na etapa de envasamento é inserida uma agulha na abertura superior da embalagem e a mesma é envasada com a solução desejada, conforme ilustrado na Figura 4, Etapa 3 (LIU et al., 2011; CLARK et al., 2006).

Após o envase, a agulha é retraída e o local selado por aplicação de calor, tornando o recipientes hermeticamente fechados, Figura 4, Etapa 4. Posteriormente, as embalagens plásticas envasadas e fechadas são liberadas e transportadas para a etapa de inspeção (LIU et al., 2011).

O sistema BFS ganhou ampla aceitação para preparações farmacêuticas em solução pelo fato de oferecer muitas vantagens relacionadas à fabricação, como alto rendimento e intervenção humana reduzida (LIU et al., 2011).

Figura 4. Visão geral do processo *blow-fill-seal*.

Fonte: LIU, W. et al., 2011.

2.4 Características das embalagens plásticas

A embalagem primária (recipiente) de soluções parenterais deve proteger e não reagir quimicamente com o produto nela contido. Porém dependendo da composição da embalagem e da natureza química do fármaco pode ocorrer a sorção do mesmo na superfície do recipiente (DE MUYNCK et al., 1990; LEGRAS et al., 1991; AIRAUDO et al., 1993 apud SARBACH et al., 1996). Esta transferência ocorre não somente no sentido do produto para o recipiente de plástico, mas também na direção oposta, em especial dos aditivos (SARBACH et al., 1996).

Portanto, um importante aspecto de segurança e eficácia das embalagens é a avaliação da compatibilidade química, uma vez que estão em contato íntimo com as soluções. Tal contato pode ser a longo prazo como, por exemplo, no armazenamento de formulações esterilizadas a vapor em recipientes plásticos ou relativamente curta, por exemplo, no caso de transporte de medicamentos contendo

soluções através de tubo de plástico flexível, durante a administração (JENKE, 2001).

O contato direto solução/embalagem pode proporcionar a extração de composto da embalagem e este atuar como adjuvante para estimular uma resposta imunológica do paciente. Esta lixiviação é motivo de preocupação, especialmente nos casos em que o produto deve ser administrado por via intravenosa. Deste modo, é importante conhecer as embalagens primárias para compreender os extratos lixiviados e o potencial de penetração através das embalagens plásticas (LIU et al., 2011).

2.4.1 Propriedades físicas, químicas e de barreira

Na seleção da embalagem, devem-se considerar as propriedades mecânicas, resistência à deformação e rigidez, as quais são ditadas pela estrutura polimérica básica, em especial o peso molecular e a cristalinidade (AVIS; LACKMAN; LEIBERMAN, 1992).

A normativa *International Standard ISO 15747:2010 “Plastic containers for intravenous injections”* estabelece requisitos e especificações para realização de ensaios físicos em embalagens de produtos para uso parenteral.

A análise química visa detectar a presença de substâncias potencialmente tóxicas provenientes da adição de aditivos, estabilizantes e pigmentos no processo de produção e também devido à presença de halogênios (CADORE; MATOSO; SANTOS, 2008).

Na escolha de uma embalagem é imprescindível considerar as propriedades de barreira oferecidas pela mesma visando atender às características físicas e químicas do produto, além das exigências do mercado (MONTEIRO; GOTARDO, 2005).

A norma internacional *“American Society for Testing and Materials” – ASTM E96/E96M – 10*, estabelece métodos para a avaliação da permeabilidade de filmes e materiais plásticos ao vapor d'água, assim como a velocidade e a extensão de permeação, sob condições específicas.

Os plásticos utilizados para embalagens farmacêuticas estéreis devem ser capazes de resistir ao envase, selagem e esterilização terminal após sua fabricação. A esterilização, geralmente é realizada em autoclaves que operam a 121°C durante,

no mínimo, 15 minutos. Porém, pode ser realizada em temperaturas inferiores somadas a um tempo de exposição maior para atingir o mesmo grau de destruição microbiana. Isso permitiu a utilização de plásticos como polietileno e policloreto de vinila, os quais geralmente sofrem alterações a 121°C (AVIS; LACKMAN; LEIBERMAN, 1992).

2.4.2 Aditivos plásticos

Desde o início do desenvolvimento da indústria dos plásticos percebeu-se que era impossível processá-los sem a adição de aditivos (SARANTÓPOULOS et al., 2002). Estes têm a finalidade de proteger os polímeros, entre outras, da degradação e da oxidação, durante a vida útil do produto. Os principais aditivos utilizados na fabricação de embalagens plásticas para solução parenteral são antioxidantes, estabilizadores, lubrificantes, plastificantes e corantes (BERTAGNOLLI, 2008).

Existem dois tipos de antioxidantes disponíveis comercialmente, os antioxidantes primários tais como fenóis e aminas aromáticas e os secundários ou decompositores de peróxido, como tioésteres orgânicos e fosfitos. Os antioxidantes primários atuam no início do processo de degradação interrompendo a reação em cadeia e os secundários reagem com os hidroperóxidos à medida que estes são formados (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Os plastificantes são substâncias incorporadas aos plásticos rígidos a fim de melhorar características como flexibilidade, maquinabilidade e extensibilidade (SARANTÓPOULOS et al., 2002). Os principais são ésteres dos ácidos ftálicos, fosfóricos, adípicos, azeláicos e sebáicos, graxos, ácidos graxos epoxidados, cítricos, ácidos acético, propiônico e butírico, etilbutírico e etilhexanóico, glicólicos, benzóicos, trimelíticos, sulfônicos e sulfonamidas, assim como poliéster, polímeros, hidrocarbonetos clorados ou não (MONTEIRO; GOTARDO, 2005).

Para as embalagens de polivinilcloro, o principal plastificante utilizado compreende o grupo dos ftalatos, mais especificamente o ftalato de di-(2-etilexila) (DEHP), o qual abrange 50% de todos os plastificantes ftalatos (MONTEIRO; GOTARDO, 2005).

Os lubrificantes são compostos que afetam as propriedades reológicas dos plásticos e reduzem a tendência destes em aderir às superfícies. Os ésteres e

amidas de ácido graxo, parafinas e ceras de polietileno, estearatos e silicones, representam as principais classes (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Durante o processamento, os polímeros são expostos ao calor e, portanto, são utilizados estabilizantes térmicos para proteção contra a degradação destes polímeros. Para materiais de embalagem flexível, os estabilizantes térmicos mais utilizados são compostos formados por misturas de metais tais como bário-zinco e cálcio-zinco, em substituição às formulações contendo cádmio-zinco (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

2.5 Estudos de Estabilidade

O termo estabilidade representa a capacidade de uma formulação manter suas especificações físicas, químicas, microbiológicas, terapêuticas e toxicológicas, durante o prazo de validade. Estudo de estabilidade visa garantir a qualidade de um produto, prevenindo problemas como efeitos adversos ou ineficácia terapêutica (RIBEIRO; OLIVEIRA, 2009).

A estabilidade de produtos farmacêuticos depende de fatores ambientais como temperatura, umidade e luz, e de outros fatores relacionados ao próprio produto como propriedades físicas e químicas de substâncias ativas e excipiente farmacêutico, forma farmacêutica, composição, processo de fabricação, tipo e propriedades dos materiais de embalagem (BRASIL, 2005).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária publicou a Resolução RE nº 01, de 29 de julho de 2005, o “Guia para Realização dos Estudos de Estabilidade”, tendo como referência os guias de qualidade editados pela “*International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*” (ICH). O guia estabelece os requisitos e ensaios projetados para obter informações sobre a estabilidade de produtos farmacêuticos, visando definir seu prazo de validade e período de utilização em embalagem e condições de armazenamento especificadas. Estabelece também as condições de temperatura e umidade relativa às quais o medicamento deve ser submetido no estudo. Estas condições variam conforme o tipo de formulação, o material de embalagem utilizado e as condições de armazenamento estipuladas para o produto (RIBEIRO; OLIVEIRA, 2009).

A monitorização da estabilidade de medicamentos é um dos métodos mais eficazes para avaliação, previsão e prevenção de problemas relacionados à qualidade do produto durante o prazo de validade. A segurança e a eficácia de um produto podem ser avaliadas através dos estudos de estabilidade, pelo monitoramento da formação de produtos de degradação, os quais podem gerar perda de atividade terapêutica ou toxicidade. O armazenamento, a distribuição e o uso inadequados podem levar à degradação física e química, resultando em atividade reduzida ou formação de produtos de degradação tóxicos, na qual a degradação tende a ocorrer em condições tropicais de altas temperaturas e umidades (CARVALHO et al., 2005).

É previsto que, produtos de base aquosa embalados em recipientes semipermeáveis, a umidade ambiental afete a taxa de perda de água da formulação e, em condições de baixa umidade, a perda de água é acelerada. De fato, a orientação do guia de estabilidade ICH Q1A (R2) incorporou as condições de 40°C/25% umidade relativa como a condição de estabilidade acelerada para produtos líquidos embalados em recipientes semipermeáveis. Este efeito está relacionado às propriedades de barreira do material de embalagem (AMIN; DANTULURI; BANSAL, 2011).

A estabilidade de um produto deve ser determinada antes da comercialização e deve ser repetida quando houver mudanças significativas nos processos de produção, equipamentos, materiais de embalagem ou demais alterações que possam influir na estabilidade do produto. Além disso, devem ser estabelecidas datas e especificações de validade com base nos testes de estabilidade relativos às condições de armazenamento (BRASIL, 2010).

As metodologias utilizadas para avaliação da estabilidade sofreram alterações ao longo do tempo, pois até a década de 80 seguia princípios técnicos e científicos sem interferências de atos regulatórios de autoridades sanitárias. Com o crescimento do comércio internacional, iniciou-se a especialização das unidades produtivas, racionalização da produção e reconhecimento das zonas climáticas dos países importadores, nas quais diferentes países adotaram regulamentos técnicos para previsão do prazo de validade de fármacos e medicamentos (CARVALHO et al., 2005).

A observação da evidência de instabilidade de um produto líquido estéril deve estar relacionada à manutenção da esterilidade. A presença de contaminação

microbiana em líquidos estéreis geralmente não podem ser detectados visualmente, mas qualquer mudança de coloração, turbidez, película em superfície, partículas ou matéria floculantes, ou formação de gás é razão suficiente para suspeitar de possível contaminação. Além disso, a evidência de que a integridade do selo foi violado em tais produtos deverão torná-los suspeitos (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

2.5.1 Zonas Climáticas

O mundo é dividido em quatro zonas climáticas: zona I, de clima temperado; zona II, de clima subtropical ou mediterrâneo; zona III, de clima quente e seco; e zona IV, de clima quente e úmido (BRAGA, 2008).

A subdivisão do mundo em zonas climáticas foi realizada devido à grande variabilidade climática e teve por objetivo prever o prazo de validade do medicamento nos diferentes climas, com diversas especificações de temperatura e umidade para possibilitar a comercialização dos produtos em países para os quais as empresas desejam fabricar ou exportar seus produtos. O Brasil enquadra-se na zona climática IV para a realização dos estudos de estabilidade (SILVA et al., 2009).

2.5.2 Estudo de Estabilidade acelerado

Estudos acelerados de estabilidade foram projetados para acelerar a degradação química e/ou mudanças físicas de um produto farmacêutico em condições forçadas de armazenamento. Estes são de apresentação obrigatória na solicitação ou na primeira renovação de registro do produto (BRASIL, 2005).

O estudo de estabilidade deve ser executado com o produto farmacêutico em sua embalagem primária, pelo fato de tratar-se da embalagem que realmente interfere na estabilidade do produto farmacêutico (BRASIL, 2005). Todos os estudos disponíveis realizados em produtos farmacêuticos fora do recipiente primário ou em outros materiais de embalagem podem formar uma parte útil do teste de estabilidade da forma farmacêutica, porém devem ser consideradas somente como informação de apoio (ICH, 2003).

Na condição de armazenamento acelerado, são recomendados um mínimo de três pontos, incluindo os pontos inicial e final do tempo de armazenamento como, por exemplo, 0, 3 e 6 meses (ICH, 2003).

Os dados obtidos, juntamente com aqueles derivados dos estudos de longa duração, são usados para avaliar efeitos químicos e físicos prolongados em condições não aceleradas e para avaliar o impacto de curtas exposições a condições fora daquelas estabelecidas no rótulo do produto, as quais podem ocorrer durante o transporte (SILVA et al., 2009).

2.5.3 Legislações referentes aos Estudos de Estabilidade

No Brasil, foi publicado o Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade, através da Resolução RE nº 485 (BRASIL, 2002). Em 2004, entrou em vigor a Resolução RE nº 398, a qual instituiu outro guia com a mesma finalidade e que tem como referência os guias de qualidade editados pela ICH relativo a requerimentos técnicos para registro de medicamentos para uso humano (BRASIL, 2004). Um novo guia para estudos de estabilidade, atualmente em vigor, foi implementado por meio da Resolução RE nº 01 (BRASIL, 2005). Abaixo, seguem as resoluções brasileiras citadas, as condições estabelecidas pela ICH e as respectivas condições estabelecidas nos estudos de estabilidade acelerados para produtos farmacêuticos de base aquosa, embalados em embalagem semipermeável:

- Resolução RE nº 485, de 19 de março de 2002: $40 \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $75 \pm 5\%$ de umidade relativa (UR), durante seis meses ou a $50 \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $90 \pm 5\%$ de UR durante três meses;
- Resolução RE nº 398, de 12 de novembro de 2004: $40^{\circ}\text{C} + 2^{\circ}\text{C}$ e não mais que 25% UR + 5% UR;
- Resolução RE nº 01, de 29 de julho de 2005: $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / 75% UR $\pm 5\%$ UR durante seis meses.
- ICH: $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e não mais que 25% de umidade relativa durante 6 meses.

2.5.4 Prazo de validade, armazenagem, bulas e rótulos

O prazo de validade estabelecido usualmente nos rótulos das embalagens de medicamentos trata da data à qual se espera que o produto permaneça dentro das especificações, desde que armazenado corretamente (BRASIL, 2010).

O fabricante deve garantir a qualidade de um produto até o momento designado previsto na data de validade, somente se o produto foi armazenado na embalagem de origem e nas condições recomendadas de armazenamento. Na maioria dos casos, as condições de armazenamento estão recomendadas no rótulo, no qual tais informações devem ser inseridas cuidadosamente. Eles podem incluir uma faixa de temperatura especificada ou um local ou condição de armazenamento designado (por exemplo, "geladeira", ou "temperatura ambiente controlada") e ainda podem conter instruções complementares, como proteger o produto da luz. Na ausência de instruções específicas, o produto deve ser armazenado em temperatura ambiente controlada (15°C a 30°C), porém deve ser armazenado longe de locais onde prevaleça o calor excessivo ou variável, frio, ou a luz (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

O projeto de estudos de estabilidade é baseado no conhecimento do comportamento, propriedades e estabilidade da substância, cuja duração e condições devem ser suficientes para cobertura de armazenamento, transporte, distribuição e uso posterior. Os dados recolhidos a partir testes acelerados preconizados pela ICH ou a partir de testes em uma condição intermediária podem ser utilizados para avaliar o efeito de curto prazo fora das condições de armazenamento do rótulo, como os que possam ocorrer durante o transporte (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

A embalagem, o rótulo, a bula e o armazenamento adequados dos produtos farmacêuticos são essenciais para manter sua estabilidade e eficácia. Os rótulos e as bulas dos produtos industrializados também são essenciais para o uso correto dos medicamentos (ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2000).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a estabilidade de Soluções Parenterais de Grande Volume acondicionadas em diferentes embalagens plásticas e a qualidade física e química das mesmas.

3.2 Objetivos Específicos

- a) Caracterizar e avaliar as propriedades físico-químicas e microbiológicas das soluções de cloreto de sódio 0,9% (m/v), antes e após armazenamento, segundo recomendações da ANVISA (40°C e 75% UR) e ICH (40°C e 25% UR).
- b) Comparar as diferentes embalagens plásticas utilizadas para o acondicionamento das Soluções Parenterais de Grande Volume através de estudos químicos e físicos dos materiais plásticos utilizados na fabricação destes recipientes de armazenamento.
- c) Avaliação dos cuidados de conservação, armazenamento e utilização das Soluções Parenterais de Grande Volume nos serviços de saúde.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

Foram adquiridas amostras de Soluções Parenterais de Grande Volume de Cloreto de Sódio a 0,9 % (m/v) acondicionadas em embalagens de 500 mL em sistema de infusão fechado de diferentes empresas e com diferentes tipos de material de embalagem, conforme laudo de cada fabricante. As amostras correspondentes a cada fabricante foram identificadas com as letras A, B, C e D. A identificação corresponde aos materiais constituídos por: Bolsa flexível de Policloreto de Vinila (A), Frasco semi-rígido de Polietileno de Baixa Densidade (B) e Bolsas de Polipropileno Trilaminado (C e D). As embalagens dos Grupos B, C e D serão consideradas como bolsa poliolefínicas, por possuírem polietileno e polipropileno em sua constituição. Neste estudo foram utilizados um total de 100 amostras de cada tipo, sendo um lote para cada fabricante. Todos os lotes utilizados encontravam-se adequados ao uso e com prazo de validade em vigor.

4.2 Métodos

4.2.1 Estudo I – Caracterização das soluções segundo métodos preconizados pela USP 33 e recomendações de armazenamento da ANVISA

As propriedades físico-químicas e microbiológicas foram avaliadas conforme os requisitos específicos para solução injetável de cloreto de sódio 0,9% (m/v), preconizados pela USP 33 (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010). As amostras foram expostas à temperatura de 40°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) e umidade relativa de 75% ($\pm 5\%$ UR), em câmara climática, marca Mecalor, modelo 329B/2006, com controle de temperatura e umidade (BRASIL, 2005). Em cada período dos ensaios físico-químicos, foram analisadas três amostras de cada Grupo e as mesmas realizadas em triplicata. As análises físico-químicas e de variação de peso foram realizadas nos tempos 0, 90 e 180 dias, mantidas as condições de temperatura e umidade estabelecidas. As análises microbiológicas foram realizadas nos tempos 0 e após 180 dias de armazenamento em câmara climática.

4.2.1.1 Avaliação dos dizeres do rótulo constante na embalagem primária

Foram observados o conteúdo e as informações apresentadas, conforme os requisitos dispostos na legislação vigente, Resolução RDC nº 71 (BRASIL, 2009), bem como pelo estabelecido na Farmacopéia Americana (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

Conforme a Resolução RDC nº 71 (BRASIL, 2009), o rótulo da embalagem primária para acondicionamento deste tipo de produto deve conter informações como: (a) denominação genérica de cada princípio ativo, utilizando a Denominação Comum Brasileira – DCB; (b) a concentração de cada princípio ativo; (c) a via de administração; (d) nome da empresa titular do registro ou sua logomarca desde que a mesma contenha o nome da empresa com endereço e dados da empresa; (e) telefone do Serviço de Atendimento ao Consumidor da empresa titular do registro ou de sua responsabilidade; (f) a composição qualitativa e quantitativa, percentual; (g) conteúdo eletrolítico em mEq/L ou mmol/L; (h) osmolaridade; (i) volume total; (j) dispositivos para rastreabilidade do medicamento como número do lote e data de validade (mês/ano). Estas informações devem estar impressas nas embalagens de forma facilmente compreensível, legível e indelével, utilizando letras com a maior dimensão possível para a sua fácil leitura e identificação. É facultativo imprimir nas embalagens primárias a data de fabricação (mês/ano) e inclusão do código de barras para identificação do produto, caso elas contenham mecanismos de identificação e segurança que possibilitem o rastreamento do produto desde a fabricação até o momento da dispensação.

De acordo com a Farmacopéia Americana, o rótulo deve conter informações tais como: (a) formulação; (b) via de administração; (c) condições de armazenamento; (d) nome e local do estabelecimento fabricante; (e) distribuidor ou importador; (f) data de validade e número de lote para identificação.

A área da embalagem destinada à rotulagem deverá ser suficiente para conter as informações preconizadas, porém a embalagem deve conter área descoberta para permitir inspeção visual do conteúdo.

Para avaliar a segurança na administração e uso correto das Soluções Parenterais de Grande Volume analisadas, foi verificado, em todos os tempos de armazenamento: a permanência e fixação dos rótulos nas embalagens primárias, a legibilidade e a manutenção das informações.

4.2.1.2 Identificação qualitativa de íons sódio

Foram transferidos para béqueres alíquotas das amostras contendo o equivalente a 100 mg de sódio e concentrado até o volume de 2,0 mL. A esta solução contendo 50 mg de sódio por mL foi adicionado 2,0 mL de solução aquosa de carbonato de potássio a 15% (p/v). A mistura foi aquecida até a ebulição, não devendo haver formação de precipitado. Em seguida, adicionou-se 4,0 mL de solução aquosa de antimoniato de potássio a 2% (p/v) e aqueceu até a ebulição. Após arrefecimento em água fria, aproximadamente 10°C, observar a formação ou não de precipitado denso, visualizado ao raspar o interior do recipiente com o auxílio de um bastão de vidro. A formação de precipitado indica a presença de íons sódio (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

4.2.1.3 Identificação qualitativa de íons cloreto

Foi adicionado 2,0 mL de solução aquosa de nitrato de prata 0,1N a 10 mL de solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v). A presença de íons cloreto é indicada pela formação de precipitado branco, estável após a adição de 1,0 mL de ácido nítrico concentrado, o qual deve ser solubilizado após a adição de 2,0 mL de solução de hidróxido de amônio 6,0 N (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

4.2.1.4 Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada a 25°C através do método potenciométrico, em pHmetro Digimed DM-22, calibrado com solução padrão pH 4 e 7. A especificação de pH para soluções de cloreto de sódio 0,9% (m/v) deve estar entre 4,5 a 7,0 (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

4.2.1.5 Determinação do Volume

Antes de proceder à medição do volume, amostras foram retiradas da câmara climática, mantidas em repouso até a temperatura equilibrar 20-25°C. Após este procedimento, as embalagens foram abertas e o conteúdo transferido

quantitativamente para uma proveta seca com capacidade de no mínimo 40% maior que o volume nominal a ser determinado. O volume permitido para produtos com capacidade nominal de 500 mL é de no mínimo 500 mL, porém não especifica o volume máximo permitido (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

4.2.1.6 Determinação e contagem de Partículas

Para a determinação de partículas foi utilizado equipamento com Sistema Automatizado de Amostragem para Soluções Parenterais, modelo APSS 200, o qual compreende um amostrador de seringas LS-200, um espectrômetro volumétrico Liquilaz e Software SamplerSight-Pharma. O equipamento foi calibrado com padrão de partículas esféricas de tamanhos compreendidos entre 10 μm a 25 μm , dispersas em água livre de partículas. O procedimento foi realizado conforme Método 1 estabelecido pela Farmacopéia Americana (2010), cujo limite, considerando a média das determinações não deve exceder a 25/mL, para partículas maiores que 10 μm e 03/mL para as maiores que 25 μm (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

4.2.1.6.1 Preparação das vidrarias e do equipamento

O teste foi realizado sob condições limitantes de partículas. Primeiramente, todas as vidrarias a serem utilizadas foram lavadas cuidadosamente com solução de detergente e em seguida enxaguadas exaustivamente com água, para remoção de todos os vestígios de detergente. Imediatamente antes do uso, o equipamento foi lavado com água para injetáveis. A verificação da adequação do ambiente, das vidrarias e da água a serem utilizadas foi realizada com a contagem do número de partículas em 5 amostras de 5 mL de água para injetáveis. O número de partículas de 10 μm ou tamanho maior deve ser inferior a 25 partículas por mililitro (mL) de água para injetáveis. As etapas preparatórias foram repetidas até que o ambiente, os vidros e a água tornaram-se apropriados para o teste.

4.2.1.6.2 Procedimento

A solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v) acondicionada nas embalagens plásticas foi homogeneizada lenta e suavemente por meio de 20 inversões consecutivas e, em seguida, mantida em repouso por 2 minutos para a eliminação de bolhas de ar. Após este procedimento e quando aplicável, o lacre de vedação foi removido cuidadosamente. Antes da abertura do recipiente, a superfície externa foi limpa e introduziu-se o tubo de sucção da amostra para evitar a contaminação do conteúdo.

Para cada análise foram removidas 5 porções de 5,0 mL cada e foi determinado o número de partículas com tamanho igual ou superior a 10 e 25 μm . Foi desconsiderado o resultado obtido com a primeira alíquota e calculou-se o número médio de partículas para a amostra.

4.2.1.7 Ensaio-limite para Ferro

É estabelecida a especificação de ≤ 2 ppm para a solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v) (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

4.2.1.7.1 Preparação do padrão

Foi transferido 1 mL de solução padrão de ferro (sulfato de ferro amoniacal) equivalente a 10 μg de Fe, para tubo de Nessler de 50 mL e diluiu-se para 45 mL com água. A esta solução adicionou-se 2 mL de ácido clorídrico e a solução foi homogeneizada.

4.2.1.7.2 Preparação da amostra

Foi transferido 5 mL da solução de cloreto de sódio injetável 0,9% (m/v) para o tubo de Nessler de 50 mL e foi diluído para 45 mL com água. Adicionou-se 2 mL de ácido clorídrico e a solução foi homogeneizada.

4.2.1.7.3 Procedimento

Aos tubos contendo as soluções padrão e amostra, foram adicionados 50 mg de cristais de peroxidissulfato de amônio, 3 mL de tiocianato de amônio 1M e a solução foi homogeneizada. Qualquer coloração desenvolvida na solução amostra não deve ser mais intensa que a observada na solução padrão (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

4.2.1.8 Ensaio-limite para Metais Pesados

É estabelecida a especificação de $\leq 0,001\%$ para solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v) (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

4.2.1.8.1 Preparação do padrão

Foi transferido para um tubo de Nessler, de 50 mL, 1 mL de solução padrão de chumbo, equivalente a 10 ppm de Pb e o conteúdo foi diluído para 25 mL com água. O pH foi ajustado entre 3,0 e 4,0 com ácido acético 1N ou hidróxido de amônio 6N utilizando papel indicador de faixa estreita como indicador externo. A solução foi diluída com água para aproximadamente 40 mL e o conteúdo homogeneizado.

4.2.1.8.2 Preparação da amostra

Foram transferidos 111,1 mL de solução de cloreto de sódio 0.9% (m/v) equivalente a 1,0 g de cloreto de sódio para um béquer de 250 mL e o volume foi ajustado por evaporação até 20 mL. Adicionou-se 2 mL de ácido acético 1N e diluiu-se com água para 25 mL. O pH foi ajustado entre 3,0 e 4,0 com ácido acético 1N ou hidróxido de amônio 6N utilizando papel indicador de faixa estreita como indicador externo. A solução foi diluída com água para aproximadamente 40 mL e o conteúdo homogeneizado.

4.2.1.8.3 Preparação do controle

Foi transferido para outro tubo de Nessler, de 50 mL, 25 mL da solução

preparada no item 4.2.1.8.2 e acrescentou-se 1 mL da solução padrão de chumbo. O pH foi ajustado entre 3,0 e 4,0 com ácido acético 1N ou hidróxido de amônio 6N utilizando papel indicador de faixa estreita como indicador externo. A solução foi diluída com água para aproximadamente 40 mL e o conteúdo homogeneizado (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

4.2.1.8.4 Procedimento

A cada uma das soluções (Padrão, Amostra e Controle), adicionou-se 2 mL de tampão acetato pH 3,5 e 1,2 mL de tioacetamida glicerina base previamente preparada a partir do aquecimento durante 20 minutos de uma mistura de 0,2 mL de tioacetamida e 1 mL de glicerina base.

O conteúdo foi diluído com água para 50 mL, homogeneizou-se e a solução ficou em repouso por 2 minutos. Posteriormente, foram observadas as preparações de cima para baixo, segundo o eixo vertical do tubo, sobre superfície branca.

Qualquer coloração desenvolvida na solução amostra não deve ser mais escura que aquela observada na solução padrão. O teste somente é válido se a intensidade da coloração desenvolvida na solução controle for igual ou superior àquela observada na solução padrão. O procedimento foi realizado conforme o Método 1 estabelecido pela Farmacopéia Americana (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

4.2.1.9 Determinação de perda de peso

A perda de peso de formas farmacêuticas líquidas é determinada a cada período de análise, a fim de avaliar a quantidade de solvente (água) que consegue permear a embalagem semipermeável durante o período de exposição às condições do estudo de estabilidade. Os pesos das embalagens foram aferidos antes e após 90 e 180 dias de armazenamento em câmara climática, em balança analítica Ohaus Adventurer™, modelo ARA520 com resolução de 10^{-2} g, previamente calibrada. As amostras dos grupos A, C e D que possuíam invólucro protetor da embalagem primária foram pesados com esta embalagem protetora. Para este ensaio, foi utilizada a mesma amostra em todos os intervalos de tempo para avaliar a variação do peso conforme o tempo de armazenamento.

O valor da perda de peso observada foi multiplicada por 3 devido às condições de 75% de Umidade Relativa utilizadas neste estudo. A taxa de perda de peso não deve ser superior a 2,5% ao ano (BRASIL, 2005). A perda de peso foi calculada em porcentagem, conforme a equação, a seguir:

$$\text{Porcentagem de Perda de peso a 75\% UR} = [(P_o - P_{t(6)}) / P_o] \times 100 \times 3$$

Onde: P_o = Peso inicial; $P_{t(6)}$ = Peso da embalagem após 6 meses de armazenamento.

4.2.1.10 Determinação do teor

O doseamento das amostras de solução de cloreto de sódio 0,9% p/v foi realizado por titulometria. Foi transferido 10 mL de solução de cloreto de sódio injetável equivalente a cerca de 90 mg de cloreto de sódio para um erlenmeyer. Foi adicionado 10 mL de ácido acético glacial, 75 mL de metanol e 3 gotas da solução indicadora eosina Y com concentração de 0,5 mg/mL. Esta solução mantida sob agitação magnética constante foi titulada com solução volumétrica de nitrato de prata 0,1N, até o aparecimento de coloração rosa persistente (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

Cada mL da solução de nitrato de prata 0,1N é equivalente a 5,844 mg ou 0,05844 g de cloreto de sódio. O teor da amostra foi calculado por meio da equação:

$$C = V \times Fc \times 0,05844$$

Onde: C = concentração da amostra em porcentagem; V = volume da solução titulante de nitrato de prata 0,1N consumido na titulação da amostra; Fc = fator de correção.

O fator de correção foi calculado utilizando cloreto de sódio, padrão primário, previamente seco em estufa a 110°C por duas horas. Deste cloreto de sódio foram pesadas exatamente 100 mg, transferidas para recipiente de 150 mL, dissolvidas em 5 mL de água e adicionou-se 5 mL de ácido acético, 50 mL de metanol e cerca de 0,5 mL de eosina amarelada. Esta solução padrão foi mantida sob agitação magnética e titulada com solução de nitrato de prata, 17,5 mg/mL. O fator de correção é calculado por meio da equação abaixo (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010):

$$F_c = m / (V \times 58,44 \times N)$$

Onde: F_c = fator de correção; m : massa de cloreto de sódio em mg; V = volume de nitrato de prata consumido na titulação; N = normalidade esperada da solução de nitrato de prata.

O valor de teor para a solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v) deve cumprir as especificações de 0,85% a 0,95% de cloreto de sódio (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

4.2.1.11 Determinação de contaminantes microbiológicos

O produto solução injetável de cloreto de sódio 0,9% (m/v) deve estar de acordo com os requisitos farmacopéicos, quanto aos ensaios microbiológicos de esterilidade e de endotoxinas bacterianas (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

4.2.1.11.1 Ensaio de esterilidade

O teste de esterilidade é aplicável a insumos farmacêuticos, medicamentos e produtos para saúde, enquadrados como estéreis, sendo adequados para revelar a presença de bactérias e fungos. O resultado considerado satisfatório indica que não foi encontrado microorganismo contaminante na amostra examinada (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

▪ *Preparação dos meios de cultura*

Os meios de cultura utilizados para testes de esterilidade foram o *Meio fluido de tioglicolato* e o *Caldo de caseína soja*:

- (a). *Meio fluido de tioglicolato*: foram pesados 0,5 g de L-cistina, 2,5 g de cloreto de sódio, 5,5 g dextrose, 0,75 g de ágar granulado, 5,0 g de extrato de levedura e 15 g de peptona de caseína, cuja hidrólise tenha sido com pancreatina e 0,001 g de rezasurina sódica e misturados com 1000 mL de água purificada. Após aquecimento e dissolução dos componentes, foi adicionado 0,5 g de tioglicolato de sódio e quando necessário o pH ajustado com hidróxido de sódio 1N, o qual deve ser de $7,1 \pm 0,2$ após a esterilização. A mistura foi homogeneizada e distribuída

em frascos adequados, com volumes de 100 mL. Os frascos são fechados e esterilizados.

- (b). *Caldo de caseína soja*: foram pesados 17 g de peptona de caseína, cuja hidrólise tenha sido realizada com pancreatina, 3 g de farinha de soja hidrolisada com papaína, 5 g de cloreto de sódio, 2,5 g de fosfato de potássio dibásico, 2,5 g de dextrose. Todos os componentes foram dissolvidos em 1000 mL de água purificada, aquecendo suavemente. A mistura foi resfriada à temperatura ambiente e o pH ajustado com hidróxido de sódio 1N de modo que, após a esterilização, o pH da solução seja de $7,3 \pm 0,2$. A mistura foi distribuída em frascos adequados com volume de 100 mL de caldo, fechados e esterilizados.

▪ *Procedimento*

Para a realização do ensaio de esterilidade, foi utilizado o método de Filtração em membrana. Para tanto, foram utilizadas 10 unidades da amostra de cada fabricante A, B, C e D. Todos os equipamentos e aparatos utilizados eram estéreis e todo o ensaio realizado em câmara de fluxo laminar classe II tipo A (máximo de 3520 partículas $\geq 0,5 \mu\text{m}/\text{m}^3$), instalada em sala limpa classe B - ISO 7 (máximo 352 000 partículas $\geq 0,5 \mu\text{m}/\text{m}^3$).

Antes de proceder ao teste, retirou-se o invólucro protetor da embalagem primária quando aplicável e realizou-se a assepsia das superfícies externas das embalagens.

Foram utilizadas membranas filtrantes de éster de celulose com porosidade nominal não superior a $0,45 \mu\text{m}$ e com diâmetro de aproximadamente 50 mm, com eficiência em reter microrganismos. O dispositivo de filtração foi montado e todo o conteúdo de solução de cada amostra foi filtrado, utilizando sucção a vácuo. Após a filtração, foi realizada a lavagem da membrana com três porções de 100 mL de solução de peptona de carne em água purificada. A membrana foi seccionada em duas partes iguais e cada metade foi transferida, assepticamente, para tubos contendo os meios selecionados caldo tioglicolato e caldo caseína soja.

Os tubos foram incubados em estufa bacteriológica em condições de temperatura de $32,5^\circ\text{C} \pm 2,5^\circ\text{C}$ e $22,5^\circ\text{C} \pm 2,5^\circ\text{C}$, respectivamente, para os meios tioglicolato e caseína soja, por um período de 14 dias. Também foram realizadas

leituras no intervalo de 7 dias de incubação (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

4.2.1.11.2 Ensaio de endotoxinas bacterianas

O teste é preconizado para detectar endotoxinas de bactérias gram negativas. Para tanto, utiliza-se o extrato aquoso dos amebócitos circulantes do *Limulus polyphemus*, preparado e caracterizado como reagente LAL (COMISSÃO FARMACOPÉIA ANVISA V, 2010).

A técnica utilizada neste ensaio foi o método de coagulação em gel, que se trata de método semiquantitativo baseado na formação de coágulo ou gel. Para a realização do ensaio, foram utilizados descartáveis plásticos, como ponteiros e pipetas livres de endotoxinas para que não houvesse interferência no teste. Foi utilizado o reagente LAL, marca Charles River Endosafe[®], 0,125 EU/mL.

- *Determinação da Máxima Diluição Válida (MDV)*

A máxima diluição válida é a máxima diluição permitida da amostra em análise onde o limite de endotoxina pode ser determinado. A fórmula utilizada é aplicável quando o limite de endotoxina especificado na monografia estiver em volume (EU/mL). Para tanto, utiliza-se a seguinte equação para o cálculo da MDV:

$$MDV = \text{limite de endotoxina} / \lambda$$

Onde: MDV: máxima diluição válida e λ : é a sensibilidade rotulada do reagente de LAL.

O limite de endotoxina bacteriana para a solução injetável de cloreto de sódio 0,9% é de 0,5 unidades de endotoxinas (UE) por mL de cloreto de sódio. A diluição para o teste foi de 4x.

- *Reconstituição do kit reagente LAL Charles River Endosafe[®]*

Para a preparação do padrão de endotoxina, foram utilizadas as orientações descritas pelo fabricante, certificados no laudo de endotoxina.

Retirou-se o lacre do frasco contendo o reagente liofilizado do LAL ao abrir cuidadosamente, somente para retirada do vácuo. Com o auxílio de uma pipeta

automática, com ponteira apirogênica, adicionou-se 5,2 mL da água apirogênica ao frasco do LAL. O frasco foi fechado e a solução cuidadosamente homogeneizada para evitar a formação de espuma. Conservou-se sob refrigeração entre 2°C – 8°C por no máximo quatro semanas para que se pudesse realizar o teste da sensibilidade do reagente LAL.

▪ *Sensibilidade do LAL*

Foi realizado o teste para confirmação da sensibilidade do reagente LAL, através de uma série de diluições de endotoxina bacteriana com concentrações de 2λ , λ , $\frac{1}{2}\lambda$, $\frac{1}{4}\lambda$, onde λ é a sensibilidade declarada do LAL em EU/mL. O preparo da série de diluições foi realizado ao agitar cada diluição por, pelo menos, um minuto antes da realização da diluição subsequente. Realizaram-se os cálculos de diluição até a concentração desejada. O teste foi realizado com as quatro concentrações do padrão de endotoxina em quadruplicata e ainda foram incluídos os controles negativos.

A média geométrica logarítmica (MG) das concentrações dos pontos finais de gelificação deve estar entre $\frac{1}{2}\lambda$ e 2λ . O ponto final de gelificação trata-se do último teste da série decrescente de concentração de endotoxina padrão que formou o gel. A sensibilidade do reagente LAL em EU/mL é calculada pela fórmula seguinte:

$$MG = \text{antilog} (\sum e/f)$$

Onde: MG = média geométrica da concentração do ponto final; $\sum e$ = somatória do logaritmo dos pontos finais e f = número de replicatas.

Tabela 2. Confirmação da sensibilidade do LAL (λ) no Tempo 0.

Endotoxina					
Tubo	2λ	λ	$\frac{1}{2}\lambda$	$\frac{1}{4}\lambda$	Ponto Final
1	(+)	(+)	(+)	(-)	0,5 λ
2	(+)	(+)	(+)	(-)	0,5 λ
3	(+)	(+)	(+)	(-)	0,5 λ
4	(+)	(+)	(+)	(-)	0,5 λ
Média Geométrica	0,5 λ				

Tabela 3. Confirmação da sensibilidade do LAL (λ) no Tempo 180 dias.

Endotoxina					
Tubo	2λ	λ	$\frac{1}{2}\lambda$	$\frac{1}{4}\lambda$	Ponto Final
1	(+)	(+)	(-)	(-)	λ
2	(+)	(+)	(-)	(-)	λ
3	(+)	(+)	(-)	(-)	λ
4	(+)	(+)	(-)	(-)	λ
Média Geométrica	λ				

▪ *Preparação de amostras, controles e padrão*

(a) *Controle positivo do kit*

Foram transferidos para um tubo de ensaio apirogênico, 100 μ L de endotoxina com concentração igual a 0,5 EU/mL e 100 μ L de água apirogênica do kit, obtendo-se uma concentração de endotoxina igual a 0,25 EU/mL.

(b) *Controle negativo do kit*

O controle negativo do kit trata-se de água apirogênica reagente para LAL, sem nenhuma contaminação.

(c) *Controle positivo da amostra*

Em um tubo de ensaio apirogênico, foram transferidos 1 mL de endotoxina com concentração igual a 0,5 EU/mL e 1mL da amostra, obtendo-se uma concentração de endotoxina igual a 0,25 EU/mL.

(d) *Controle negativo da amostra*

O controle negativo da amostra trata-se do LAL ressuspendido.

(e) *Amostra*

Em um tubo de ensaio apirogênico, foram colocados 100 μ L do reagente LAL ressuspendido e 100 μ L da amostra.

▪ *Procedimento*

As amostras, padrões e os controles foram diluídos em água reagente para

LAL. Uma alíquota de 100µL das soluções contendo endotoxina bacteriana foi misturada com 100µL de LAL em tubos apirogênicos (10 mm x 75 mm) e incubados a $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 1 hora em banho-maria, evitando vibrações. Após este período, os tubos foram retirados, girando 180 graus e verificou-se a integridade do gel. A unidade do ensaio de endotoxinas bacterianas é expressa em Unidade de Endotoxinas por mililitro (EU/mL). A especificação para o ensaio de Endotoxinas Bacterianas para soluções de cloreto de sódio 0,9% (m/v) é de valores não superiores a 0,5 EU/mL (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

4.2.2 Estudo II – Caracterização das soluções segundo recomendações de armazenamento da ICH

Os produtos foram armazenados durante 6 meses em câmara climática Tecnal, modelo TE4003, previamente estabilizada para as condições de temperatura de 40°C ($\pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade relativa 25% ($\pm 5\%$), estabelecidas pela ICH. As análises foram realizadas nos intervalos de 0, 3 e 6 meses. Foram analisadas três amostras de cada Grupo e as mesmas realizadas em triplicata, em cada período. Após a retirada das amostras da câmara climática, as mesmas foram estabilizadas à temperatura ambiente para que fossem analisadas. Foram avaliados parâmetros pertinentes ao produto, que podem sofrer alteração durante o tempo de armazenamento como volume, pH, variação de peso e teor de cloreto de sódio.

4.2.2.1 Determinação do pH

Os valores de pH foram medidos por método potenciométrico, conforme descrito no item 4.2.1.4.

4.2.2.2 Determinação do Volume

Os volumes das amostras foram determinados conforme estabelecido no item 4.2.1.5.

4.2.2.3 Determinação de perda de peso

A determinação de perda de peso foi realizada conforme descrito no item 4.2.1.9. O cálculo realizado para o estudo a 40°C/25% UR foi determinado a partir da equação descrita a seguir:

$$\text{Porcentagem de Perda de peso a 25\% UR} = [(P_o - P_{t(6)}) / P_o] \times 100$$

Onde: P_o = Peso inicial; $P_{t(6)}$ = Peso da embalagem após 6 meses de armazenamento.

4.2.2.4 Determinação do teor

Conforme preconizado pela Farmacopéia Americana (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010) a metodologia empregada para análise de teor de amostras de solução de cloreto de sódio 0,9% p/v consiste na determinação do teor de cloreto por titulação argentométrica utilizando nitrato de prata como titulante e eosina amarelada como indicador, conforme ensaio realizado no item 4.2.1.10.

Porém, optou-se pela metodologia analítica por fotometria de chama devido à precisão, sensibilidade comparada à técnica titulométrica.

A fotometria de chama é, portanto, uma alternativa instrumental de baixo custo para a determinação de sódio entre outros íons em diferentes tipos de amostras e que requerem tratamento prévio mínimo (NOBREGA et al., 2002).

Para tanto, foi necessário a conversão da concentração da solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v) de NaCl para a concentração de sódio 3540 mg/L ou PPM em sódio e construção de uma curva analítica para a determinação do teor de sódio.

A análise do teor de sódio nas amostras de Solução de Cloreto de Sódio injetável 0,9% (m/v) foi realizada através de método analítico validado por fotometria de chama, conforme o item 4.2.2.4.1. Após a determinação de sódio, foram realizadas conversões para concentração de cloreto de sódio, a partir da equação:

$$C_{\text{NaCl}}(\%) = (0,9 \times C_{\text{Na}^+}) / 3540$$

Onde: $C_{\text{NaCl}}(\%)$: é a concentração de cloreto de sódio em % (m/v); C_{Na^+} : concentração de sódio obtida por fotometria de chama (PPM).

4.2.2.4.1 Validação do método

▪ *Curva analítica*

Para as determinações foi utilizado o equipamento fotômetro de chama Micronal, modelo B462.

Foi preparada uma solução estoque de sódio com concentração de 1000 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, preparada a partir de 0,1270 g de cloreto de sódio (Aldrich) previamente submetido à secagem por 24 horas a 110°C e completou-se o volume com água deionizada para um balão volumétrico de 50 mL.

A curva analítica foi construída a partir de diluições da solução estoque: 1 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 3 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 5 $\mu\text{g.mL}^{-1}$, 7 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ e 10 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Foram transferidas alíquotas de 10 μL , 30 μL , 50 μL , 70 μL e 100 μL da solução estoque de cloreto de sódio para balão volumétrico de 10 mL e o volume foi completado com água deionizada. Cada concentração foi analisada em triplicata.

▪ *Linearidade*

A linearidade do método foi avaliada por meio de análise de regressão linear, utilizando ajuste dos dados pelo método dos mínimos quadrados, a partir da curva analítica, conforme equação da reta:

$$Y = ax + b,$$

Onde: **Y** é a intensidade ou resposta obtida por fotometria de chama; **a** é o coeficiente angular; **x** é a concentração a ser calculada e **b** é o coeficiente linear ou intercepto.

▪ *Precisão*

A precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra (BRASIL, 2003).

A precisão foi avaliada pela quantificação de 06 amostras de solução de cloreto de sódio 0,9 % (m/v). As soluções foram analisadas em triplicata. O desvio padrão relativo (DPR) foi calculado conforme a equação:

$$\text{DPR} = (\text{desvio padrão}/\text{concentração média experimental}) \times 100$$

- *Exatidão*

A exatidão do método reflete a proximidade entre o valor medido e um valor de referência considerado como verdadeiro e foi determinada a partir de três concentrações, realizando três determinações por concentração (CUADRADO; FORN, 2001).

As diferentes concentrações foram preparadas pela adição de quantidades pré-determinadas de cloreto de sódio em água, para que as mesmas apresentassem as concentrações teóricas de 95%, 105% e 115%. Deste modo, foram preparadas soluções por meio da adição de 0,855 g, 0,945 g e 1,035 g de cloreto de sódio. A exatidão foi avaliada através da equação descrita a seguir:

$$\text{Exatidão (E)} = (\text{concentração experimental/concentração teórica}) \times 100$$

- *Robustez*

A robustez foi avaliada através da análise da amostra sob diferentes condições de preparo como tempo de agitação da amostra após diluição e temperatura. A robustez foi avaliada por meio da análise de amostras equivalente à concentração de 100% do analito cloreto de sódio sob condições analíticas alteradas propositalmente.

- *Especificidade*

A especificidade foi avaliada através da interferência do veículo, o qual para a amostra de solução de cloreto de sódio 0,9% a ser analisada, trata-se de água deionizada utilizada no preparo e diluição da amostra.

4.2.2.4.2 Procedimento para ensaio de teor por fotometria de chama

As amostras comerciais de solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v) foram diluídas 100 vezes com água deionizada. Para tanto, transferiu-se 100 µL da solução para um balão de 100 mL e completou-se o volume com água deionizada. Homogeneizou-se a solução e foi efetuada a leitura em fotômetro de chama.

4.2.3 Estudo III – Ensaios físicos das embalagens para acondicionamento de soluções parenterais

A Norma Internacional ISO 15747 (2010) aplica-se a recipientes plásticos para produtos parenterais, com uma ou mais câmaras e com capacidade nominal total de 50 mL a 5000 mL tais como: bolsas de filmes e garrafas plásticas moldadas por sopro para administração direta de soluções para infusão (injeção) e contém exigências que se referem à manipulação segura dos testes físicos para tais recipientes de acondicionamento.

Os ensaios apresentados nos itens 4.2.3.3 a 4.2.3.5 foram realizados no Laboratório de Bioengenharia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, com o auxílio da Máquina Universal de Ensaios Emic, DL2000, conforme Figura 5. O ensaio apresentado no item 4.2.3.11 referente às propriedades de tração das embalagens foi realizado em parceria com o Laboratório do Centro de Tecnologia de Embalagem – CETEA/ITAL (Campinas/SP).

Figura 5. Máquina Universal de Ensaios utilizada para realização dos ensaios físicos.

Os ensaios físicos referentes aos itens 4.2.3.3 a 4.2.3.5 são testes realizados para avaliação das conexões, conforme ilustrado na Figura 6.

Figura 6. Ilustração das conexões presentes nas embalagens para acondicionamento de soluções parenterais em sistema fechado.

Legenda: Equipamento ou dispositivo de infusão **(a)**, pontos para adição do medicamento/agulha **(b)** e membrana **(c)**, a qual caracteriza o sistema fechado de infusão.

4.2.3.1 Espessura da embalagem primária e envólucro protetor

A espessura do invólucro protetor foi medida com micrômetro utilizando 3 amostras de cada Grupo, cortadas em 5 partes e a medição realizada em 8 posições diferentes.

4.2.3.2 Resistência à pressão após ciclo gela/degela

Os recipientes dos Grupos A, B, C e D foram armazenados durante 24 horas a uma temperatura de $(-5 \pm 5)^{\circ}\text{C}$ e, subsequentemente, armazenados em estufa previamente estabelecida na temperatura de $(50 \pm 5)^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas. Em seguida, os mesmos foram submetidos a uma pressão interna de 50 kPa entre dois

planos paralelos à temperatura de 20 a 30°C. Para avaliar a pressão interna durante o ensaio, foi introduzido um equipo no sítio de infusão do recipiente e este acoplado a um dinamômetro devidamente calibrado. A resistência à pressão para cada recipiente plástico foi determinada aplicando-se peso uniforme sobre o recipiente com auxílio de aparato específico, conforme ilustrado na Figura 7.

Estabelecida a pressão de 50 kPa, a mesma foi mantida durante um intervalo de 15 minutos para avaliar a presença de vazamento em alguma região da embalagem. Foram avaliadas 7 amostras de cada grupo. Para facilitar esta visualização, foi introduzido corante azul de metileno através do ponto de injeção de cada embalagem. As embalagens estarão aprovadas nos casos em que não houver vazamento detectado à inspeção visual (INTERNATIONAL STANDARD, 2010).

Figura 7. Aparato utilizado nos ensaios físicos para recipientes plásticos.

4.2.3.3 Capacidade de penetração do equipo

O equipo foi introduzido no ponto de inserção de cada embalagem, utilizando uma máquina universal de ensaios marca Emic DL2000, a qual operou com uma célula de carga de 500 N, a uma velocidade de 500 mm.min⁻¹ (INTERNATIONAL STANDARD, 2010).

Foram avaliadas 7 embalagens de cada grupo e as mesmas amostras foram utilizadas no ensaio descrito no item 4.2.3.3. A introdução completa ou parcial da ponta perfurante do equipo depende do tipo de embalagem e é estabelecida pelo fabricante. O ensaio foi iniciado após o ajuste da ponta perfurante do dispositivo de infusão na altura do início do ponto de inserção. O ensaio foi realizado na direção da altura das embalagens e o deslocamento vertical do dispositivo de infusão para atingir e perfurar a membrana dos recipientes dos Grupos A, B, C e D foi de aproximadamente 38 mm, 34 mm, 35 mm e 30 mm, respectivamente.

A força necessária para a introdução do dispositivo de infusão não deve exceder 200 N a uma taxa de inserção de $500 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$, quando testado conforme o item 4.2.3.2 (INTERNATIONAL STANDARD, 2010).

4.2.3.4 Força de adesão do equipo e impermeabilidade no ponto de inserção

Após a introdução do dispositivo de infusão conforme realizado no item 4.2.3.2, cada equipo permaneceu acoplado ao ponto de inserção durante 5 horas. Para avaliar o comportamento do ponto de inserção da embalagem frente a uma carga de tensão, após as 5 horas com o equipo acoplado, cada embalagem foi submetida à uma pressão interna de 20 kPa durante 15 segundos, conforme aparato ilustrado anteriormente na Figura 7. Desta forma, não deverá ocorrer vazamento e o dispositivo de infusão não deverá deslizar para fora do ponto de inserção.

Após a conclusão do teste de pressão, para cada embalagem, foi realizado o ensaio de remoção do dispositivo de infusão, utilizando a máquina universal de ensaios, marca Emic DL2000, operando com uma célula de carga de 50 N e a uma velocidade de $100 \text{ mm} \cdot \text{min}^{-1}$. O teste de impermeabilidade é dado como satisfatório quando não houver sinais de vazamento das amostras avaliadas e o equipo não deve deslizar para fora do local de inserção. A força de remoção deve ser maior do que 15 N (INTERNATIONAL STANDARD, 2010).

4.2.3.5 Estanqueidade no ponto de injeção

Os pontos de injeção presentes em recipientes de infusão para administração de medicamentos foram avaliados em 7 embalagens de cada grupo. Os sítios de injeção foram perfurados utilizando máquina universal de ensaios Emic DL2000,

operando com célula de carga de 50 N com uma velocidade de 300 mm.min⁻¹. O ponto de injeção foi puncionado com agulha de especificação 0,6 mm x 25 mm ou calibre 23 (23G), utilizando-se uma agulha para cada sítio de injeção puncionado.

Feita a punção, as agulhas foram mantidas durante 15 segundos e removidas após este período. Para avaliar a estanqueidade do ponto de injeção, as embalagens foram submersas em água e posteriormente submetidas a uma pressão interna de 20 kPa durante 15 segundos, através do aparato ilustrado na Figura 7 (INTERNATIONAL STANDARD, 2010).

O mesmo procedimento foi realizado utilizando-se agulhas com especificações de 1,20 mm x 40 mm ou calibre 18 (18G). O ensaio foi iniciado após o ajuste da ponta da cânula na altura do início do ponto de injeção e realizado na direção da altura das embalagens, cujo deslocamento vertical realizado pelas agulhas 18G e 23G para atingir e perfurar a membrana foi de 35 mm e 21 mm, respectivamente.

As embalagens estão aprovadas nos casos em que não houver sinais de vazamento de ar no ponto de injeção, após a perfuração (INTERNATIONAL STANDARD, 2010). Esta normativa não contempla a força necessária para a introdução das agulhas.

4.2.3.6 Resistência à queda

As embalagens de cada grupo foram submetidas a uma queda de 1 metro sobre uma superfície dura, rígida e lisa a uma temperatura de 20 a 30°C. A altura da queda é determinada conforme a capacidade nominal do recipiente de infusão, no caso específico. Foram analisadas 7 embalagens de cada Grupo. A embalagem será aprovada se nenhuma amostra apresentar danos como ruptura, fissura ou vazamento determinado à inspeção visual (INTERNATIONAL STANDARD, 2010).

4.2.3.7 Transparência

As embalagens plásticas foram envasadas com uma suspensão de formazina e comparadas com uma embalagem padrão envasada com água e as mesmas avaliadas por inspeção visual, contra um fundo preto de acabamento fosco (INTERNATIONAL STANDARD, 2010).

A suspensão de formazina foi preparada pela mistura de duas soluções: 6,0 g de sulfato de hidrazina dissolvidos em 400 mL de água (Solução 1) e 60,0 g de hexametilenotetramina em 400 mL de água (Solução 2). As duas soluções foram transferidas para um balão de 1000 mL e o volume completado com água destilada. A solução formada foi mantida em repouso por 48 horas a uma temperatura de 20 a 30°C para a formação da suspensão de formazina.

Desta suspensão, foram transferidos 5 mL para um balão de 500 mL e completou-se o volume com água. Esta solução foi utilizada para preencher até a capacidade nominal de 500 mL o recipiente de infusão previamente esvaziado. O teste foi conduzido com 7 embalagens de cada grupo.

A transparência é considerada satisfatória se a turvação dos recipientes preenchidos por suspensão de formazina em comparação ao recipiente com água for claramente detectável nas condições descritas acima (INTERNATIONAL STANDARD, 2010).

4.2.3.8 Alça de sustentação

Para avaliar o comportamento da alça de sustentação dos recipientes de infusão, aplicou-se uma força de tração de 15 N durante 60 minutos com o recipiente pendurado. Foram analisadas 7 embalagens de cada grupo. A alça deve permitir a utilização do recipiente pendurado, nas condições de uso e durante o tempo de infusão da solução e devem suportar a carga de tensão definida acima sem apresentar sinais de ruptura ou deformação (INTERNATIONAL STANDARD, 2010).

4.2.3.9 Identificação

Para avaliar os caracteres de identificação presentes nas embalagens, os recipientes foram armazenados completamente submersos em água durante 24 horas a uma temperatura de 20 a 30°C. Foram avaliadas 7 embalagens de cada grupo. Nesta condição os caracteres de identificação do produto devem permanecer claramente legíveis e os rótulos de papel, quando aplicável, não devem se desprender (INTERNATIONAL STANDARD, 2010).

4.2.3.10 Permeabilidade ao vapor d'água ou Taxa de Transmissão de vapor d'água (TPVA)

Foram utilizadas 10 embalagens de cada grupo para avaliar a permeabilidade ao vapor de água. Os recipientes foram armazenados em câmara climática marca Mecalor, modelo 429^a, com temperatura de $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $75 \pm 5\%$ UR durante um período de 28 dias. As embalagens, previamente identificadas, foram pesadas inicialmente e retiradas para pesagem nos períodos de 7, 14 e 28 dias de armazenamento.

A permeabilidade ao vapor d'água foi avaliada pela perda de massa de água quantificada em balança analítica Ohaus Adventurer™, modelo ARA520 com resolução de 10^{-2}g . As embalagens foram avaliadas na forma como as mesmas são estocadas comercialmente, ou seja, embalagem primária dentro da embalagem protetora, quando houver, ambas mantendo as condições de fechamento originais.

A condição de $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $75 \pm 5\%$ UR é estabelecida no Guia para a realização de estudos de estabilidade, o qual caracteriza as embalagens nas condições de Zona IV em que se classifica o Brasil (BRASIL, 2005).

Após o término das pesagens em todos os períodos, foi realizada uma estimativa da perda de massa durante a estocagem de 1 ano.

A partir dos dados obtidos nas sucessivas pesagens, foi montado um gráfico com os dados de tempo de condicionamento (dias) no eixo x *versus* ganho de peso (g) de cada embalagem no eixo y. A parte linear da curva está associada ao estado estacionário de transferência de vapor d'água através da embalagem. Determinou-se o coeficiente angular da parte linear da curva de tempo *versus* ganho de peso, a qual foi considerada como a taxa de permeação do vapor d'água através da área exposta de cada embalagem (ASTM E96/E96M, 2010). O limite especificado na RE nº 01 (2005) e na ISO 15747 (2010) é de 2,5% ao ano.

A taxa de permeabilidade ao vapor d'água é expressa como:

$$\text{TPVA} = G/T;$$

Onde: TPVA = taxa de permeabilidade ao vapor d'água ($\text{g água}/(\text{embalagem.dia})$); G/T = coeficiente angular da reta ($\text{g água}/(\text{embalagem.dia})$).

O cálculo da Taxa de Transmissão de Vapor de Água (TPVA) foi calculado a partir da equação:

$$\text{TPVA (\%/ano)} = [(\text{TPVA em g água/embalagem.dia} \times 365 \times 3)/500] \times 100$$

4.2.3.11 Resistência à tração das embalagens flexíveis

Foi determinada de acordo com a Norma ASTM D 882-10 "*Standard Test Methods for tensile properties of thin plastic sheeting*". Corpos-de-prova com 25,4 mm de largura foram tracionados em uma máquina universal de ensaios, marca Instron, modelo 5500R, operando com célula de carga de 1 kN, a uma velocidade de 500 mm.min⁻¹. A distância inicial entre as garras de fixação dos corpos-de-prova foi de 50 mm. O ensaio foi realizado na direção da altura das bolsas. O ensaio foi conduzido em ambiente a 23 ± 2°C e 50 ± 5% UR, após acondicionamento dos corpos-de-prova neste mesmo ambiente por um período mínimo de 48 horas.

Foram avaliadas 10 embalagens de cada um dos Grupos A, C e D. A solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v) acondicionada em cada uma das embalagens foi previamente retirada através do ponto de inserção. As propriedades de tração não foram realizadas para as embalagens do Grupo B, devido às características de frasco semi-rígido.

4.2.4 Estudo IV – Ensaio químicos das embalagens para acondicionamento de soluções parenterais.

4.2.4.1 Preparação das soluções

Para a realização dos ensaios químicos, foram utilizadas três amostras de cada Grupo, realizadas em triplicata.

(a) *Preparação da Solução S1 para o material plástico polivinilcloreto do Grupo A*

A preparação da Solução S1 foi realizada com a técnica da combustão. Para tanto, o recipiente de combustão utilizado é composto por erlenmeyer de vidro de borossilicato de 500 mL, cuja tampa encontra-se adaptada a um suporte de platina

destinada a conter a amostra a ser analisada. Foram pesados, em balança analítica, 5 g do material da bolsa plástica e a amostra foi envolvida em papel específico para a combustão, com dimensões de 32 x 30 mm para área da amostra e com uma tira de dimensão de 8 mm de largura por 38 mm de comprimento para facilitar a ignição. O invólucro de papel contendo a amostra foi colocado no suporte de platina.

Adicionou-se 30 mL de ácido sulfúrico e através de um tubo cuja extremidade encontrava-se junto da superfície do líquido introduziu-se gás oxigênio durante aproximadamente 10 a 15 minutos. Inflamou-se a tira de papel com a amostra e introduziu-se rapidamente para dentro do recipiente, no qual a rolha foi previamente umedecida com água para a vedação completa. Agitou-se fortemente o conteúdo durante a combustão, esfriou-se a solução e decorridos aproximadamente 5 minutos, retirou-se a rolha e, à solução escura obtida, foram adicionados 10 mL de solução de peróxido de hidrogênio. Aqueceu-se suavemente e após arrefecimento foi adicionado 1 mL de solução de peróxido de hidrogênio. Foi realizada a alternância de evaporação e adição de solução de peróxido de hidrogênio até a obtenção de um líquido incolor. O volume foi reduzido para 10 mL e após arrefecer a solução, a mesma foi diluída para 50 mL com água (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

(b) Preparação da Solução S2 para o material plástico polivinilcloreto do Grupo A

Pesou-se, em balança analítica, 25 g do material da bolsa plástica e transferiu-se para um balão de vidro de borossilicato, juntamente com 500 mL de água para injetáveis. Vedou-se o balão com uma folha de alumínio e o conteúdo foi transferido para autoclave Luferco, modelo AVPlus a $121 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 20 minutos. Após este período, esfriou-se o conjunto à temperatura ambiente e filtrou-se a solução (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

(c) Preparação da Solução S1 para os materiais plásticos de polietileno e polipropileno dos Grupos B, C e D

Foram pesados, em balança analítica, 25 g do material plástico polietileno de baixa densidade e transferidos para um balão de vidro de borossilicato com gargalo de vidro fosco. Adicionou-se 500 mL de água deionizada e o mesmo foi aquecido

sob condensador de refluxo durante 5 horas. Após resfriamento, o conteúdo foi filtrado através de um filtro de vidro sinterizado. A solução foi utilizada dentro de 4 horas de preparação (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

(d) Preparação da Solução S3 para os materiais plásticos de polietileno e polipropileno dos Grupos B, C e D

Em balão de vidro de borossilicato com gargalo de vidro fosco, foram adicionados 100 g do material plástico polietileno de baixa densidade previamente pesado em balança analítica e adicionados 250 mL ácido clorídrico 0,1M. A mistura foi aquecida sob refluxo, com agitação constante durante 1 hora (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.2 Ensaio de identificação

4.2.4.2.1 Ensaio de identificação por Espectrofotometria na região do infravermelho

A identificação dos materiais plásticos das embalagens dos Grupos B, C e D foi realizada por espectrofotometria na região do infravermelho.

O ensaio de identificação foi realizado através da comparação dos espectros das amostras com espectros padrões na região do infravermelho presente no banco de dados espectrais *KnowItAll-U[®]*, distribuído pela Bio-Rad. Após a comparação com os espectros da biblioteca procedeu-se à interpretação das bandas de absorção.

▪ *Ensaio realizado diretamente no filme plástico – Espectroscopia na região do infravermelho*

O material plástico, dos Grupos B, C e D, foi previamente cortado com dimensões de aproximadamente 4,0 x 4,0 cm e colocado diretamente no suporte para análise de Espectrofotometria de absorção na região do infravermelho (EUROPEAN PHARMACOPEIA, 2008).

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier (*Fourier Transform Infrared Spectrophotometer - FTIR*), Marca Shimadzu, Modelo IRPrestige-21.

- *Preparação da amostra para identificação do material plástico do Grupo A por espectroscopia na região do infravermelho*

Pesou-se 2,0 g do material da bolsa plástica e levou-se para refluxo por 8 horas, juntamente com 200 mL de éter isento de peróxidos. O conteúdo foi filtrado e o resíduo resultante foi dissolvido em 60 mL de cloreto de etileno, aquecendo-se em banho-maria a 40°C sob refluxo. Novamente filtrou-se o conteúdo e adicionou-se a solução resultante gota a gota e com vigorosa agitação a um volume de 600 mL de heptano, previamente aquecido até quase fervura.

Separou-se por filtração o coágulo resultante da solução orgânica e dissolveu-se o coágulo em 30 mL de tetraidrofurano. Adicionou-se 40 mL de etanol em pequenos volumes com agitação e separou-se o precipitado por filtração. O resíduo resultante foi seco sob vácuo a uma temperatura não superior a 50°C, na presença de pentóxido difósforo.

Após a secagem, o resíduo foi dissolvido em 1 mL de tetraidrofurano e algumas gotas da solução obtida foram aplicadas em pastilha de brometo de potássio, evaporando a seco em forno à temperatura de 100 a 105°C. A análise foi realizada por espectrofotometria na região do infravermelho (IV) em espectrofotômetro Perkin Elmer RX IFTIR System (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.2.2 Ensaio específico para identificação de polipropileno dos Grupos C e D

Foram misturados, em um cadinho, 20 mg do material plástico dos Grupos C e D juntamente com 1g de hidrogeno sulfato de potássio, previamente pesados em balança analítica. A mistura foi levada para aquecimento até fundir completamente. Após o aquecimento, acrescentou-se 20 mL de ácido sulfúrico diluído e levou-se novamente para aquecimento.

Realizou-se a filtração da solução e, ao filtrado, adicionou-se 1 mL de ácido fosfórico e 1 mL de peróxido de hidrogênio forte. Acrescentou-se dióxido de titânio como opacificante e a solução desenvolveu coloração amarela alaranjada. Realizou-se a análise em um branco (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.3 Aparência da solução

Foram utilizados tubos de ensaio de vidro neutro, incolor e transparente, com diâmetro interno de 15 a 25 mm e de fundo plano, para comparação da amostra com a suspensão de referência previamente preparada ou água para injetáveis. A Solução S1/S2 deve ser límpida e incolor. Foram analisadas as Soluções S2 para as amostras do Grupo A e as Soluções S1 para as amostras dos Grupos B, C e D (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

- *Limpidez da solução*

Cinco minutos após a preparação da suspensão de referência, os líquidos foram observados segundo o eixo do tubo, sobre fundo negro e à luz natural difusa.

A Solução S1/S2 foi comparada com a água para injetáveis e com a suspensão de referência, previamente preparada, em local cuja difusão da luz permita distinguir facilmente a suspensão de referência I da água e a suspensão de referência II da suspensão de referência I. A solução é considerada *límpida* quando a sua limpidez corresponde à da água para injetáveis nas condições indicadas acima ou se a sua opalescência não é mais pronunciada que a da suspensão de referência I.

As suspensões de referência foram preparadas a partir de mistura de volumes iguais de solução de sulfato de hidrazina, solução de hexametenotetramina, na proporção de 5 mL e 10 mL desta solução, respectivamente para a suspensão de referência I e II, completando o volume para 100 mL com água.

- *Coloração da solução*

A Solução S1/S2 foi comparada com água para injetáveis à luz natural difusa, observando segundo o eixo do tubo sobre fundo branco. A solução é considerada *incolor* se possuir o aspecto da água para injetáveis.

4.2.4.4 Acidez e alcalinidade

Para o ensaio de acidez e alcalinidade foram utilizadas as Soluções S1 para os Grupos B, C e D e Solução S2 para o ensaio referente ao Grupo A. Transferiu-se

o volume de 100 mL de solução S1 ou S2, descritas anteriormente, para um béquer e adicionados 150 µL de solução indicadora azul de bromotimol previamente preparada. A esta solução foi adicionado hidróxido de sódio 0,01M, volume necessário para obtenção de coloração azul. Da mesma maneira, transferiu-se 100 mL de Solução S1 para outro béquer e adicionou-se 200 µL de solução de alaranjado de metila previamente preparada. Foi observada a quantidade de ácido clorídrico 0,01M necessária para atingir o início da mudança de cor do indicador de amarelo para laranja (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

A Farmacopéia Européia (2008) estabelece a especificação de volumes inferiores a 1,5 mL e 1,0 mL de hidróxido de sódio 0,01M e ácido clorídrico 0,01M, respectivamente.

4.2.4.5 Absorbância

O ensaio de absorbância foi realizado em espectrofotômetro UV-Visível, marca Hitachi, modelo U-1800. Para o ensaio de absorbância dos Grupos B, C e D foram transferidos aproximadamente 4 mL da solução S1 para uma cubeta e examinou-se a solução em comprimentos de onda ajustados entre 220 nm e 340 nm. A especificação de absorbância para estes grupos é de no máximo 0,2 (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

Para o Grupo A, foram transferidos 100 mL da Solução S2 previamente preparada e a mesma foi evaporada a seco. O resíduo obtido foi dissolvido em 5 mL de hexano. Transferiu-se uma alíquota desta solução para uma cubeta e a absorbância foi determinada em comprimentos de onda ajustados entre 250 nm e 310 nm e os valores obtidos não devem exceder a especificação 0,25 (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.6 Substâncias redutoras

O ensaio de substâncias redutoras para o Grupo A foi realizado com 20 mL da solução S2 e para os Grupos B, C e D foram utilizados 20 mL da solução S1. As respectivas soluções S1/S2 foram transferidas para um balão de fundo chato e

adicionou-se 1 mL de ácido sulfúrico diluído e 20 mL de permanganato de potássio 0,002M. Esta solução foi levada à fervura sob refluxo durante 3 minutos e resfriada imediatamente. Após este período, foi adicionado 1 g de iodeto de potássio previamente pesado e 250 µL de solução de amido utilizado como indicador. Imediatamente, procedeu-se a titulação com tiosulfato de sódio 0,01M. Foi preparado um branco com 20 mL de água para injetáveis, nas mesmas condições de preparo indicado acima. O ensaio foi realizado em triplicata. A diferença entre os volumes da titulação da amostra e branco não deverá ser superior a 2,0 mL para o Grupo A e 0,5 mL para as amostras dos Grupos B, C e D (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.7 Substâncias solúveis em hexano

A determinação de substâncias solúveis em hexano foi realizada para material de embalagem que possuem polietileno ou polipropileno em sua composição. Deste modo, o ensaio foi realizado para os Grupos B, C e D. O ensaio de substâncias solúveis em hexano foi avaliado através da análise de 10 g do material plástico polietileno de baixa densidade, previamente pesado em balança analítica. A amostra foi transferida para um balão de vidro de borossilicato de 250 mL com gargalo de vidro fosco e adicionou-se 100 mL de hexano. Esta solução foi levada para fervura sob refluxo, por 4 horas, com agitação constante. Imediatamente a mesma foi resfriada com água gelada e filtrou-se rapidamente em filtro de vidro sinterizado, mantendo-se a solução a uma temperatura de 0°C. Posteriormente, transferiu-se 20 mL do filtrado para um béquer previamente pesado e evaporou-se a solução em banho-maria a 40°C. O resíduo foi pesado e levou-se para secagem em estufa a uma temperatura entre 100 e 105°C durante 1 hora. Após a retirada da estufa, o béquer foi novamente pesado para encontrar a massa do resíduo obtido. A massa do resíduo não deverá exceder a 5% (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.8 Metais Pesados extraíveis

4.2.4.8.1 Preparação da amostra

(a) Amostras do Grupo A

A análise de metais pesados extraíveis foi realizada através da avaliação da solução S1 previamente preparada conforme descrito no item 4.2.4.1 (a). Foi utilizado um volume de 10 mL da solução S1, adicionando 0,5 mL de fenolftaleína e solução concentrada de hidróxido de sódio até ser obtida uma coloração rosa pálido. Esta solução foi diluída para 25 mL com água. Utilizou-se o volume de 12 mL desta solução (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

(b) Amostras dos Grupos B, C e D

A análise de metais pesados extraíveis foi realizada através da avaliação da solução S3 previamente preparada conforme descrito no item 4.2.4.1 (d).

Para a preparação de cada uma das amostras representativas dos Grupos B, C e D, foi transferido para um béquer o volume de 50 mL da solução S3 e evaporou-se para aproximadamente 5 mL em banho-maria a 40°C. Esta solução foi diluída para 20 mL com água e utilizou-se o volume de 12 mL desta solução para continuidade do ensaio (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.8.2 Preparação do padrão

A solução padrão para as amostras do Grupo A foi preparada a partir de 10 mL de uma solução padrão de chumbo previamente preparada contendo 2 ppm de chumbo, juntamente com 2 mL da solução descrita no item 4.2.4.8.1 (a).

Para as amostras dos Grupos B, C e D, foi preparada a solução padrão a partir de 2,5 mL de uma solução padrão de chumbo previamente preparada contendo 10 ppm de chumbo, juntamente com 2 mL da solução descrita no item 4.2.4.8.1 (b).

4.2.4.8.3 Preparação do branco

O branco foi preparado a partir de 10 mL de água e 2 mL da solução descrita no item 4.2.4.8.1 para a preparação do branco das amostras dos Grupos A e B, C, D.

4.2.4.8.4 Procedimento

Para cada uma das soluções, amostra, padrão e branco, adicionou-se 2 mL de solução tampão de acetato de amônio e ácido clorídrico pH 3,5 previamente preparadas. Posteriormente, as soluções foram agitadas e adicionou-se 1,2 mL de solução de tioacetamida. As soluções foram homogeneizadas novamente e deixadas em repouso por 2 minutos para observação.

Conforme Método A, a solução amostra deve apresentar coloração marrom com intensidade inferior a da solução padrão e esta deverá apresentar maior intensidade quando comparado ao branco. O limite máximo de metais pesados extraíveis em embalagens plásticas constituídas por PVC é de 50 ppm e para os materiais constituídos por polietileno e polipropileno o limite é de 2,5 ppm (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.8.5 Cinzas sulfatadas

O ensaio de cinzas sulfatadas foi determinado utilizando-se $5,00 \pm 0,02$ g para as amostras dos Grupos B, C e D e $1,00 \pm 0,02$ g para as amostras do Grupo A, pesados em balança analítica com resolução de 10^{-5} e incineração a uma temperatura de $600^{\circ}\text{C} \pm 20^{\circ}\text{C}$ utilizando-se uma mufla com aquecimento por microondas, marca Milestone, modelo Pyro. Após a incineração da amostra, as cinzas foram determinadas gravimetricamente, utilizando-se uma balança analítica Mettler, modelo AT 201, com resolução de 10^{-5} g (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

A Farmacopéia Européia (2008) não estabelece um limite para cinzas sulfatadas para a categoria de embalagens plásticas de PVC para acondicionamento de soluções parenterais. Porém, no capítulo deste compêndio que trata sobre

embalagens de PVC não plastificáveis para soluções aquosas não injetáveis, é estabelecido um limite máximo de 1,0% de cinzas sulfatadas. Entretanto, as amostras analisadas não se enquadram nesta categoria de embalagem.

No caso das embalagens poliolefínicas dos Grupos B, C e D, o limite máximo de cinzas sulfatadas estabelecido pela Farmacopéia Européia (2008) é de 0,02% para materiais constituídos por polietileno sem aditivos e de 1,0% para polietileno com aditivos ou materiais de polipropileno, todos os tipos para acondicionamento de soluções parenterais.

4.2.4.8.6 Ensaio de metais

A quantificação de metais presentes nas embalagens plásticas dos Grupos A, C e D foi realizada em espectrômetro de massa com plasma acoplado indutivamente, equipada com cela de reação dinâmica modelo ELAN DRC II (PerkinElmer, USA), operando com argônio de alta pureza (99,996%, Praxair Inc., USA). Esse equipamento encontra-se instalado no Laboratório de Toxicologia e Essencialidade de Metais da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, em uma sala limpa classe “1000”. Os parâmetros utilizados estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4. Parâmetros instrumentais do equipamento ICP-MS.

Instrumentação	Parâmetros
Nebulizador	Meinhard®
Câmara de nebulização	Ciclônica
Tocha, bico injetor	Quartzo para amostras clínicas (2,0 mm)
Lente iônica	Ligada
Potência de Rádio frequência (RF)	1100W
Vazões de argônio (L min ⁻¹)	Nebulizador 0,56-0,98; Plasma 15; Auxiliar 1,2
Interface	Cones de platina
Cone de Amostragem	1,1 mm
Skimmer	0,9 mm
Modo padrão (q-ICP-MS)	²⁷ Al, ⁴⁰ Ca, ⁵² Cr, ¹¹² Cd, ⁴⁸ Ti, ⁵¹ V, ⁶⁵ Zn, ¹³⁷ Ba e ¹¹⁹ Sn
Replicatas	3

Para a realização do ensaio, utilizou-se água deionizada de alta pureza (resistividade 18,2 MΩ cm) obtida pelo sistema Milli-Q (Millipore®), previamente purificada em sistema de Osmose Reversa (RiOs-DITM da Millipore®). Utilizou-se ácido clorídrico, ácido sulfúrico e peróxido de hidrogênio grau analítico, fornecidos pela Sigma e ácido nítrico (Synth 65% v/v) purificado por destilação, empregando-se destilador *subboiling* de quartzo da *Kürner Analysentechnik* para eliminação de impurezas.

Todas as vidrarias, utensílios e frascos cônicos de polipropileno Falcon® (Becton Dickinson) utilizados no ensaio foram descontaminados por imersão com solução de ácido nítrico 10% (v/v) em água deionizada por 24 horas. Após este período, os materiais foram enxaguados de 3 a 5 vezes com água deionizada descrita acima e secos em capela de fluxo laminar. O manuseio com as amostras e preparo das soluções foi realizado em ambiente controlado como sala limpa, classe “1000”. Utilizou-se uma solução estoque multi-elementar contendo 10 mg.L⁻¹ de cada elemento, fornecido pela PerkinElmer.

De acordo com o estabelecido pela Farmacopéia Européia (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008) os materiais plásticos de policloreto de vinila devem ser avaliados quanto à presença de metais como bário, cádmio, cálcio, estanho e zinco, com especificações de ≤ 5 ppm, ≤ 0,6 ppm, ≤ 0,007 ppm, ≤ 20 ppm, ≤ 2000 ppm, respectivamente. Para os materiais constituídos por poliolefinas como polietileno, não é necessária a realização dos ensaios de metais. Porém, recipientes poliolefínicos constituídos por polipropileno devem ser avaliados quanto à presença de alumínio, cromo, titânio, vanádio e zinco, com as especificações de ≤ 1ppm, ≤ 0,05 ppm, ≤ 1ppm, ≤ 0,1 ppm e ≤ 1ppm, respectivamente (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.8.6.1 Preparação das amostras

(a). Preparação das amostras do Grupo A

O material de embalagem do Grupo A foi lavado com água deionizada e seco em estufa a uma temperatura de aproximadamente 50°C. Após a secagem, as embalagens foram cortadas em pequenos pedaços.

Foram pesados, em balança analítica, 0,5 g do material plástico de polivinilcloro e levados para combustão, conforme descrito anteriormente no item 4.2.4.1(a).

Foram adicionados 3 mL de ácido sulfúrico e aquecido até obtenção de uma massa preta e viscosa. A mistura foi arrefecida e adicionou-se 1 mL de solução de peróxido de hidrogênio. Aqueceu-se suavemente. Após este período, a solução foi resfriada e adicionou-se 0,1 mL de solução de peróxido de hidrogênio a 30% (v/v). Repetiu-se este procedimento de alternância de evaporação e adição de solução de peróxido de hidrogênio a 30% (v/v) até obtenção de um líquido incolor. O volume da solução foi reduzido para 1 mL e após arrefecimento, a mistura foi diluída para 5 mL com água (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

(b). Amostras dos Grupos C e D

As embalagens dos Grupos C e D foram lavadas com água deionizada e secas em estufa a uma temperatura de aproximadamente 50°C. Após a secagem, as embalagens foram cortadas em pequenos pedaços.

Foram pesados, em balança analítica, 100 g do material plástico e transferiu-se para um frasco de polietileno, juntamente com 250 mL de ácido clorídrico 0,1 M previamente preparado com água deionizada. A mistura foi levada para aquecimento em refluxo durante 1 hora. Após este período, a solução foi resfriada à temperatura ambiente e filtrada (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.8.6.2 Procedimento para determinação de metais do Grupo A

▪ *Ensaio para determinação de cádmio*

A preparação das amostras para a determinação de cádmio foi realizada através da evaporação até secar de 10 mL da solução descrita no item 4.2.4.8.6.1 (a). Ao resíduo, foram adicionados 5 mL de ácido clorídrico 1% (v/v) previamente preparado. A solução foi filtrada e diluída para 10 mL com o mesmo ácido. Foi feita a leitura do ácido clorídrico 1% (v/v) utilizado como branco (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

- *Ensaio para determinação de estanho*

A solução S1 preparada no item 4.2.4.8.6.1 (a) foi diluída com água Milli-Q na proporção 1:10. Como branco, foi efetuada a leitura da água Milli-Q utilizada na preparação da amostras para ensaio de estanho (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

- *Ensaio para determinação de zinco*

A solução preparada no item 4.2.4.8.6.1 (a) foi diluída na proporção de 1:100 com ácido clorídrico 0,1M previamente preparado. O ácido clorídrico 0,1M previamente preparado foi utilizado como branco (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

- *Ensaio para determinação de bário e cálcio*

Foi pesado 1,0 g de amostra do Grupo A e o mesmo foi calcinado em um cadinho de sílica. Ao resíduo, foi adicionado 10 mL de ácido clorídrico 0,1M previamente preparado. O ácido clorídrico 0,1M foi utilizado como branco (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.8.6.3 Procedimento para a determinação de metais dos Grupos C e D

Após a preparação das amostras, uma alíquota de cada solução foi transferida para tubos de polipropileno descontaminados. A análise foi realizada em triplicata. As amostras foram diluídas 10 vezes com ácido nítrico a 2% (v/v) e procedeu-se a leitura das amostras para quantificação de alumínio, cromo, titânio, vanádio e zinco.

4.2.4.8.6.4 Curva analítica

Foram confeccionadas curvas analíticas com cinco pontos e preparadas por diferentes diluições da solução estoque. Foi realizada a preparação de uma curva multi-elementar para alumínio, cromo, vanádio, zinco, cádmio e bário com intervalos de 0-100 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Para cada um dos analitos titânio e estanho foram realizadas curvas

com intervalo de respectivamente 0-20 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Para a confecção da curva de cálcio utilizou-se o intervalo de 0-20 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Tais concentrações foram preparadas através da diluição em solução de ácido nítrico a 2 % (v/v). Foi utilizado um branco, composto pelo diluente.

4.2.4.8.7 Ensaio de cloreto de vinila

A análise quantitativa para determinação de cloreto de vinila foi realizada utilizando-se Cromatógrafo Gasoso Shimadzu, modelo GC-2014, equipado com coluna capilar RtX-1 (100% metil siloxane) de 30 metros de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μm de espessura de fase. O injetor operou em modo “*splitless*” a 130°C. O detector de Ionização de Chama foi mantido a 220°C. A temperatura da coluna foi programada, com temperatura inicial de 50°C, mantida por 10 minutos e elevando-se a 10°C/min até atingir 165°C, permanecendo por 5 minutos. O gás de arraste utilizado foi o Nitrogênio com fluxo de 1,0 mL.min^{-1} . A especificação para o ensaio de cloreto de vinila residual em embalagens de PVC é de no máximo 1 ppm (BRASIL, 1999).

4.2.4.8.7.1 Preparação das amostras

Foram pesados, em balança analítica, três frascos de aproximadamente 20 mL com septo de teflon e lacre de alumínio. Em cada um dos três frascos, foram adicionados 0,5 g do material de embalagem do Grupo A e pesou-se novamente. Na capela, foram adicionados 5 mL de dimetilacetamida em cada frasco, com auxílio de pipeta volumétrica, fechando-os em seguida. Agitou-se os frascos com agitador magnético e os mesmos foram levados para aquecimento em banho termostático por 1 hora a 60°C para dissolução.

4.2.4.8.7.2 Preparação dos padrões para a curva analítica

Preparou-se uma solução concentrada de cloreto de vinila em frasco âmbar de 61 mL com septo de teflon e lacre de alumínio (P1). Na capela, adicionou-se n,n´Dimetilacetamida (DMA) até restar aproximadamente 1 cm de espaço livre e fechou-se hermeticamente. O frasco foi pesado novamente (P2). Foram

introduzidas, através do septo do frasco, duas agulhas descartáveis, uma no espaço livre e a outra imersa no Dimetilacetamida. Conectou-se a agulha imersa no DMA ao cilindro contendo cloreto de vinila e abriu-se a válvula, deixando borbulhar aproximadamente 1 minuto. A segunda agulha foi retirada e fechou-se a válvula do cilindro, tirando a agulha do espaço livre, em seguida. Pesou-se novamente o frasco (P3). Deste modo, calculou-se a concentração desta solução padrão de cloreto de vinila concentrada e o valor encontrado foi de 21,36 mg/g, conforme o cálculo descrito a seguir:

$$S1 = [(P3-P2)*1000]/(P2-P1)$$

A partir desta solução foi preparada uma solução padrão diluída de cloreto de vinila. Para tanto, pesou-se, em balança analítica, um frasco de 20 mL com septo de teflon e lacre de alumínio (D1). Na capela, foi adicionado n,n´Dimetilacetamida até restar aproximadamente 1 cm de espaço livre, fechou-se hermeticamente e pesou-se novamente (D2). Para este cálculo, utilizou-se a equação de diluição, obtendo-se o volume de solução padrão concentrada de cloreto de vinila necessário para a concentração desejada, o qual, de acordo com a legislação, deveria ser próximo de 50 µg de cloreto de vinila por g de DMA. Após a adição deste volume, fechou-se e pesou-se novamente o frasco (D3). Deste modo, encontrou-se o valor de 50,7 µg/g para a solução padrão de cloreto de vinila diluída, calculado conforme descrito na equação abaixo:

$$S2 = [(D3-D2)*S1*1000]/(D2-D1)$$

Foram preparadas cinco soluções-padrão com diferentes concentrações de cloreto de vinila obtidas a partir da solução padrão diluída S2. Para a preparação dos padrões, colocou-se 5 mL de DMA em frasco de 20 mL, fechando-os hermeticamente com septo de teflon e lacre de alumínio, pesando em balança analítica (N1). Na capela adiciona-se através do septo por meio de micro-seringas líquidas, diferentes quantidades de solução de cloreto de vinila diluída, a fim de se obter as concentrações necessárias para a quantificação da amostra, pesando-os em seguida (N2).

Os volumes de solução padrão de cloreto de vinila diluída S2 e as concentrações de cloreto de vinila em cada padrão são mostrados na Tabela 5.

Tabela 5. Demonstração do volume de solução padrão de cloreto de vinila e das concentrações dos padrões.

Padrão	Volume da Solução padrão de cloreto de vinila diluída (S2)	Concentração de cloreto de vinila ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
1	10 μL	0,5
2	20 μL	1,0
3	40 μL	2,0
4	100 μL	5,0
5	300 μL	15,0

Os frascos foram aquecidos em banho termostático por 1 hora a 60°C e injetou-se no cromatógrafo, já ajustado com as condições descritas acima. Com os dados obtidos, traçou-se uma curva analítica pela regressão linear das respostas cromatográficas (área detectada) x massa de cloreto de vinila no frasco em μg . Todas as análises dos padrões e amostra foram realizadas em triplicata. Primeiramente, foi realizada a análise de n,n'dimetilacetamida, que se trata do branco. Além disso, realizou-se a análise da solução padrão de cloreto de vinila diluída para a obtenção/identificação do tempo de retenção do cloreto de vinila, o qual foi comparado com os cromatogramas obtidos para os padrões e amostra. Os cromatogramas obtidos foram integrados e as curvas analíticas foram feitas utilizando-se as áreas dos picos.

4.2.4.8.8 Ensaio de quantificação do plastificante di-2-etilhexil ftalato e di-2-etilhexil adipato

O ensaio de quantificação de plastificantes do Grupo A foi realizado em parceria com o Laboratório Centro de Tecnologia de Embalagem – CETEA/ITAL (Campinas/SP).

Foram pesados 2,0 g do material da bolsa cortada, aquecido sob refluxo com 50 mL de hexano por 5 horas. Após este período foi adicionado 0,6 g de padrão

interno diisobutil ftalato (DIBP). Posteriormente, uma alíquota de 1 µL do extrato da amostra foi injetada em um cromatógrafo a gás, marca Hewlett-Packard, modelo 5890, operando com detector de ionização de chama (CG/FID) e coluna capilar de sílica fundida, marca Agilent modelo HP-1 – polidimetilsiloxano com comprimento de 50 m e diâmetro interno de 0,22 mm. O experimento foi realizado em triplicata. A quantificação dos plastificantes identificados no material da bolsa foi realizada através de cálculos pela análise de uma solução de calibração contendo o plastificante por padronização interna (ABNT NBR 15403:10).

A quantidade máxima de di-2-etilhexil ftalato que pode ser adicionada à formulação do filme plástico para embalagens de PVC é de 40% e não é permitido o uso do aditivo di-etilhexil adipato (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.8.9 Determinação de óleo de soja e linhaça epoxidados

4.2.4.8.9.1 Preparo das soluções padrão

A determinação do óleo de soja epoxidado e óleo de linhaça epoxidado foi realizada por Cromatografia em Camada Delgada (CCD). Foram preparadas soluções-padrão com concentração de 0,1 mg/mL, a partir dos aditivos plásticos óleo de soja e linhaça epoxidados. O resíduo não deve exceder 40 mg EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.8.9.2 Preparo da amostra

Foram pesados 2g do material plástico em balança analítica e aquecidos sob refluxo por 8 horas, juntamente com 200 mL de éter isento de peróxidos. A solução foi filtrada, o resíduo descartado e o filtrado evaporado até secar, sob pressão reduzida, em temperatura de 30°C em banho-maria. O resíduo foi dissolvido em 10 mL de tolueno e esta solução foi aplicada à placa cromatográfica (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.8.9.3 Procedimento

Foram aplicados 500 μ L de cada uma das soluções padrão e 5 μ L da amostra sobre uma placa de CCD de 20 x 20 cm contendo sílica como fase estacionária. Utilizou-se tolueno como fase móvel. A cromatografia foi desenvolvida e a placa foi seca e revelada pela exposição a vapores de iodo durante 5 minutos. Foram observadas as bandas correspondentes aos aditivos – óleo de soja e óleo de linhaça epoxidados, através da observação dos valores de R_f das amostras comparadas aos dos padrões empregados.

Removeu-se a área de sílica gel correspondente às zonas identificadas e similarmente, removeu-se uma área de sílica gel que foi utilizada como branco. Às amostras foram adicionados 40 mL de metanol e agitadas por 15 minutos. As soluções foram filtradas em filtro de vidro sinterizado e o mesmo lavado com mais duas porções de 10 mL de metanol. Os lavados foram adicionados ao filtrado, transferidos para um balão, previamente pesado em balança analítica, e secos em rota-evaporador. Após a secura, os balões foram pesados novamente. O mesmo procedimento foi realizado para o branco (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.8.10 Ensaio de aminas aromáticas primárias

O ensaio de aminas aromáticas primárias é estabelecido para materiais plásticos de policloreto de vinila (Grupo A), Nas condições do ensaio a coloração da solução preparada a partir das amostras não deve ser mais intensa que a coloração desenvolvida pela solução padrão, preparada ao mesmo tempo e da mesma maneira que a amostra (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.8.10.1 Preparação da amostra

Foram pesados, em balança analítica, 2g do material plástico do Grupo A e dispersos em 200 mL de éter isento de peróxido, mantido sob refluxo por 8 horas. Após este período, a dispersão foi filtrada. O resíduo foi dissolvido em 10 mL de tolueno e desta solução foi retirada uma alíquota de 2,5 mL, transferida para tubo de

ensaio juntamente com 6 mL de água e 4 mL de ácido clorídrico 0,1M. Após vigorosa agitação, descartou-se a camada superior e utilizou-se a camada aquosa para a realização do ensaio. O filtrado foi seco em rota-evaporador, sob vácuo a temperatura de 30°C em banho-maria.

4.2.4.8.10.2 Preparação do padrão

O padrão foi preparado pela mistura de 1 mL de solução de naftilamina 0,01 g.L⁻¹ em ácido clorídrico 0,1M, previamente preparada, juntamente com 5 mL de água e 4 mL de ácido clorídrico 0,1M.

4.2.4.8.10.3 Procedimento

O ensaio de aminas aromáticas primárias foi realizado através da adição de diferentes soluções previamente preparadas às soluções padrão e amostra. Deste modo, utilizou-se 0,4 mL de uma solução de nitrito de sódio a 10 g.L⁻¹, posterior homogeneização e repouso de 1 minuto. Em seguida, foram adicionados 0,8 mL de uma solução de sulfamato de amônio a 25 g.L⁻¹. Após a homogeneização e repouso de 1 minuto, foi adicionado 2 mL de uma solução de dicloridrato de naftilamina a 5 g.L⁻¹.

Após 30 minutos, foi comparada a coloração desenvolvida pela amostra e padrão (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.8.11 Ensaio de teor de policloreto de vinila

4.2.4.8.11.1 Preparação das amostras

Para a determinação do teor de polivinilcloreto, foi utilizada a técnica da combustão, descrita no item 4.2.4.1 (a). Para tanto, pesou-se, em balança analítica, 50 mg do material da bolsa de PVC cortada. Para absorver os produtos da combustão, utilizou-se 20 mL de hidróxido de sódio 1M, especificamente preparado com hidróxido de sódio em pérolas, previamente lavadas e preparadas com água recentemente fervida para eliminação de CO₂. À solução, resultante da combustão,

adicionou-se 2,5 mL de ácido nítrico, 10 mL de nitrato de prata 0,1M, 5 mL de solução de sulfato de amônio férrico e 1 mL de dibutilftalato (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

Foi realizada a titulação indireta pelo Método de Vollhard, com tiocianato de amônio 0,05M até que uma coloração vermelho-amarelada fosse observada. Realizou-se a titulação em um branco e o ensaio realizado em triplicata. O cálculo utilizado na determinação do teor de policloreto de vinila está descrito abaixo:

$$V = (0,05 \times (V_b - V_a) \times F_{c1}) / (0,1 \times F_{c2})$$

Onde: V: volume de nitrato de prata 0,1N em mL correspondente ao volume de tiocianato de amônio utilizado na titulação;

V_b: volume do branco gasto na titulação (mL);

V_a: volume da amostra gasto na titulação (mL);

F_{c1}: fator de correção do tiocianato de amônio 0,05M;

F_{c2}: fator de correção do nitrato de prata 0,1N.

Cada mL de volume de nitrato de prata 0,1 N (V) corresponde a 6,25 mg de polivinilcloreto. Portanto, segue a seguinte equação:

$$C_1 = V \times 6,25$$

Onde: C₁: quantidade de polivinilcloreto em mg; V: volume adquirido na titulação, conforme equação anterior.

De acordo com o descrito na Farmacopéia Européia, a especificação é de no mínimo 55% de polivinilcloreto. Portanto, no ensaio utiliza-se uma quantidade de amostra de aproximadamente 50 mg. Deste modo, segue o cálculo:

$$C_2 = (100 \times C_1) / 50$$

Onde: C₂: teor de polivinilcloreto em %

4.2.4.8.12 Ensaio de substâncias extraíveis em água

Aplicável a amostras do Grupo A, compostas por material de policloreto de vinila. Em béquer previamente pesado foram adicionados 50 mL da solução S2 preparada no item 4.2.4.1 (b) e o solvente foi evaporado em banho-maria a 40°C até secar. O béquer foi novamente pesado e levado para secagem em estufa com uma temperatura de 100 a 105°C até atingir massa constante. O ensaio foi realizado em

triplicata tendo como branco 50 mL de água para injetáveis. Para as embalagens plásticas de PVC para acondicionamento de soluções parenterais, a massa do resíduo do ensaio de substâncias extraíveis em água não deve ser superior a 0,3% (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.4.8.13 Perfil de aditivos

A avaliação do perfil de aditivos nas amostras de bolsas poliolefínicas dos grupos C e D e no frasco semi-rígido B foi realizada no Laboratório Centro de Tecnologia de Embalagens – CETEA/ITAL (Campinas/SP), de acordo com normas ASTM D6042 e D6953 (ASTM INTERNATIONAL, 2003, 2009).

As amostras foram moídas e 5 g utilizadas no processo extrativo, aquecimento sob refluxo por duas horas. Para as amostras dos Grupos C e D foi utilizado como solvente uma mistura de diclorometano (75%) e ciclohexano (2%), e na amostra de frasco semi-rígido (Grupo B), o solvente foi o isopropanol.

Foram realizadas três determinações para cada amostra. Os extratos foram concentrados em 5 vezes e analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – HPLC, utilizando-se um cromatógrafo líquido, marca Hewlett Packard – HP, modelo 1100, com detector de arranjo de diodos. Foi utilizada coluna de fase reversa LiChrospher 100 RP – 18E, de 250 mm de comprimento x 4 mm de diâmetro e partículas de 5 µm. A temperatura da coluna foi mantida em 40°C, com fase móvel de 95% acetonitrila / 5% água, utilizando eluição isocrática e fluxo da fase móvel de 1,5 mL/min. O volume injetado foi de 10 µL e comprimento de onda de detecção de 200 nm. A quantificação do aditivo butilhidroxitolueno (BHT) foi feita com base em curvas padrão de concentração *versus* área do pico do aditivo, utilizando-se padronização externa. A quantidade máxima de BHT também conhecido como aditivo plástico 07 que pode ser adicionada à embalagem plástica é de 0,125% (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008).

4.2.5 Estudo V – Avaliação dos cuidados de conservação das SPGV's armazenadas nos serviços de saúde

Foram realizadas visitas em cinco instituições hospitalares na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, para verificação das instalações de armazenamento das soluções parenterais.

Os locais de armazenamento foram avaliados conforme o estabelecido na Resolução RDC nº 45 de 12 de março de 2003, na Resolução RDC nº 17 de 16 de abril de 2010 e conforme o *Manual de Boas Práticas para Estocagem de Medicamentos* do Ministério da Saúde. Foram verificadas as condições da infraestrutura física indispensáveis para a correta conservação e estocagem dos medicamentos injetáveis; entre outras, higienização, luminosidade, ventilação, presença de procedimentos das atividades desenvolvidas no local, mapas de controle de temperatura e umidade relativa, controle de pragas. Além disso, foi verificada a integridade das caixas de transporte, embalagem secundária, bem como a presença de vazamento nas embalagens primárias, correlacionando com o empilhamento máximo e demais características descritas acima.

4.2.6 Análise Estatística

Quando aplicável, os dados foram analisados para avaliar se as diferenças são ou não estatisticamente significantes considerando um p maior ou igual a 0,05. Caso esse valor seja maior que o nível de significância adotado (erro ou α), conclui-se que a H_0 (a hipótese nula) é a hipótese verdadeira, caso contrário ficamos com H_1 , a hipótese alternativa (MAROCO, 2003).

- *Intervalo de Confiança para Média*

O intervalo de confiança para a Média é uma técnica utilizada quando queremos ver o quanto a média pode variar numa determinada probabilidade de confiança.

- *Teste de Mann-Whitney*

Teste não paramétrico, utilizado quando o número de amostras é pequeno, e independentes, comparando, as variáveis, sempre duas-a-duas. Considerando a seguinte hipótese:

$$\begin{cases} H_0: \text{As duas amostras provém de uma única população;} \\ H_1: \text{As duas amostras são de populações diferentes.} \end{cases}$$

- *Teste de Friedman*

Teste não paramétrico, aplicado para verificar o efeito ou não do tratamento sobre os indivíduos. É utilizado em dados pareados para comparar 3 ou mais variáveis qualitativas e ordinais simultaneamente. O teste considera a seguinte hipótese:

$$\begin{cases} H_0: \text{Os tratamentos não têm efeito;} \\ H_1: \text{Existe alguma diferença.} \end{cases}$$

- *Teste de Wilcoxon*

Teste não paramétrico, utilizado para verificar o efeito ou não do tratamento sobre os indivíduos. Determinar tanto a magnitude quanto a direção dos dados, comparando as variáveis duas a duas. O teste considera a seguinte hipótese:

$$\begin{cases} H_0: \text{Os tratamentos não têm efeito (não há diferença entre os grupos);} \\ H_1: \text{Os tratamentos têm efeito (há diferença entre os Grupos).} \end{cases}$$

- *Teste de Igualdade de Duas Proporções*

Teste não paramétrico, que compara se a proporção de respostas de duas determinadas variáveis e/ou seus níveis é estatisticamente significantes. Assim trabalhamos com as seguintes hipóteses:

$$\begin{cases} H_0 : p_1 = p_2 \\ H_1 : p_1 \neq p_2 \end{cases}$$

5. RESULTADOS

5.1 Avaliação das soluções segundo as recomendações da ANVISA (40°C/75%UR) e ICH (40°C/25% UR)

Todos os grupos cumprem com o disposto no Regulamento Técnico de Boas Práticas de Utilização das Soluções Parenterais (BRASIL, 2003) no que diz respeito ao sistema fechado de infusão. Além disso, todos os lotes utilizados encontravam-se dentro do prazo de validade. O tipo de embalagem plástica e prazo de validade estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6. Tipos de material de acondicionamento, com as respectivas datas de validade.

Fabricante	Tipo e material de acondicionamento	Data Validade
A	Bolsa flexível de Policloreto de vinila	Maio/2012
B	Frasco semi-rígido de Polietileno de baixa densidade	Agosto/2012
C	Bolsa de Polipropileno Trilaminado	Janeiro/2012
D	Bolsa de Polipropileno Trilaminado	Abril/2012

5.1.1 Avaliação dos dizeres do rótulo constante na embalagem primária

Os resultados referentes à avaliação dos dizeres do rótulo da embalagem primária estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Resultados da avaliação dos rótulos constante na embalagem primária.

Dizeres de rotulagem	A	B	C	D
Concentração do princípio ativo	+	+	+	+
Via de administração	+	+	+	+
Nome e dados do titular do registro ou logomarca	+	+	+	+
Telefone do Serviço de Atendimento ao Consumidor	+	+	+	+
Composição qualitativa e quantitativa (percentual)	+	+	+	+
Conteúdo eletrolítico em mEq/L ou mmol/L	+	+	+	+
Osmolaridade	+	+	+	+
Volume total	+	+	+	+
Número do lote	+	+	+	+
Data de fabricação (mês/ano)	+	-	+	+
Data de validade (mês/ano)	+	+	+	+
Código de barras	-	+	+	+
Cuidados de conservação	+	+	-	-
Nome do Responsável Técnico	+	+	+	+
Registro no Ministério da Saúde (MS)	+	Parcial	+	Parcial

Os itens como data de fabricação (mês/ano), cuidados de conservação, nome do Responsável Técnico e Registro no Ministério da Saúde (MS) são informações exigidas para a embalagem secundária ou caixa de transporte de medicamentos. É facultativa a impressão destas informações na embalagem primária (BRASIL, 2009). De acordo com a Farmacopéia Americana (2010), as informações de cuidado de conservação ou condições de armazenamento são exigidas para embalagem primária de medicamentos.

Apesar de não tratar-se de informação obrigatória para embalagem primária, os resultados referenciados como “parcial” referem-se aos Grupos B e D, cuja descrição do número do Registro no Ministério da Saúde (MS) encontra-se incompleta pelo fato de não apresentar os treze dígitos, conforme estabelecido na Resolução RDC nº 71 (BRASIL, 2009). Os dígitos apresentados nas embalagens dos Grupos C e D para codificação do número do MS referem-se a informações relativas ao fabricante e o produto ou concentração, impossibilitando rastrear a caracterização do tipo e volume da embalagem primária do produto.

As indicações de positivo e negativo referem-se às informações impressas ou não nas embalagens.

5.1.2 Identificação qualitativa de íons

Todas as amostras apresentaram-se satisfatórias para o ensaio de identificação qualitativa de íons sódio e cloreto, conforme o estabelecido pela Farmacopéia Americana (2010).

5.1.3 Determinação do pH

Os valores de pH das soluções foram determinados antes e após 3 e 6 meses de armazenamento. A Tabela 8 representa os valores de pH dos Grupos A, B, C e D realizados a 40°C/75% UR conforme estabelecido pela ANVISA e a 40°C/25% UR de acordo com a ICH. A Tabela 9 representa a estatística dos dados.

Tabela 8. Avaliação do pH dos Grupos A, B, C e D realizados a 40°C/75% UR (ANVISA) e 40°C/25% UR (ICH).

pH	Tempo (meses)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média
Grupo A	25% UR	0	4,87	4,82	4,78
		3	4,66	4,69	4,64
		6	4,61	4,63	4,58
	75% UR	0	5,35	5,35	5,27
		3	5,50	5,30	5,24
		6	5,20	5,16	5,18
Grupo B	25% UR	0	5,41	5,51	5,50
		3	5,45	5,42	5,42
		6	5,51	5,53	5,54
	75% UR	0	5,58	5,58	5,50
		3	5,44	5,42	5,51
		6	5,40	5,49	5,48
Grupo C	25% UR	0	5,90	5,82	5,82
		3	5,33	5,59	5,54
		6	5,74	5,76	5,80
	75% UR	0	5,83	5,83	5,86
		3	5,80	5,74	5,69
		6	5,74	5,81	5,80
Grupo D	25% UR	0	5,58	5,45	5,49
		3	5,27	5,16	5,13
		6	5,26	5,28	5,24
	75% UR	0	5,50	5,52	5,50
		3	5,55	5,52	5,58
		6	5,49	5,45	5,50

Tabela 9. Comparação entre o comportamento do pH dos Grupos A, B, C e D nos diferentes tempos de armazenamento com relação à exposição de 40°C/25% UR (ICH) e 40°C/75% UR (ANVISA).

pH	Tempo (meses)	Média	Mediana	Desvio Padrão	p-valor
Grupo A	0	4,82	4,82	0,04	<0,001*
	25% UR 3	4,66	4,66	0,02	
	6	4,61	4,61	0,02	
	0	5,32	5,34	0,04	0,001*
	75% UR 3	5,35	5,30	0,12	
	6	5,18	5,18	0,02	
Grupo B	0	5,48	5,50	0,05	0,001*
	25% UR 3	5,43	5,42	0,02	
	6	5,52	5,53	0,02	
	0	5,55	5,57	0,04	0,011*
	75% UR 3	5,46	5,44	0,04	
	6	5,46	5,48	0,04	
Grupo C	0	5,84	5,82	0,04	<0,001*
	25% UR 3	5,49	5,54	0,12	
	6	5,77	5,76	0,03	
	0	5,84	5,84	0,02	0,001*
	75% UR 3	5,74	5,74	0,05	
	6	5,78	5,79	0,03	
Grupo D	0	5,51	5,49	0,06	<0,001*
	25% UR 3	5,18	5,16	0,06	
	6	5,26	5,26	0,02	
	0	5,51	5,51	0,01	0,004*
	75% UR 3	5,55	5,55	0,03	
	6	5,48	5,49	0,02	

Teste Estatístico: Teste de *Friedman* e *Wilcoxon*.

*Significativo para $p < 0,05$

Fonte: Adams Estatística e Consultoria, 2011.

Os valores de pH estavam dentro da especificação da Farmacopéia Americana (2010) para os Grupos A, B, C e D, em todos os tempos, tanto a 40°C/75% UR quanto a 40°C/25% UR.

5.1.4 Determinação do Volume

Os valores de volume das soluções foram determinados antes e após 3 e 6 meses de armazenamento. A Tabela 10 representa os valores de volume (mL) dos Grupos A, B, C e D realizados a 40°C/75% UR conforme estabelecido pela ANVISA e a 40°C/25% UR de acordo com a ICH. A Tabela 11 representa a estatística dos dados.

Tabela 10. Avaliação do Volume (mL) dos Grupos A, B, C e D realizados a 40°C/75% UR (ANVISA) e 40°C/25% UR (ICH).

Volume	Tempo (meses)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	
Grupo A	25% UR	0	510,33	509,33	510,00	509,9
		3	509,67	511,00	511,00	510,6
		6	501,67	506,00	502,77	503,4
	75% UR	0	519,33	510,67	510,67	513,6
		3	519,33	510,67	501,67	510,6
		6	501,67	507,33	507,33	505,4
Grupo B	25% UR	0	519,33	519,33	520,67	519,8
		3	520,00	519,33	520,00	519,8
		6	510,00	510,33	518,67	513,0
	75% UR	0	518,67	519,33	528,67	522,2
		3	518,67	519,33	528,67	522,2
		6	519,33	523,33	523,33	522,0
Grupo C	25% UR	0	520,67	521,33	513,33	518,4
		3	503,33	491,67	503,33	499,4
		6	503,33	483,33	493,33	493,3
	75% UR	0	518,67	506,67	510,67	512,0
		3	538,67	501,67	511,33	517,2
		6	498,33	498,33	510,67	502,4
Grupo D	25% UR	0	491,67	493,33	491,67	492,2
		3	501,67	486,67	493,33	493,9
		6	503,33	488,33	491,67	494,4
	75% UR	0	510,67	490,67	510,67	504,0
		3	503,33	501,67	511,33	505,4
		6	496,67	503,33	503,33	501,1

Tabela 11. Comparação entre o comportamento do volume (mL) dos Grupos A, B, C e D nos diferentes tempos de armazenamento com relação à exposição de 40°C/25% UR (ICH) e 40°C/75% UR (ANVISA).

Volume	Tempo (meses)	Média	Mediana	Desvio Padrão	p-valor
Grupo A	25% UR	0	509,9	510	0,8
		3	510,6	510	1,0
		6	503,4	505	2,9
	75% UR	0	513,6	512	4,4
		3	510,6	510	7,8
		6	505,4	505	5,5
Grupo B	25% UR	0	519,8	520	1,2
		3	519,8	520	1,3
		6	513,0	511	4,3
	75% UR	0	522,2	520	4,9
		3	522,2	520	4,9
		6	522,0	520	2,9
Grupo C	25% UR	0	518,4	520	4,2
		3	499,4	500	6,3
		6	493,3	495	9,0
	75% UR	0	512,0	510	5,5
		3	517,2	512	16,7
		6	502,4	505	8,2
Grupo D	25% UR	0	492,2	490	2,6
		3	493,9	495	7,0
		6	494,4	490	7,3
	75% UR	0	504,0	510	10,0
		3	505,4	505	5,0
		6	501,1	500	4,9

Teste Estatístico: Teste de *Friedman* e *Wilcoxon*.

*Significativo para $p < 0,05$

Fonte: Adams Estatística e Consultoria, 2011.

Os resultados de volume para os Grupos estavam dentro dos limites especificados pela Farmacopéia Americana (2010), em todos os tempos, tanto a 40°C/75% UR quanto a 40°C/25% UR. Porém, algumas amostras dos Grupos C e D apresentaram resultados abaixo do limite de 500 mL (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

5.1.5 Determinação e contagem de Partículas

A contagem do número de partículas (10 μm e 25 μm) foram determinados antes e após 3 e 6 meses de armazenamento. A Tabela 12 representa os valores referentes à contagem do número de partículas para os Grupos A, B, C e D realizados a 40°C/75% UR conforme estabelecido pela ANVISA e a 40°C/25% UR de acordo com a ICH. O resultado é expresso como unidade de partículas (μm) por mL de solução e cada valor apresentado corresponde à média de 4 determinações.

Tabela 12. Avaliação da quantidade de partículas com tamanhos de 10 μm e 25 μm para os Grupos A, B, C e D.

Partículas ($\mu\text{m/mL}$)	Tempo (meses)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média
Grupo A	10 μm	0	8	7,5	4,75
		3	2	4	9,75
		6	12	3	2
	25 μm	0	0,75	1	0,25
		3	0,25	0,25	0,5
		6	0,25	0	0
Grupo B	10 μm	0	0,25	0,25	0,5
		3	16	1,5	3,25
		6	0	0	0
	25 μm	0	0,25	0	0,25
		3	1	0,25	2
		6	0	0	0
Grupo C	10 μm	0	7	10	7,5
		3	11	6,25	15
		6	4,5	6	10,75
	25 μm	0	0,25	1	0,25
		3	0	0	0,25
		6	0,25	0	0,25
Grupo D	10 μm	0	9,25	0,75	5,5
		3	4,25	3,5	5,25
		6	5	0,5	2,75
	25 μm	0	1,25	0	0
		3	0,75	0	0,5
		6	0	0,25	0

Os resultados, para o ensaio de partículas, foram satisfatórios para todos os Grupos e em todos os tempos, tanto para partículas de 10 μm quanto 25 μm .

5.1.6 Determinação da perda de peso

A determinação de perda de peso foi realizada antes e após 3 e 6 meses de armazenamento. A Tabela 13 representa os valores de peso (g) e as respectivas porcentagens de perda para os Grupos A, B, C e D, realizados a 40°C/75% UR conforme estabelecido pela ANVISA e a 40°C/25% UR de acordo com a ICH. A Tabela 14 representa a estatística dos dados.

Tabela 13. Avaliação do Peso (g) e as respectivas porcentagens de perda para os Grupos A, B, C e D realizados a 40°C/75% UR (ANVISA) e 40°C/25% UR (ICH).

Variação do Peso	Tempo (meses)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média
Grupo A	25% UR	0	547,64	546,90	546,96
		3	542,46	543,78	543,15
		6	539,29	539,54	538,23
		% Perda	1,52	1,35	1,60
	75% UR	0	538,78	546,33	547,84
		3	537,39	545,32	546,78
		6	536,96	545,00	546,43
		% Perda	1,01	0,73	0,77
Grupo B	25% UR	0	546,33	547,92	546,21
		3	544,30	544,74	544,33
		6	543,42	543,98	544,28
		% Perda	0,53	0,72	0,35
	75% UR	0	557,50	555,15	554,32
		3	557,05	554,66	553,80
		6	556,90	554,51	553,68
		% Perda	0,32	0,35	0,35
Grupo C	25% UR	0	542,01	537,74	525,46
		3	523,13	520,94	510,93
		6	519,22	514,72	505,24
		% Perda	4,20	4,28	3,85
	75% UR	0	522,58	527,62	520,94
		3	520,15	525,20	518,52
		6	519,44	524,49	517,82
		% Perda	1,80	1,78	1,80
Grupo D	25% UR	0	519,72	519,62	516,70
		3	519,05	512,63	514,52
		6	511,42	507,59	508,56
		% Perda	1,59	2,32	1,58
	75% UR	0	528,44	524,32	527,66
		3	527,12	522,95	526,23
		6	526,37	522,50	525,85
		% Perda	1,18	1,04	1,03

Para todos os Grupos A, B, C e D, pode-se observar que a perda de peso é maior no estudo realizado conforme as recomendações da ICH (40°C/25% UR), quando comparados aos resultados provenientes das condições de 40°C/75% UR, estabelecidas pela ANVISA. Porém, todos os valores apresentados estão adequados para a especificação de perda de peso de, no máximo, 2,5% ao ano (BRASIL, 2005).

Tabela 14. Comparação entre o comportamento do Peso (g) para os Grupos A, B, C e D nos diferentes tempos de armazenamento com relação à exposição de 40°C/25% UR (ICH) e 40°C/75% UR (ANVISA), determinados antes e após 3 e 6 meses de armazenamento.

Variação do Peso	Tempo (meses)	Média	Mediana	Desvio Padrão	p-valor
Grupo A	0	547,2	547	0,4	<0,001*
	25%UR 3	543,1	543	0,6	
	6	539,0	539	0,6	
	0	544,3	546	4,2	<0,001*
	75%UR 3	543,2	545	4,4	
	6	542,8	545	4,4	
Grupo B	0	546,8	546	0,8	<0,001*
	25%UR 3	544,5	544	0,2	
	6	543,9	544	0,4	
	0	555,7	555	1,4	<0,001*
	75%UR 3	555,2	555	1,5	
	6	555,0	555	1,4	
Grupo C	0	535,1	538	7,4	<0,001*
	25%UR 3	518,3	521	5,6	
	6	513,1	515	6,2	
	0	523,7	523	3,0	<0,001*
	75%UR 3	521,3	520	3,0	
	6	520,6	519	3,0	
Grupo D	0	518,7	520	1,5	<0,001*
	25%UR 3	515,4	515	2,9	
	6	509,2	509	1,7	
	0	526,8	528	1,9	<0,001*
	75%UR 3	525,4	526	1,9	
	6	524,9	526	1,8	

Teste Estatístico: Teste de *Friedman* e *Wilcoxon*.

*Significativo para $p < 0,05$

Fonte: Adams Estatística e Consultoria, 2011.

5.1.7 Determinação do Teor

A Farmacopéia Americana (2010) estabelece a realização do teor de cloreto de sódio para soluções injetáveis a 0,9% (m/v) por titulação utilizando eosina amarela como indicador. O método titulométrico foi realizado para os Grupos A, B, C e D durante o estudo a 40°C/75% UR (ANVISA), conforme item 4.2.1.10. Alternativamente, realizou-se validação para sódio pelo método de fotometria de chama, o qual foi utilizado para avaliação do teor dos Grupos A, B, C e D durante o estudo a 40°C/25% UR (ICH).

5.1.7.1 Validação do método

▪ Linearidade

A Tabela 15 apresenta os valores obtidos para a curva padrão. A linearidade do método foi determinada através do cálculo da equação da reta pelo método dos mínimos quadrados (Figura 8), cujo coeficiente linear obtido foi de 0,9998.

Tabela 15. Valores obtidos da leitura da curva padrão do método de fotometria de chama proposto para o teor de sódio nas amostras de solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v).

Concentração da curva ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Intensidade/resposta	Média	DPR*
1,0	0,503	0,503	0,40
	0,505		
	0,501		
3,0	1,500	1,50	0,67
	1,490		
	1,510		
5,0	2,590	2,59	0,59
	2,600		
	2,570		
7,0	3,590	3,61	0,55
	3,610		
	3,630		
10,0	5,130	5,11	0,41
	5,100		
	5,090		

*Desvio Padrão Relativo

Figura 8. Representação gráfica da curva padrão de sódio, obtida por fotometria de chama.

▪ *Precisão*

Os resultados obtidos das 06 amostras analisadas em triplicata para avaliar a repetibilidade do método analítico encontram-se na Tabela 16.

Tabela 16. Resultados do teor nas amostras de solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v).

Amostra	Leitura	Concentração de sódio (µg.mL ⁻¹)	Conversão para concentração de cloreto de sódio (%)	Média(%)	DPR*
1	1,82	3563	0,906	0,909	0,63
	1,82	3563	0,906		
	1,84	3602	0,916		
2	1,88	3679	0,935	0,929	0,62
	1,86	3640	0,926		
	1,86	3640	0,926		
3	1,81	3543	0,901	0,908	0,63
	1,83	3582	0,911		
	1,83	3582	0,911		
4	1,79	3504	0,891	0,898	0,64
	1,81	3543	0,901		
	1,81	3543	0,901		
5	1,85	3621	0,921	0,914	0,83
	1,82	3563	0,906		
	1,84	3602	0,916		
6	1,83	3582	0,911	0,911	0,55
	1,82	3563	0,906		
	1,84	3602	0,916		

*Desvio Padrão Relativo

O teor médio obtido para as amostras de solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v) foi de 0,912%.

▪ *Exatidão*

Os resultados obtidos para avaliação da exatidão do método proposto para as três concentrações analisadas encontram-se na Tabela 17. A exatidão foi calculada através da equação descrita no item 4.2.2.4.1 – *Exatidão*.

Tabela 17. Resultados da avaliação da exatidão do método para teor de sódio em amostras de solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v) por fotometria de chama.

Nível das amostras	Conc. Teórica ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Conc. experimental ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)*	Exatidão
95%	3363	3407	101,31
105%	3717	3777	101,61
115%	4071	4049	99,46

* cada valor corresponde à média de três determinações.

▪ *Robustez*

As Tabelas 18 e 19 representam os resultados de precisão e exatidão calculados para avaliar a robustez do método frente às diferentes condições analíticas citadas no item 4.2.2.4.1 – *Robustez*.

Tabela 18. Teste de robustez do método de teor de sódio ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) em amostras de solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v) com relação ao tempo de agitação da amostra diluída.

Amostra* ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Agitação 1 minuto	Agitação 3 minutos	Agitação 5 minutos
1	3543	3563	3582
2	3524	3563	3543
3	3504	3524	3582
Média	3524	3550	3569
Desvio Padrão	0,0117	0,0113	0,0132
Precisão	0,6477	0,6230	0,7269
Exatidão	99,54	100,28	100,82

* concentração teórica de 3540 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ de sódio.

Tabela 19. Teste de robustez do método de teor de sódio ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) em amostras de solução de cloreto de sódio 0,9% (m/v) com relação à temperatura da amostra.

Amostra* ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Temperatura ambiente (15°C – 30°C)	Temperatura 40°C
1	3537	3588
2	3549	3608
3	3517	3582
Média	3534	3593
Desvio Padrão	0,0080	0,0069
Precisão	0,4427	0,3732
Exatidão	99,85	101,49

* concentração teórica de $3540 \mu\text{g.mL}^{-1}$ de sódio.

▪ *Especificidade*

Para a avaliação da especificidade do método foram obtidos resultados não-quantificáveis, por tratar-se de água deionizada.

5.1.7.2 Avaliação dos resultados

A Tabela 20 representa os valores de teor de cloreto de sódio (%) para os Grupos A, B, C e D, realizados a 40°C/75% UR conforme estabelecido pela ANVISA e a 40°C/25% UR de acordo com a ICH. A Tabela 21 representa a estatística dos dados.

Tabela 20. Avaliação do teor de cloreto de sódio (%) para os Grupos A, B, C e D realizados a 40°C/75% UR (ANVISA) e 40°C/25% UR (ICH).

Teor Cloreto de Sódio	Tempo (meses)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	
Grupo A	25% UR	0	0,875	0,877	0,862	0,871
		3	0,919	0,877	0,877	0,891
		6	0,933	0,894	0,933	0,920
	75% UR	0	0,872	0,887	0,869	0,876
		3	0,868	0,874	0,882	0,874
		6	0,856	0,947	0,888	0,897
Grupo B	25% UR	0	0,878	0,862	0,862	0,867
		3	0,897	0,866	0,917	0,893
		6	0,894	0,894	0,856	0,881
	75% UR	0	0,874	0,885	0,875	0,878
		3	0,871	0,905	0,876	0,884
		6	0,887	0,888	0,906	0,894
Grupo C	25% UR	0	0,878	0,928	0,929	0,912
		3	0,917	0,954	0,916	0,929
		6	0,951	0,951	0,932	0,944
	75% UR	0	0,886	0,893	0,902	0,894
		3	0,884	0,913	0,924	0,907
		6	0,888	0,895	0,953	0,912
Grupo D	25% UR	0	0,879	0,879	0,879	0,879
		3	0,916	0,956	0,917	0,930
		6	0,932	0,951	0,932	0,939
	75% UR	0	0,888	0,897	0,883	0,889
		3	0,892	0,874	0,885	0,884
		6	0,955	0,897	0,946	0,933

Tabela 21. Comparação entre o comportamento do teor de cloreto de sódio (%) para os Grupos A, B, C e D nos diferentes tempos de armazenamento com relação à exposição de 40°C/25% UR (ICH) e 40°C/75% UR (ANVISA).

Teor Cloreto de Sódio	Tempo (meses)	Média	Mediana	Desvio Padrão	p-valor
Grupo A	25% UR	0	0,871	0,874	0,007
		3	0,891	0,877	0,021
		6	0,920	0,932	0,019
	75% UR	0	0,876	0,872	0,008
		3	0,874	0,874	0,006
		6	0,897	0,888	0,040
Grupo B	25% UR	0	0,867	0,862	0,008
		3	0,893	0,896	0,022
		6	0,881	0,893	0,019
	75% UR	0	0,878	0,876	0,005
		3	0,884	0,876	0,016
		6	0,894	0,888	0,009
Grupo C	25% UR	0	0,912	0,928	0,025
		3	0,929	0,919	0,019
		6	0,944	0,950	0,009
	75% UR	0	0,894	0,893	0,007
		3	0,907	0,914	0,018
		6	0,912	0,895	0,031
Grupo D	25% UR	0	0,879	0,879	0,001
		3	0,930	0,919	0,020
		6	0,939	0,933	0,009
	75% UR	0	0,889	0,888	0,006
		3	0,884	0,885	0,008
		6	0,933	0,946	0,027

Teste Estatístico: Teste de *Friedman* e *Wilcoxon*.

*Significativo para $p < 0,05$

Fonte: Adams Estatística e Consultoria, 2011.

Os Grupos A, B, C e D apresentaram resultados satisfatórios para o ensaio de teor, em todos os tempos do estudo, tanto nas condições de 40°C/75% UR (ANVISA) quanto de 40°C/25% UR (ICH).

5.1.8 Determinação de contaminantes microbiológicos

5.1.8.1 Ensaio de esterilidade

Em relação ao ensaio de esterilidade, as amostras dos Grupos A, C e D, permaneceram estéreis no início e após 6 meses. Porém, no ensaio de esterilidade realizado na amostra do Grupo B no período de 6 meses, foi observada turvação após 7 dias de incubação somente para o tubo referente ao meio de cultura Caseína Soja, a qual proporcionou evidência de crescimento microbiano neste meio, conforme pode ser observado na Tabela 22.

Tabela 22. Avaliação do ensaio de esterilidade para os Grupos A, B, C e D.

Grupo	Tempo 0		Tempo 6	
	Esterilidade 7 dias	Esterilidade 14 dias	Esterilidade 7 dias	Esterilidade 14 dias
A	Estéril	Estéril	Estéril	Estéril
B	Estéril	Estéril	Não estéril	Não estéril
C	Estéril	Estéril	Estéril	Estéril
D	Estéril	Estéril	Estéril	Estéril

Para confirmação do resultado insatisfatório para amostra do Grupo B, foi realizada a repetição do ensaio de esterilidade, procedendo com o mesmo número de amostras realizadas anteriormente. Porém, novamente após 7 dias de incubação observou-se turvação do meio Caseína Soja. Em todas as análises de esterilidade e para o re-teste, foram realizadas leituras em 7 e após 14 dias de incubação para os 2 tipos de meios de cultura utilizados: Caldo Caseína Soja e Caldo Tioglicolato. De acordo com a Farmacopéia Americana, os meios de cultura utilizados, caldos Tioglicolato e Caseína-Soja, são considerados adequados para o teste de esterilidade. O meio Tioglicolato é destinado principalmente para a cultura de bactérias anaeróbicas. No entanto, este também irá detectar bactérias aeróbias. O meio Caseína-Soja é adequado para a cultura de fungos e bactérias aeróbias. Após leitura, o resultado foi insatisfatório para o ensaio de esterilidade da amostra do Grupo B, comprovando o ensaio fora das especificações estabelecidas pela Farmacopéia Americana (2010).

Como complementação ao teste de esterilidade para as embalagens de polietileno do Grupo B foram analisados outros dois lotes, de mesmo tipo (frasco-ampola) e material plástico. Um lote seria proveniente do mesmo fabricante do Grupo B e o segundo foi adquirido de outro fabricante. Para tanto, foram realizadas outras técnicas de assepsia e verificação de possíveis microfuros. Os frascos foram mergulhados em solução antisséptica de violeta de genciana e devido à coloração pôde-se verificar a presença de possíveis microfuros que eventualmente podem estar presentes nas embalagens. Apenas uma única embalagem proveniente do outro fabricante da embalagem de polietileno apresentou evidências para a presença de microfuro, a qual foi descartada e não utilizada no ensaio. Além disso, cada amostra foi filtrada, separadamente, utilizando uma membrana e um meio para poder identificar a esterilidade de cada amostra, individualmente. Todas as amostras testadas não apresentaram crescimento microbiano.

5.1.8.2 Ensaio de endotoxinas bacterianas

As amostras dos Grupos A, B, C e D analisadas foram satisfatórias para o ensaio de endotoxinas bacterianas, tanto no início quanto após 6 meses de armazenamento.

5.2 Ensaio físico das embalagens para acondicionamento de soluções parenterais

5.2.1 Espessura da embalagem primária e invólucro protetor

As espessuras das embalagens primárias dos Grupos A, B, C e D estão representadas na Tabela 23 e contém informações sobre a espessura do material plástico da região que contém a identificação/rotulagem da embalagem (frente) e a parede do fundo da mesma.

Tabela 23. Determinação da espessura (mm) das embalagens primárias dos Grupos A, B, C e D.

Grupo	Espessura da frente	Espessura do fundo
A	0,39 a 0,40	0,35 a 0,36
B	0,44 a 0,47	0,37 a 0,39
C	0,21 a 0,23	0,20 a 0,21
D	0,19 a 0,21	0,20 a 0,21

De acordo com a bula do produto e, também, no observado com a inspeção visual as embalagens dos Grupos A, C e D possuem invólucro protetor constituído por diferentes materiais e espessuras, conforme representado na Tabela 24.

A embalagem identificada como B não possui invólucro que envolve a embalagem primária, porém dispõe de lacre protetor localizado nos sítios de inserção do equipo presente na tampa. Este lacre está em contato com a embalagem primária e representa uma forma de proteção que deve ser removida antes da utilização.

Tabela 24. Polímeros que compõem o invólucro protetor das embalagens e as respectivas espessuras (mm).

Grupo	Tipo material invólucro protetor	Espessura
A	Polietileno de Alta Densidade	0,15 mm
B	Não possui invólucro	Não aplicável
C	Polipropileno biorientado (BOPP) – 1 camada –	0,03 mm
D	Filme de polipropileno	0,07 mm

5.2.2 Resistência à pressão após ciclo gela/degela

A Tabela 25 representa a avaliação das embalagens frente ao ensaio de resistência à pressão após ciclo gela/degela para avaliação de vazamento.

Tabela 25. Avaliação da presença de vazamento por meio do ensaio de Resistência à pressão após ciclo gela/degela para os Grupos A, B, C e D.

	Ensaio de resistência à pressão após ciclo gela/degela			
	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Amostra 1	Satisfatório	Satisfatório	Insatisfatório	Satisfatório
Amostra 2	Satisfatório	Satisfatório	Insatisfatório	Satisfatório
Amostra 3	Satisfatório	Satisfatório	Insatisfatório	Insatisfatório
Amostra 4	Satisfatório	Satisfatório	Insatisfatório	Insatisfatório
Amostra 5	Satisfatório	Satisfatório	Insatisfatório	Insatisfatório
Amostra 6	Satisfatório	Satisfatório	Insatisfatório	Insatisfatório
Amostra 7	Satisfatório	Satisfatório	Satisfatório	Insatisfatório
Resultado	Aprovado	Aprovado	Reprovado	Reprovado

Tabela 26. Comparação entre os Grupos A, B, C e D para a avaliação da presença de vazamento por meio do ensaio de Resistência à pressão após ciclo gela/degela.

	Ensaio de resistência à pressão após ciclo gela/degela	
	Insatisfatório (%)	Satisfatório (%)
Grupo A	0%	100%
Grupo B	0%	100%
Grupo C	85,7%	14,3%
Grupo D	71,4%	28,6%

Teste Estatístico: Teste de *Igualdade de Duas Proporções*.

Fonte: Adams Estatística e Consultoria, 2011.

Para o Grupo A realizou-se o ensaio à pressão interna de 40 kPa, pois foi a máxima pressão atingida por este grupo.

As amostras 1, 2, 3 e 4 do Grupo C apresentaram rupturas da parte superior da embalagem, próximas aos pontos de injeção do equipo e administração de medicamento. A amostra 5 pertencente ao mesmo grupo apresentou ruptura da solda lateral da embalagem, apresentando extravazamento de toda a solução.

As embalagens do Grupo D tiveram resultados insatisfatórios devido ao vazamento de solução na parte superior do recipiente, próximo à alça de sustentação.

5.2.3 Capacidade de penetração, força de adesão do equipo e impermeabilidade do ponto de inserção

A Tabela 27 representa os valores referentes à Força Máxima (N) obtida para a introdução e retirada dos dispositivos de infusão para avaliação da capacidade de penetração e força de adesão. A análise estatística está apresentada na Tabela 28.

Tabela 27. Avaliação dos resultados de Força Máxima (N) necessária para penetração e retirada do equipo para os Grupos A, B, C e D.

	Força Penetração do equipo (N)				Força retirada do equipo (N)			
	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Amostra 1	116,22	72,22	304,43	258,34	97,78	26,61	140,83	54,34
Amostra 2	95,34	103,85	261,69	195,48	76,89	30,07	133,23	92,95
Amostra 3	79,57	80,92	220,86	303,17	74,94	27,44	115,66	48,89
Amostra 4	87,09	84,88	305,76	296,35	83,91	27,96	98,98	49,16
Amostra 5	137,68	79,53	247,17	247,04	91,10	24,54	167,32	44,24
Amostra 6	140,76	90,57	197,93	219,60	78,64	29,42	204,52	39,29
Amostra 7	78,07	76,58	204,12	304,54	102,80	30,18	102,57	57,53
Média	105,0	84,1	248,9	260,6	86,6	28,0	137,6	55,2

Os ensaios de impermeabilidade do ponto de inserção do equipo realizados após a penetração deste foram satisfatórias para todos os Grupos A, B, C e D. Porém, o Grupo B apresentou a menor força necessária para remoção do equipo.

Tabela 28. Comparação entre os Grupos A, B, C e D para o teste de força de penetração e retirada do equipo (N).

	Força Penetração do equipo (N)				Força retirada do equipo (N)			
	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Média	105,0	84,1	248,9	260,6	86,6	28,0	137,6	55,2
Mediana	95,3	80,9	247,2	258,3	83,9	28,0	133,2	49,2
Desvio Padrão	26,6	10,5	44,5	43,1	10,9	2,1	37,8	17,7
p-valor	<0,001*				<0,001*			

Teste Estatístico: Teste de *Kruskal-Wallis*.

*Significativo para $p < 0,05$

Fonte: Adams Estatística e Consultoria, 2011.

5.2.4 Estanqueidade no ponto de injeção

A Tabela 29 representa os valores referentes à Força Máxima (N) obtida para a introdução das agulhas com especificações de 0,6 mm x 25 mm e 1,20 mm x 40 mm. A análise estatística está apresentada na Tabela 30.

Tabela 29. Avaliação da Força Máxima (N) necessária para introdução das agulhas com especificações de 0,6 mm x 25 mm e 1,20 mm x 40 mm para os Grupos A, B, C e D.

	Força de inserção da agulha (N)							
	Agulha 0,6 mm x 25 mm				Agulha 1,20 mm x 40 mm			
	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Amostra 1	1,15	4,56	5,69	1,30	3,14	5,31	9,02	2,88
Amostra 2	1,37	4,89	4,35	1,27	3,35	8,16	11,37	5,67
Amostra 3	0,96	3,61	5,17	1,31	3,45	6,67	10,08	3,99
Amostra 4	1,21	4,78	5,40	1,39	2,83	8,70	9,37	4,02
Amostra 5	1,05	5,33	5,27	1,26	2,58	7,67	7,66	4,16
Amostra 6	1,32	3,61	6,80	1,35	2,44	9,08	8,29	2,92
Amostra 7	1,14	5,24	5,72	1,23	2,80	7,19	9,66	3,14
Média	1,17	4,57	5,49	1,30	2,94	7,54	9,35	3,83

O ensaio de estanqueidade do ponto na qual são introduzidas as agulhas apresentou-se satisfatório para todos os Grupos A, B, C e D, tanto após a inserção da agulha com especificações de 0,6 mm x 25 mm quanto para a agulha 1,20 mm x 40 mm.

Tabela 30. Comparação entre os Grupos A, B, C e D para o teste de Força máxima (N) de Inserção das agulhas com especificações de 0,6 mm x 25 mm e 1,20 mm x 40 mm.

	Força de inserção da agulha (N)							
	Agulha 0,6 mm x 25 mm				Agulha 1,20 mm x 40 mm			
	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Média	2,94	7,54	9,35	3,83	1,17	4,57	5,49	1,30
Mediana	1,2	4,8	5,4	1,3	2,8	7,7	9,4	4,0
Desvio Padrão	0,38	1,29	1,21	0,98	0,14	0,71	0,74	0,05
p-valor	<0,001*				<0,001*			

Teste Estatístico: Teste de *Kruskal-Wallis*.

*Significativo para $p < 0,05$

Fonte: Adams Estatística e Consultoria, 2011.

5.2.5 Resistência à queda, transparência, alça de sustentação e identificação

Os resultados dos ensaios de resistência à queda, testes para verificação da transparência, integridade da alça de sustentação e identificação foram satisfatórios para todos os Grupos A, B, C, D.

5.2.6 Permeabilidade ao vapor d'água ou Taxa de Transmissão de vapor d'água

A Tabela 31 representa os resultados de taxa de permeabilidade ao vapor d'água expressa em (g água/embalagem.dia) e expressa em % por ano e a análise estatística está apresentada na Tabela 32.

Tabela 31. Taxa permeabilidade ao vapor d'água expressa em (g água/embalagem.dia) e (%/ano) para os Grupos A, B, C e D.

	Taxa Permeabilidade ao vapor de água (TPVA)							
	TPVA (g água/embalagem.dia)				TPVA (%/ano)			
	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Amostra 1	0,0100	0,0030	0,0150	0,0100	2,190	0,657	3,285	2,190
Amostra 2	0,0100	0,0040	0,0140	0,0120	2,190	0,876	3,066	2,628
Amostra 3	0,0100	0,0020	0,0160	0,0100	2,190	0,438	3,504	2,190
Amostra 4	0,0100	0,0020	0,0150	0,0100	2,190	0,438	3,285	2,190
Amostra 5	0,0100	0,0030	0,0160	0,0080	2,190	0,657	3,504	1,752
Amostra 6	0,0100	0,0030	0,0160	0,0100	2,190	0,657	3,504	2,190
Amostra 7	0,0100	0,0030	0,0150	0,0090	2,190	0,657	3,285	1,971
Amostra 8	0,0100	0,0030	0,0160	0,0090	2,190	0,657	3,504	1,971
Amostra 9	0,0100	0,0020	0,0140	0,0090	2,190	0,438	3,066	1,971
Amostra10	0,0200	0,0030	0,0150	0,0110	4,380	0,657	3,285	2,409
Média	0,0110	0,0028	0,0152	0,0098	2,409	0,613	3,329	2,146
Desvio Padrão	0,003	0,001	0,001	0,001	0,693	0,139	0,173	0,249

Pode ser observada a menor Taxa de Permeabilidade ao vapor de água (TPVA) para o Grupo B.

Tabela 32. Comparação entre os Grupos A, B, C e D para a avaliação da Taxa permeabilidade ao vapor d'água expressa em (g água/embalagem.dia) e (%/ano) para os Grupos A, B, C e D.

	Taxa Permeabilidade ao vapor de água (TPVA)							
	TPVA (g água/embalagem.dia)				TPVA (%/ano)			
	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Média	0,0110	0,0028	0,0152	0,0098	2,409	0,613	3,329	2,146
Mediana	0,010	0,003	0,015	0,010	2,190	0,657	3,285	2,190
Desvio Padrão	0,0032	0,0006	0,0008	0,0011	0,693	0,139	0,173	0,249
p-valor	<0,001*				<0,001*			

Teste Estatístico: Teste de *Kruskal-Wallis*.

*Significativo para $p < 0,05$

Fonte: Adams Estatística e Consultoria, 2011.

5.2.7 Resistência à tração para embalagens flexíveis

Na Tabela 33 estão apresentados os resultados obtidos na determinação das propriedades de tração das amostras dos Grupos A, C e D. Os valores são referentes à 10 determinações.

Tabela 33. Propriedades de tração das amostras dos Grupos A, C e D.

Amostra		Propriedades de tração		
		Resistência máxima à tração (MPa)	Alongamento na ruptura (%)	Fator de ruptura (N/mm)
A	M	20,0	513	7,26
	IV	18,8 – 21,5	482 - 545	6,75 – 7,54
	CV (%)	3,9	3,8	3,3
C	M	28,2	794	5,77
	IV	20,2 – 31,6	702 - 829	4,05 – 6,39
	CV (%)	13	4,8	13
D	M	25,1	784	5,26
	IV	17,7 – 28,6	698 - 836	3,70 – 6,15
	CV (%)	14	5,3	15

M/IV/CV: Média/Intervalo de variação/Coeficiente de variação

1 N=0,102kgf

Verificou-se desempenho diferenciado quando submetidos à tração os materiais que compõem as amostras das bolsas, sendo que o material da bolsa de PVC (Grupo A) de maior espessura, se distingue dos materiais das demais amostras dos Grupos C e D, constituídos por filme coextrusado poliolefínico de menor espessura.

5.3 Ensaios químicos das embalagens para acondicionamento de soluções parenterais

5.3.1 Ensaios de identificação

5.3.1.1 Ensaio de identificação por Espectrofotometria na região do infravermelho

O espectro de absorção do padrão de polivinilcloro, polietileno e polipropileno na região do infravermelho presente no banco de dados espectrais *KnowItAll-U[®]*, distribuído pela Bio-Rad, estão representadas nas Figuras 9, 11 e 13, respectivamente. Os espectros das amostras dos Grupos A, B, C e D estão representados nas Figuras 10, 12, 14 e 15, respectivamente.

Figura 9. Espectro de absorção padrão de polivinilcloro na região do infravermelho (*KnowItAll-U[®]*)

Figura 10. Espectro de absorção da amostra do Grupo A na região do infravermelho.

Figura 11. Espectro de absorção padrão de polietileno na região do infravermelho (*KnowItAll-U[®]*).

Figura 12. Espectro de absorção da amostra do Grupo B na região do infravermelho.

Figura 13. Espectro de absorção padrão de polipropileno na região do infravermelho (*KnowItAll-U®*).

Figura 14. Espectro de absorção da amostra do Grupo C na região do infravermelho.

Figura 15. Espectro de absorção da amostra do Grupo D na região do infravermelho.

Os materiais constituídos por polietileno apresentam picos de absorção nos comprimentos de onda em torno de 720 cm^{-1} , 730 cm^{-1} , 1465 cm^{-1} , 2850 cm^{-1} e 2920 cm^{-1} . Os materiais que possuem polipropileno em sua constituição apresentam picos em 970 cm^{-1} , 995 cm^{-1} , 1170 cm^{-1} e 1375 cm^{-1} , os quais podem ser confirmados com os espectros padrões (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008). A análise de infravermelho para materiais de

PVC apresenta bandas características do polímero em 625 cm^{-1} , 695 cm^{-1} , 1250 cm^{-1} e 2900 cm^{-1} (SILVERSTAIN, BASSLER, MORRIL, 1994).

Os espectros padrões analisados são representativos dos polímeros puros, os quais são semelhantes às amostras. Podem ser identificadas algumas diferenças nos espectros devido à presença de aditivos utilizados na fabricação das embalagens plásticas. Os espectros das amostras analisadas estão dentro dos padrões estabelecidos para os ensaios de identificação do material plástico.

Os espectros das amostras analisadas estão dentro dos padrões estabelecidos para os ensaios de identificação do material plástico.

5.3.1.2 Ensaio de identificação específico para material plástico de polipropileno dos Grupos C e D

Segundo a Farmacopéia Européia (2008), o ensaio de identificação específico para embalagens plásticas que contenham polipropileno na formulação envolve a preparação da amostra descrita no item e é considerada positiva nos casos em que é desenvolvida uma coloração laranja-amarelada. As amostras dos Grupos C e D analisadas tiveram resultados satisfatórios para o ensaio de identificação para polipropileno.

5.3.2 Aparência da solução

De acordo com o estabelecido na Farmacopéia Européia (2008), a avaliação da aparência da solução deve ser límpida e incolor. As amostras dos Grupos A, B, C e D analisadas apresentaram-se dentro dos limites especificados para cada material de embalagem.

5.3.3 Acidez e alcalinidade

Os resultados do ensaio de acidez e alcalinidade referentes aos Grupos A, B, C e D estão representados na Tabela 34. A análise estatística encontra-se na Tabela 35. Cada valor corresponde à média de 3 determinações.

Tabela 34. Avaliação do ensaio de acidez (mL) e alcalinidade (mL) das amostras dos Grupos A, B, C e D.

	Acidez				Alcalinidade			
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média
Grupo A	0,87	0,77	0,93	0,86	0,40	0,27	0,30	0,32
Grupo B	0,73	0,70	0,87	0,77	0,27	0,30	0,33	0,30
Grupo C	0,73	0,67	0,63	0,68	0,43	0,37	0,47	0,42
Grupo D	0,37	0,43	0,47	0,42	1,43	1,50	1,63	1,52

Tabela 35. Comparação entre os Grupos A, B, C e D para o teste de Acidez e Alcalinidade.

	Acidez				Alcalinidade			
	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Média	0,86	0,77	0,68	0,42	0,32	0,30	0,42	1,52
Mediana	0,90	0,80	0,70	0,40	0,30	0,30	0,40	1,50
Desvio Padrão	0,09	0,10	0,07	0,07	0,09	0,07	0,07	0,11
p-valor	<0,001*				<0,001*			

Teste Estatístico: Teste de *Kruskal-Wallis*.

*Significativo para $p < 0,05$

Fonte: Adams Estatística e Consultoria, 2011.

A avaliação da acidez e alcalinidade das Soluções S1 ou S2 foi analisada pela observação do volume (mL) de hidróxido de sódio 0,01M e ácido clorídrico 0,01M necessários para alterar a coloração da solução. Apenas os Grupos A, B e C apresentaram resultados satisfatórios para o ensaio de acidez e alcalinidade.

5.3.4 Absorbância

Os resultados dos ensaios de absorbância das Soluções S1 ou S2 referentes aos Grupos A, B, C e D estão representados na Tabela 36 e a análise estatística na Tabela 37. As leituras foram realizadas em comprimentos de onda de 250,5 nm; 220,4 nm e 220,2 nm, respectivamente, para os Grupos A, B, C e D. Cada valor corresponde à média de 3 determinações.

Tabela 36. Avaliação do ensaio de Absorbância (nm) para os Grupos A, B, C e D.

	Absorbância (nm)			
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média
Grupo A	0,014	0,028	0,017	0,020
Grupo B	0,044	0,047	0,046	0,046
Grupo C	0,125	0,126	0,125	0,126
Grupo D	0,153	0,153	0,152	0,153

Tabela 37. Comparação entre os Grupos A, B, C e D para o ensaio de Absorbância (nm).

	Absorbância (nm)			
	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Média	0,020	0,046	0,126	0,153
Mediana	0,017	0,046	0,125	0,153
Desvio Padrão	0,007	0,001	0,002	0,002
p-valor	<0,001*			

Teste Estatístico: Teste de *Kruskal-Wallis*.

*Significativo para $p < 0,05$

Fonte: Adams Estatística e Consultoria, 2011.

Todos os Grupos A, B, C e D apresentaram resultados satisfatórios, conforme especificado pela Farmacopéia Européia (2008).

5.3.5 Substâncias redutoras

O ensaio de substâncias redutoras das Soluções S1 ou S2 foi avaliado através da titulação com tiosulfato de sódio 0,01M. Os resultados dos volumes da titulação e a diferença entre os volumes da titulação das amostras e do branco estão representados na Tabela 38. A análise estatística do resultado final está representada na Tabela 39. Cada valor corresponde à média de 3 determinações.

Tabela 38. Avaliação do ensaio de Substâncias Redutoras (mL) para os Grupos A, B, C e D.

		Substâncias Redutoras (mL)			Média
		Volume do branco	Volume da amostra	Diferença entre os volumes da titulação	
Grupo A	Amostra 1		16,7	1,23	
	Amostra 2	17,9	16,6	1,27	1,20
	Amostra 3		16,8	1,10	
Grupo B	Amostra 1		17,1	0,67	
	Amostra 2	17,8	17,6	0,23	0,43
	Amostra 3		17,4	0,40	
Grupo C	Amostra 1		15,2	1,27	
	Amostra 2	16,5	14,9	1,53	1,24
	Amostra 3		15,6	0,93	
Grupo D	Amostra 1		13,2	2,83	
	Amostra 2	16,0	12,6	3,37	3,20
	Amostra 3		12,6	3,4	

Tabela 39. Comparação entre os Grupos A, B, C e D para o ensaio de Substâncias Redutoras (mL).

	Substâncias Redutoras			
	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Média	1,20	0,43	1,24	3,20
Mediana	1,20	0,40	1,30	3,30
Desvio Padrão	0,11	0,20	0,27	0,29
p-valor	<0,001*			

Teste Estatístico: Teste de *Kruskal-Wallis*.

*Significativo para $p < 0,05$

Fonte: Adams Estatística e Consultoria, 2011.

Os Grupos A e B apresentaram resultados dentro do limite especificado pela Farmacopéia Européia (2008) para o ensaio de substâncias redutoras.

5.3.6 Substâncias solúveis em hexano

Os resultados da avaliação de substâncias solúveis em hexano para os Grupos B, C e D estão representados na Tabela 40 e a análise estatística está representada na Tabela 41. Cada valor corresponde à média de 3 determinações.

Tabela 40. Resultados do resíduo (%) obtido para a avaliação de Substâncias Solúveis em Hexano para os Grupos B, C e D.

	Substâncias solúveis em Hexano (resíduo %)			
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média
Grupo A	-x-	-x-	-x-	-x-
Grupo B	0,400	0,467	0,400	0,422
Grupo C	1,667	1,533	1,767	1,656
Grupo D	1,300	1,433	1,333	1,356

Legenda: - x – Ensaio não aplicável ao Grupo A.

Tabela 41. Comparação entre os Grupos B, C e D para o ensaio de Substâncias Solúveis em Hexano.

	Substâncias solúveis em Hexano (resíduo %)			
	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Média	- x -	0,422	1,656	1,356
Mediana	- x -	0,400	1,700	1,300
Desvio Padrão	- x -	0,083	0,133	0,101
p-valor	<0,001*			

Legenda: - x – Ensaio não aplicável ao Grupo A.

Teste Estatístico: Teste de *Kruskal-Wallis*.

*Significativo para $p < 0,05$

Fonte: Adams Estatística e Consultoria, 2011.

As amostras analisadas quanto ao ensaio de substâncias solúveis em hexano apresentaram resultados satisfatórios para todos os Grupos A, B, C e D, conforme disposto na Farmacopéia Européia (2008).

5.3.7 Metais Pesados extraíveis

O ensaio de metais pesados extraíveis é considerado um ensaio-limite, conforme estabelecido pela Farmacopéia Européia (2008). As amostras dos Grupos A, B, C e D analisadas quanto ao ensaio limite de metais pesados extraíveis apresentaram-se dentro dos limites especificados para cada tipo de material de embalagem.

5.3.8 Cinzas sulfatadas

Os resultados obtidos de cinzas sulfatadas para os Grupos A, B, C e D encontram-se na Tabela 42. A análise estatística está representada na Tabela 43. Cada valor corresponde à média de 3 determinações.

Tabela 42. Avaliação do ensaio de cinzas sulfatadas (%) para os Grupos A, B, C e D.

	Cinzas Sulfatadas (%)			
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média
Grupo A	≤ 0,05000	≤ 0,05000	≤ 0,05000	≤ 0,05000
Grupo B	≤ 0,01000	≤ 0,01000	≤ 0,01000	≤ 0,01000
Grupo C	0,08000	0,08333	0,07667	0,08000
Grupo D	0,08333	0,08667	0,07333	0,08111

Tabela 43. Comparação entre os Grupos A, B, C e D para o ensaio de cinzas sulfatadas (%).

	Cinzas Sulfatadas (%)			
	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Média	0,05000	0,01000	0,08000	0,08111
Mediana	0,05000	0,01000	0,08000	0,08000
Desvio Padrão	0	0	0,00866	0,00782
p-valor	<0,001*			

Teste Estatístico: Teste de *Kruskal-Wallis*.

*Significativo para $p < 0,05$

Fonte: Adams Estatística e Consultoria, 2011.

Os resultados encontrados para o ensaio de teor de cinzas sulfatadas estavam abaixo do limite especificado e atendem ao estabelecido pela Farmacopéia Européia (2008).

5.3.9 Ensaio de metais

Na Tabela 44 pode ser observado que os coeficientes de correlação foram sempre superiores a 0,99, o qual cumpre com o valor mínimo aceitável pela ANVISA (BRASIL, 2003).

Tabela 44. Coeficientes angulares e coeficientes de correlação (R) das curvas analíticas para cada analito.

Analito	Coeficiente angular	Coeficiente correlação (R)
²⁷ Al	6149,48	0.999592
⁵² Cr	9583,63	0.999991
⁴⁸ Ti	1199,35	0.999994
⁵¹ V	10270,12	0.999992
⁶⁵ Zn	1872,22	0.999771
⁴⁰ Ca	19,304884	0,999994
¹³⁷ Ba	19967,21	0,999990
¹¹⁹ Sn	6545,90	0,999996
¹¹² Cd	2134,42	0,999981

5.3.9.1 Determinação de metais do Grupo A

A Tabela 45 representa os resultados dos metais cádmio, estanho, zinco, bário e cálcio para o Grupo A. Cada valor corresponde à média de 3 determinações.

Tabela 45. Determinação dos ensaios de metais para o Grupo A.

	Metais ($\mu\text{g.L}^{-1}$)			
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média
Cádmio	0,003	0,002	0,002	0,002
Estanho	0,001	0,002	0,002	0,002
Zinco	0,253	0,251	0,261	0,255
Bário	0,013	0,017	0,016	0,015
Cálcio	1,897	2,036	2,048	1,994

O Grupo A apresentou resultados satisfatórios para os metais bário, cádmio, estanho e zinco, conforme estabelecido pela Farmacopéia Européia (2008).

5.3.9.2 Determinação de metais dos Grupos C e D

A Tabela 46 representa os resultados dos metais alumínio, cromo, titânio, vanádio e zinco para as amostras dos Grupos C e D. Cada valor corresponde à média de 3 determinações. A análise estatística está representada na Tabela 47.

Tabela 46. Determinação dos ensaios de metais ($\mu\text{g.L}^{-1}$) para os Grupos C e D.

		Metais ($\mu\text{g.L}^{-1}$)				
		Alumínio	Cromo	Titânio	Vanádio	Zinco
Grupo C	Amostra 1	0,157	0,032	0,015	0,075	0,151
	Amostra 2	0,156	0,026	0,009	0,075	0,161
	Amostra 3	0,174	0,035	0,027	0,070	0,164
	Média	0,162	0,031	0,017	0,073	0,159
Grupo D	Amostra 1	0,117	0,023	0,009	0,077	0,076
	Amostra 2	0,144	0,023	0,014	0,076	0,078
	Amostra 3	0,158	0,025	0,015	0,071	0,074
	Média	0,140	0,024	0,013	0,075	0,076

Tabela 47. Comparação entre os Grupos C e D para o ensaio de metais em $\mu\text{g.L}^{-1}$.

		Metais ($\mu\text{g.L}^{-1}$)				
		Alumínio	Cromo	Titânio	Vanádio	Zinco
Grupo C	Média	0,162	0,031	0,017	0,073	0,159
	Mediana	0,160	0,031	0,016	0,072	0,160
	Desvio Padrão	0,010	0,004	0,009	0,004	0,006
Grupo D	Média	0,140	0,024	0,013	0,075	0,076
	Mediana	0,145	0,023	0,013	0,074	0,076
	Desvio Padrão	0,019	0,003	0,003	0,004	0,003
p-valor		0,013*	0,003*	0,131	0,330	<0,001*

Teste Estatístico: Teste de *Mann-Whitney*.

*Significativo para $p < 0,05$

Fonte: Adams Estatística e Consultoria, 2011.

Os Grupos C e D apresentaram resultados de metais dentro dos limites estabelecidos pela Farmacopéia Européia (2008).

5.3.10 Ensaio de cloreto de vinila

5.3.10.1 Curva analítica

A Figura 16 representa a curva analítica da solução padrão de cloreto de vinila obtida por cromatógrafo gasoso. As Figuras 17 e 18 representam os cromatogramas obtidos para o branco e a solução padrão de cloreto de vinila, obtidos por cromatógrafo gasoso.

Figura 16. Representação gráfica da curva analítica da solução padrão de cloreto de vinila obtida em cromatógrafo gasoso.

Figura 17. Cromatograma obtido com a análise do branco n,n'dimetilacetamida (DMA).

Figura 18. Cromatograma obtido com a análise da solução padrão de cloreto de vinila diluída.

5.3.10.2 Amostra

Foram preparadas 3 amostras e a análise de cada amostra foi realizada em triplicata. A Figura 19 representa o cromatograma do ensaio de cloreto de vinila representativo para o Grupo. Como pode ser observado no cromatograma, não foi observada a presença de picos correspondente ao cloreto de vinila, no tempo de retenção previsto para o composto cloreto de vinila, o qual está entre 2,16 e 2,19 min. Pode-se inferir que não há a presença de cloreto de vinila em quantidade detectável por cromatografia gasosa, indicando a ausência de cloreto de vinila residual nas amostras de material plástico do Grupo A. Portanto, cumpre com o estabelecido para o ensaio de cloreto de vinila residual (BRASIL, 1999).

Figura 19. Cromatograma representativo do Grupo A para determinação de cloreto de vinila.

5.3.11 Ensaio de quantificação do plastificante di-2-etilhexil ftalato (DEHP) e di-2-etilhexil adipato

Os resultados do ensaio para determinação do plastificante DEHP para o Grupo A está representado na Tabela 48. As amostras analisadas por meio de 3 determinações.

Tabela 48. Avaliação da quantidade de plastificante DEHP para o Grupo A.

	Plastificante DEHP (%)			
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média
Grupo A	19,36	18,43	19,20	19,0%

Os resultados das extrações e análise cromatográfica do material da bolsa de PVC (Grupo A) indicaram a presença dos plastificantes di-2-etilhexil ftalato (DEHP) dentro do limite estabelecido pela Farmacopéia Européia (2008). Foi quantificada uma pequena quantidade de di-2etilhexil adipato, com a média de 0,01%.

5.3.12 Determinação de óleo de soja e linhaça epoxidados

A avaliação do ensaio para óleo de soja e óleo de linhaça epoxidados estão representados na Tabela 49. Cada valor corresponde à massa do resíduo (mg) equivalente à média de 3 determinações.

Tabela 49. Determinação do óleo de soja e linhaça epoxidados (mg) para o Grupo A.

		Óleos epoxidados (mg)	
		Óleo de linhaça	Óleo de soja
Grupo A	Amostra 1	4,67	2,30
	Amostra 2	5,77	2,47
	Amostra 3	5,47	3,80
	Média	5,30	2,86

Os resultados dos aditivos óleos epoxidados foram satisfatórios para o Grupo A, conforme estabelecido pela Farmacopéia Européia (2008).

5.3.13 Ensaio de aminas aromáticas primárias

As amostras analisadas em triplicata quanto à presença de aminas aromáticas primárias apresentou-se dentro dos limites especificados para as embalagens do Grupo A.

5.3.14 Ensaio de teor de policloreto de vinila

A Tabela 50 apresenta os resultados de teor de policloreto de vinila para o Grupo A. Cada valor corresponde à média de 3 determinações.

Tabela 50. Avaliação do teor de policloreto de vinila (%) o Grupo A.

		Teor de Policloreto de vinila		
		Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Grupo A		56,22	59,36	58,48
	Teor (%)	56,78	62,98	57,00
		55,76	61,08	58,93
	Média	56,25	61,14	58,14

Os resultados obtidos encontram-se conforme especificado pela Farmacopéia Européia (2008).

5.3.15 Ensaio de substâncias extraíveis em água

Após a análise das amostras do Grupo A, não foi identificada a presença de substâncias extraíveis em água. Portanto, as amostras apresentaram-se dentro dos limites especificados para este material de embalagem.

5.3.16 Perfil de aditivos

Os resultados das extrações e avaliação cromatográfica por HPLC dos Grupos B, C e D analisados indicaram a presença do aditivo antioxidante butilhidroxitolueno (BHT), presente na Farmacopéia Européia (2008) como aditivo para plástico 07. As Tabelas 51 e 52, representam os valores correspondentes à média de 3 determinações e a análise estatística, respectivamente.

Tabela 51. Avaliação do aditivo plástico BHT (%) para os Grupos B, C e D.

		Aditivo plástico BHT (%)			
		Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média
Grupo A		- x -	- x -	- x -	- x -
Grupo B		0,00070	0,00067	0,00067	0,00068
Grupo C		0,00300	0,00400	0,00367	0,00356
Grupo D		0,00600	0,00433	0,00467	0,00500

Legenda: - x - ensaio não aplicável ao Grupo A.

Tabela 52. Comparação entre os Grupos B, C e D para o ensaio de BHT.

	Aditivo plástico BHT (%)			
	Grupo A	Grupo B	Grupo C	Grupo D
Média	- x -	0,00068	0,00356	0,00500
Mediana	- x -	0,00070	0,00400	0,00500
Desvio Padrão	- x -	0,00010	0,00088	0,00078
p-valor	<0,001*			

Legenda: - x – ensaio não aplicável ao Grupo A.

Teste Estatístico: Teste de *Kruskal-Wallis*.

*Significativo para $p < 0,05$

Fonte: Adams Estatística e Consultoria, 2011.

As quantidades encontradas do aditivo BHT nas bolsas dos Grupos C e D foram em média de 0,00356% e 0,00500%, respectivamente. Para os frascos semi-rígidos do Grupo B, a quantidade detectada foi em média de 0,0007%.

Nos três tipos de amostras analisadas, bolsas poliolefínicas dos Grupos C e D e frasco semi-rígido do Grupo B, além da presença do aditivo antioxidante BHT, foram detectados outros picos, porém os compostos não puderam ser identificados e quantificados, pois os tempos de retenção e os espectros dos compostos no Uv-visível não coincidiram com nenhum dos padrões antioxidantes disponíveis no Centro de Tecnologia de Embalagens – CETEA/ITAL (Campinas/SP) tais como (Pentaerythrityl tetrakis [3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionate] – Irganox 1010 (aditivo plástico 09), Octadecyl 3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl) propionate – Irganox 1076 (aditivo plástico 11) e Tris(2,4-di-tert-butilfenil) fosfito (aditivo plástico 12) , apesar de apresentarem perfis característicos de aditivos antioxidantes.

5.4 Avaliação dos cuidados de conservação e utilização das SPGV's nos serviços de saúde

Os resultados referentes à avaliação dos cuidados de conservação e utilização das SPGV's realizadas em 05 hospitais estão apresentados na Tabela 53.

Tabela 53. Avaliação dos cuidados de conservação das SPGV's.

Características do local de armazenamento	Instituições hospitalares				
	1	2	3	4	5
Limpeza do local	S	S	S	S	S
Iluminação do local	S	S	S	S	S
Cobertura/forro do local	S	S	S	S	S
Forro especial (proteção contra incidência de raios solares)	P	N	N	N	N
Termohigrômetro digital (D) ou Termômetro (T)	T	D	D	D	T
Registro de controle de temperatura	S	S	S	S	S
Registro de controle de umidade	I	S	I	I	I
Frequência diária de medição temperatura e/ou umidade	S	S	S	S	S
Temperatura local (°C)	27,1	23,8	25,7	21,6	23,6
Umidade relativa do local	I	41%	42%	55%	I
Controle de pragas	S	S	S	S	S
Extintores de incêndio	S	S	S	S	S
Coletores de lixo	S	S	S	S	S
Empilhamento máximo das caixas	S	S	S	S	I
Existem prateleiras, são suficientes?	S	S	S	S	S
Paredes perfeitas, sem rachaduras e buracos?	S	S	S	S	I
Piso uniforme, sem falhas e rachaduras?	S	S	S	S	I
Uniformização de funcionários	S	S	S	S	S
Treinamento de funcionários	S	S	S	S	S
Ar condicionado	N	P	P	P	P
Local possui janelas? As mesmas estão fechadas?	S	S	S	S	S
Procedimentos das atividades desenvolvidas	I	S	S	S	S
Identificação medicamentos	S	S	S	S	S
Armazenamento de SPGV está em ordem?	S	S	S	S	S
Possui área segregada para armazenamento de SPGV?	N	P	N	N	N
Estoque medicamentos em contato paredes?	S	S	I	S	I
Estoque medicamentos em contato solo?	S	S	S	S	S
Retirada lotes pela ordem de chegada dos mesmos?	S	S	S	S	S
As SPGV's são armazenadas dentro das caixas no almoxarifado geral?	S	S	S	S	S
Na farmácia, as SPGV's são armazenadas somente nas embalagens primárias/sobrebolsa, quando aplicável?	S	S	S	S	S
Estado físico da caixa	S	S	S	S	I
Estado físico do produto SPGV (embalagem primária)	S	S	S	S	I
Possui Pallets/estão íntegros	S	S	S	S	S
Responsável técnico presente no local?	S	S	S	S	S

S = Satisfatório, I = Insatisfatório, NA = não aplicável, N= não possui, P=possui.

Os itens considerados *Satisfatórios (S)* e *Insatisfatórios (I)* são considerados obrigatórios pela legislação vigente. As demais identificações de *Não aplicável (NA)*, *Não possui (N)* ou *Possui (P)* foram itens observados nas instalações dos almoxarifados das instituições hospitalares, porém não exigidos pela legislação.

6. DISCUSSÃO

6.1 Avaliação das soluções segundo as recomendações da ANVISA (40°C/75%UR) e ICH (40°C/25% UR)

Na caracterização das soluções de cloreto de sódio 0,9% (m/v) foram avaliadas as propriedades constantes na monografia do produto acabado, bem como outros parâmetros estabelecidos pela Farmacopéia Americana (2010) para soluções injetáveis.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária por meio da Resolução RE 01 (2005) estabelece as condições climáticas de 40°C e 75% de Umidade Relativa para realização de estudos de estabilidade para produtos líquidos acondicionados em embalagens semipermeáveis, as quais se enquadram as soluções parenterais. Em contrapartida, o guia elaborado pela ICH (2003) estabelece condições de baixa umidade relativa para realização de estudos de estabilidade para estes produtos.

Deste modo, optou-se neste estudo por avaliar as soluções de cloreto de sódio 0,9% (m/v) tanto nas condições climáticas descritas pela ANVISA quanto pela ICH, durante um período de 6 meses de armazenamento em câmaras climáticas, com a realização de análises antes e após exposição por 90 e 180 dias.

A temperatura de 40°C utilizada nos estudos está compatível com o clima tropical, igual ou um pouco acima da maioria das regiões do Brasil, enquadrado como Zona IV, clima quente e úmido, para realização de estudos de estabilidade.

A partir dos estudos realizados a 40°C/75% UR e 40°C/25% UR foram feitas considerações com relação aos resultados encontrados.

Com relação à avaliação do pH foram encontradas diferenças estatisticamente significativas, $p < 0,05$ (Tabela 9) entre todos os tempos, para os Grupos A, B, C e D, tanto em 25% quanto a 75% de Umidade Relativa. Porém, as variações não ultrapassaram o limite estabelecido pela Farmacopéia Americana (2010). Para as amostras do Grupo A, constituídos por PVC, pode-se verificar uma redução dos valores de pH ao longo do tempo de armazenamento. Esta queda pode ser explicada pela reação de degradação do PVC da embalagem primária, o qual libera ácido clorídrico para a solução, provocando redução no valor de pH com o passar do tempo (RIBEIRO; OLIVEIRA, 2009) e como pode ser visto na Tabela 8, este Grupo é o que apresenta maior acidez. O pH pode ser considerado um

parâmetro físico-químico indicativo de alteração ao longo do armazenamento para todos os Grupos. Portanto, as diferenças são estatisticamente significantes, porém sem significância clínica, uma vez que o sistema tampão plasmático suporta tal variação.

Com relação ao ensaio de perda de peso, há diferenças estatisticamente significativas, $p < 0,05$ (Tabela 14) entre todos os tempos e para os Grupos A, B, C e D, em condições de 25% e 75% de Umidade Relativa. Os valores estão abaixo do limite de 2,5% ao ano estabelecidos para perda de peso para os Grupos A, B e D (BRASIL, 2005).

Em todas as comparações, a perda de peso em 25% de UR foi sempre maior que a observada em 75% de UR. Esses resultados corroboram com o estabelecido pela ICH para produtos líquidos acondicionados em embalagens semipermeáveis (ICH, 2003). Esta condição é importante especialmente, em países tropicais com clima seco, onde a probabilidade de perda de água é maior.

As condições alternativas de Umidade Relativa (25% e 75%) para estudos de estabilidade tornaram-se facilitadas ao estabelecer a razão $(100-25)/(100-75)$, estabelecida pela ICH (2003). Desta forma, ao adotar o valor de 75% UR, a taxa de perda de água é multiplicada por 3. Essa equivalência também é tratada pela ANVISA (BRASIL, 2005).

Algumas considerações com relação à perda de peso merecem destaque. O Grupo B apresentou os menores valores de perda de peso (Tabela 13), tanto em 25% quanto a 75% de umidade relativa, comparado aos demais Grupos A, C e D, o que pode ser atribuído à propriedade de barreira do polietileno à permeação de vapor de água. (AVIS; LACKMAN; LIEBERMAN, 1992). Além disso, embalagem primária mais espessa, como a do Grupo B (Tabela 23), tende a reduzir a perda de vapor de água (RIBEIRO; OLIVEIRA, 2009).

De acordo com Ribeiro e Oliveira (2009), soluções parenterais acondicionadas em bolsas flexíveis de PVC (Grupo A), normalmente apresentam maior perda de peso. Porém, de acordo com os resultados obtidos neste estudo, esta característica apresentou resultados satisfatórios e até mesmo inferiores aos do Grupo C, por exemplo. Isso pode ser atribuído à presença da embalagem protetora conhecida como *pouch*, constituída por polietileno de alta densidade (PEAD) que envolve a embalagem primária de PVC. Esta é mais espessa do que o invólucro protetor das embalagens dos Grupos C e D (Tabela 24), contribuindo com a redução

da permeação ao vapor de água e aumento da resistência. Além disso, por ser translúcida, permite a visualização de partículas suspensas na solução.

Esses resultados comparados ao ensaio físico de Permeabilidade ao vapor de água (TPVA) estabelecido pelas Normas Internacionais ASTM E96/E96M (2010) e ISO 15747 (2010), realizados a 30°C/75% UR, visto que evidencia a mesma propriedade e o mesmo comportamento dos materiais plásticos. Neste ensaio, a extensão de transmissão de vapor de água foi estatisticamente superior ($p < 0,05$) no Grupo C, cujo valor extrapolado foi de 3,329%/ano, enquanto para o Grupo B o valor foi de 0,613% ao ano (Tabela 31). O Grupo B continuou apresentando a menor taxa, com resultados de 0,613% ao ano, comprovando a resistência do polietileno ao vapor de água, atrelada à maior espessura (Tabela 23), comparada aos demais Grupos. Neste ensaio, também foi verificado que o comportamento do Grupo A frente ao Grupo D foi similar, o mesmo observado no ensaio de perda de peso. Os Grupos C e D podem ser considerados similares no que diz respeito ao formato da embalagem ou bolsas plásticas, bem como pelo fato de serem constituídos por filmes trilaminados e possuírem polipropileno em sua formulação, conforme laudo disponibilizado pelo fabricante de cada embalagem. Porém, foram observadas diferenças entre os resultados de taxa de permeabilidade ao vapor de água para cada Grupo, a qual pode estar relacionada à composição dos filmes trilaminados. A embalagem plástica do Grupo C é formada por filme co-extrusado com três camadas constituídas por polipropileno homopolímero e polipropileno copolímero, sem aditivos. Em contrapartida, as bolsas plásticas do Grupo D são compostas por filme contendo poliéster na camada externa, polietileno na camada intermediária e copolímero de propileno na camada interna.

O poliéster, conhecido como politereftalato de etileno (PET) trata-se de uma resina popular utilizada em materiais de embalagem devido às suas excelentes propriedades como elevada resistência à tração e excelente transparência e brilho (SARANTÓPOULOS et al., 2002). Porém, para este composto não foram realizados ensaios químicos, já que os mesmos formam a camada externa da embalagem, a qual não está em contato direto com a solução parenteral.

O Grupo C apresenta embalagem intermediária protetora composta por filme de polipropileno biorientado (BOPP), o qual é obtido por processo físico de orientação molecular do polímero. Isto permite a obtenção de filmes com propriedades adequadas como, entre outras, a transparência, redução da

permeabilidade ao vapor de água, caso o polímero seja cristalino como o polipropileno. Além disso, facilita o manuseio (SARANTÓPOULOS et al., 2002). Porém, novamente se forem comparadas as espessuras das embalagens dos Grupos C e D, esta última apresenta maiores valores, em torno de 0,07 mm comparados aos 0,03 mm da película do Grupo C.

O teor de cloreto de sódio para todas as amostras analisadas encontra-se dentro dos limites estabelecidos pela Farmacopéia Americana (2010). No entanto, houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) nos Grupos B, C e D, quanto ao tempo 0, 3 e 6 meses e condições de armazenamento (25 ou 75% de UR). Porém, no Grupo A, os resultados somente foram significativos, quando o produto foi exposto a 25% de umidade relativa (Tabela 21), novamente comprovando a influência da umidade relativa nas características e estabilidade das soluções.

Em geral, houve o aumento da concentração de cloreto de sódio nas amostras conforme o tempo de armazenamento e condições de temperatura e umidade utilizadas (Tabela 20). Este aumento pode ser atribuído à permeação de vapor de água e conseqüente concentração da solução (RIBEIRO; OLIVEIRA, 2009). Porém, este aumento não extrapolou os limites especificados pela Farmacopéia Americana (2010), característica que pode não ter relevância clínica.

Com relação ao ensaio de volume, algumas amostras do Grupo D apresentaram resultados abaixo do especificado pela Farmacopéia Americana (2010), em todos os tempos (Tabela 11). Portanto, o Grupo D está em desacordo com o preconizado. Nas amostras dos Grupos A e B houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os tempos, quando armazenadas a 25% UR, enquanto que no Grupo C a diferença foi significativa em ambas as condições de umidade relativa.

Embalagens com volumes abaixo do especificado pela Farmacopéia Americana (2010) podem ter relevância clínica e afetar a qualidade do produto no momento da administração, nos casos em que estes são utilizados para diluição de medicamentos.

As demais características físico-químicas como metais pesados, ferro e material particulado não sofreram alteração (Tabelas 45 e 46) ao longo do tempo de exposição, nas condições de temperatura e umidade utilizadas, considerando os limites especificados pela Farmacopéia Americana (2010).

A avaliação da presença de contaminação microbiológica em preparações injetáveis é de suma importância no estudo de estabilidade e apresenta importante papel no entendimento de como preparações potencialmente contaminadas podem prejudicar a saúde de pacientes (PINTO; KANEKO; PINTO, 2010).

Nas amostras do Grupo B, foi detectado crescimento microbiano após incubação por 180 dias, em meio de cultura caseína-soja. Diante deste fato, o ensaio foi repetido com outro lote do mesmo fabricante do Grupo B. Além deste lote, foram avaliadas amostras de outro fabricante, de mesmo tipo (frasco-ampola) e material plástico (polietileno). Os resultados, para estes lotes, foram satisfatórios. Assim, a contaminação detectada pode ser atribuída a microfissuras em uma ou mais embalagens. Não podemos deixar de considerar outras fontes, como os próprios cuidados durante a realização do ensaio de esterilidade, já que o crescimento foi observado somente no meio de cultura caseína-soja e após 180 dias de armazenamento. Para tanto, a Farmacopéia Americana recomenda cuidados durante a execução do teste de esteridade (UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION, 2010).

Além disso, a Farmacopéia Americana (2010) não exige a realização do ensaio de esterilidade em unidades individuais do produto. Porém, após os resultados encontrados, seria viável optar pela realização deste tipo de ensaio em oposição à filtração do conteúdo da mistura de soluções de 10 amostras.

Fluidos intravenosos são susceptíveis ao crescimento microbiano, contaminação com partículas, que provocam reação adversa. As SPGV's são comercializadas em vários materiais de embalagem primária, as quais merecem um tratamento cuidadoso para evitar danos como, entre outros, rachaduras ou fissuras que facilitam a contaminação dos fluidos destinados a administração intravenosa (CENTRAL DRUGS STANDARD CONTROL ORGANIZATION, 2011).

A exigência de teste de esterilidade em produtos considerados estéreis iniciou-se em 1942, porém somente em 1970 foi introduzido o caldo de caseína de soja como meio que permite o crescimento de bolores e leveduras e bactérias aeróbias (BUGNO, 2001).

A função do teste de esterilidade é avaliar a eficácia do processo de esterilização, pois independente do método utilizado é um processo probabilístico, no qual a possibilidade de encontrar microorganismos vivos tende a zero. Portanto, a eficácia do processo de esterilização depende da carga inicial de microorganismos

e, deste modo, devemos considerar o problema da contaminação durante o processo de fabricação (NOGAROTO et al., 2006).

Assim, descartamos a possibilidade de reprovação do material de polietileno quanto ao ensaio de esterilidade da solução.

Outro aspecto a considerar é a contaminação durante a estocagem e uso clínico do produto, particularmente nas soluções parenterais de grande volume em que muitas vezes se perfuram as embalagens plásticas com agulhas, objetivando melhor escoamento de soluções, ao invés de empregar dispositivo provido de filtro que retenha microorganismos (PINTO; KANEKO; PINTO, 2010). Lembramos que, mesmo nesta situação a responsabilidade primária é do fabricante ou detentor do registro do produto, o qual é responsável pela qualidade dos medicamentos durante o prazo de validade, assegurando que estes cumpram com os requisitos estabelecidos no registro e não coloquem os pacientes em risco por apresentarem segurança, qualidade ou eficácia inadequada.

O método analítico recomendado pela Farmacopéia Americana (2010) para a quantificação de cloreto de sódio em solução injetável a 0,9% (m/v) é titulométrico. Porém, a literatura descreve outros métodos, entre eles a fotometria de chama, técnica analítica simples baseada na quantificação da radiação emitida por espécies atômicas ou iônicas, quando excitadas, em especial, metais alcalinos e alcalinos terrosos (OKUMURA; CAVALHEIRO; NÓBREGA, 2004). No presente trabalho, utilizou-se os dois métodos, pois o método por fotometria de chama é considerado mais sensível que o titulométrico. O método por fotometria de chama foi proposto com o objetivo de observar variações mínimas decorrentes de oscilações do teor das amostras com o tempo de armazenamento durante o estudo de estabilidade acelerado.

Após as devidas validações (BRASIL, 2003; ICH 2003) o método por fotometria de chama, mostrou ser linear, repetitivo, exato e robusto. No entanto, não houve diferenças significativas na quantificação pelos dois métodos, conforme pode ser observado nas Tabelas 20 e 21.

6.2 Ensaios físicos das embalagens para acondicionamento de soluções parenterais

A Norma Internacional ISO 15747 (2010) contém exigências que se referem à manipulação segura dos ensaios físicos para recipientes plásticos, utilizados em produtos parenterais. A resistência à tração foi baseada na Norma Internacional ASTM D882-00 (2001). Os testes físicos são testes de tipo e devem ser avaliados quando houver mudanças significativas no recipiente de acondicionamento como desenho, composição do plástico, processo de fabricação do recipiente de infusão e processo de esterilização (INTERNATIONAL STANDARD, 2010).

Durante o processo de fabricação dos filmes plásticos podem ocorrer defeitos que influenciam o desempenho das embalagens, com eles fabricados. Estes podem ser classificados como: (a) *defeitos críticos*, quando impedem que a embalagem exerça a função de proteção, como nos casos de soldagem incompleta; (b) *defeitos graves*, que prejudicam o desempenho da embalagem, de modo que esta pode falhar sob *stress* e (c) *defeitos toleráveis*, quando prejudicam a aparência da embalagem, mas não alteram a qualidade ou função de proteção (SARANTÓPOULOS, 2002). Todos estes itens foram avaliados nos ensaios físicos.

Um aspecto de grande relevância nas situações de infecções sistêmicas são as conexões das embalagens, as quais constituem ponto crítico no sistema de infusão, uma vez que permitem a comunicação do sistema vascular com o meio ambiente, nas junções da ponta proximal do equipo com a embalagem que contém o líquido infusional. Como medida profilática das infecções da corrente sanguínea, deve manter a esterilidade do sistema de infusão da terapia intravenosa, como a adoção de dispositivos dotados de borracha com característica autovedante para injeção de doses de medicamentos ou associação de outras soluções sem necessidade de desconexão do sistema (GUIMARÃES, 2008).

Para tanto, foram realizados os ensaios físicos de penetração e retirada do equipo, assim como para as agulhas de diferentes calibres (0,6 mm x 25 mm e 0,8 mm x 35 mm). Estes ensaios apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os quatro Grupos analisados A, B, C e D (Tabelas 27, 28 e 29).

Porém, podem ser feitas considerações a respeito da força necessária para introdução do equipo. De acordo com a ISO 15747 (2010), a força necessária para introdução do equipo deve ser em torno de 200 N, cuja especificação foi obedecida

para os Grupos A e B. Porém, a média da força necessária para introdução dos equipos nos Grupos C e D excedeu a força necessária estabelecida, com valores de 248,9 N e 260,6 N, respectivamente. Para a retirada do equipo, os resultados para todos os Grupos foram satisfatórios, observando-se valores maiores para o Grupo C, com 137,6 N. O Grupo B apresentou os menores valores de força necessária para retirada do equipo (Tabelas 27 e 28), média de 28,0 N. Quanto menor a força necessária para retirada do equipo, menos aderido o dispositivo encontra-se na conexão, o qual pode ser um fator responsável pela saída indesejada do equipo durante a infusão.

O teste relacionado à introdução da agulha utilizada nos casos de injeção de medicamentos às soluções parenterais disposto na ISO 15747 (2010) estabelece apenas o ensaio de introdução e retirada da agulha para verificação da impermeabilidade do ponto de inserção. Porém, foram realizados ensaios para verificação da força máxima necessária para introdução das agulhas, comparando agulhas com diferentes calibres. A Norma Internacional ISO 15747 (2010) preconiza a realização do ensaio apenas com agulhas de especificação 0,6 mm x 25 mm (23G). Porém, pelo fato de existirem diversos tipos de agulhas disponíveis no mercado, optou-se por acrescentar neste estudo, ensaios com agulhas de maior calibre especificadas como 1,20 mm x 40 mm (18G), as quais possam eventualmente estar disponíveis para os profissionais de saúde nos hospitais.

Quanto ao ensaio de força de penetração destas agulhas, como não há especificação para a força máxima, os resultados apenas foram comparados aos quatro Grupos avaliados, obtendo-se maiores valores para o Grupo C e, como esperado para todos os Grupos, a força máxima foi sempre maior para as agulhas de maior calibre 1,20 mm x 40 mm (Tabela 29).

Os testes relativos à estanqueidade do dispositivo de infusão (equipo) e impermeabilidade no ponto de inserção (agulha) foram satisfatórios para todos os Grupos analisados A, B, C e D, comprovando qualidade e segurança para os sistemas de conexão destas embalagens.

Com relação ao ensaio de resistência à pressão após ciclo gela/degela para verificação de vazamento, foi verificado que os Grupos A e B possuem 100% de resposta *Satisfatória* para este ensaio e são considerados estatisticamente diferentes dos Grupos C e D com respectivamente, 14,3% e 28,6% de resposta *Satisfatória* (Tabela 26). Os resultados insatisfatórios para os Grupos C e D por

abertura nas soldas indicam reprovação com relação a este ensaio, os quais podem influenciar a qualidade durante a vida útil do produto, estando propensos à ruptura em situações de *stress* térmico ou de pressão como, por exemplo, nos locais de armazenamento em que não são respeitadas as condições de temperatura e umidade ou empilhamento máximo das embalagens secundárias ou caixa de transporte.

A integridade da termossoldagem em embalagens flexíveis pode influir na qualidade dos produtos nelas acondicionadas, uma vez que são considerados pontos de entrada de microorganismos, umidade ou ainda para a perda de misturas gasosas e vapores orgânicos, podendo ter a vida útil reduzida. Um fechamento é considerado íntegro quando assegura ao produto, no mínimo, a mesma proteção que é conferida pelo material da embalagem, e a integridade deve ser preservada mesmo depois de solicitações mecânicas que ocorrem durante o manuseio ou distribuição (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Tais resultados também propiciam vazamento da solução, e nos casos em que a embalagem contenha algum medicamento adicionado à solução parenteral, como quimioterápicos, este extravasamento pode representar um risco potencial à saúde dos profissionais que os manuseiam e administram.

Para as demais variáveis qualitativas dos ensaios físicos, como resistência da alça de sustentação, resistência à queda, transparência e identificação, as mesmas não apresentaram variabilidade nas respostas, as quais foram todas 100% satisfatórias para todos os Grupos. Para o ensaio de identificação, em específico, não foram observados descoloração, perda de contorno ou perda de brilho do filme impresso ou no caso da embalagem B, no rótulo adesivo.

As propriedades de tração são úteis para identificação e caracterização de filmes flexíveis, com aplicação no desenvolvimento e na especificação dos materiais e expressam a resistência do material à deformação por alongamento quando submetidos à tração. A deformação e o alongamento representam a resistência do material quando submetido a uma determinada força de tração e velocidade constante. Inicialmente, o corpo de prova sofre deformação, porém resiste ao alongamento. Vencida a força de deformação, inicia o escoamento (*yield point*), a partir do qual o filme alonga até o ponto de ruptura (SARANTÓPOULOS et al., 2002).

Na comparação do desempenho das amostras analisadas com relação às propriedades de tração, o Grupo A, quando comparado aos Grupos C e D, apresentou maior valor de ruptura e menor valor de alongamento e *yield point* nulo, considerando, nível de erro de 5% (Tabela 33). Os Grupos C e D apresentaram diferença significativa entre si com relação à resistência máxima à tração, sendo o Grupo C o que apresentou maiores valores deste parâmetro (*yield point*). Com relação ao alongamento e ruptura, os Grupos C e D não apresentaram diferença significativa entre si, ao nível de erro de 5% (Tabela 33).

A resistência à tração é característico de cada material e depende da composição, especialmente da quantidade e qualidade do plastificante utilizado, além do processo de fabricação e espessura do filme. Desta forma, os resultados indicam que o material plástico (PVC) pertencente ao Grupo A, possui menor resistência à tração que os plásticos poliolefínicos que compõem as bolsas dos Grupos C e D. Por outro lado, o fator de ruptura está mais relacionado com o filme utilizado na confecção da embalagem em análise e depende da espessura, das condições de extrusão do filme e do grau de orientação. Neste caso, como o material do Grupo A apresenta maior espessura comparado às bolsas dos Grupos C e D, esta apresentou maior fator de ruptura, embora seja confeccionada com material de menor resistência máxima à tração, quando comparado aos demais Grupos C e D.

Apesar de os Grupos C e D apresentarem maior resistência à tração, os resultados apresentados por estes Grupos no ensaio de resistência ao ciclo gela/degela foram insatisfatórios. Porém, vale ressaltar que a ruptura foi proveniente de desvios na qualidade da solda das embalagens, e não por se tratarem de materiais menos resistentes à tração. Quanto maior a resistência à tração de um material, maior será a força necessária para romper o mesmo e, portanto, maior será a qualidade e proteção conferida pela embalagem. Porém, deve-se levar em consideração o processo de soldagem do material plástico.

6.3 Ensaio químicos das embalagens para acondicionamento de soluções parenterais.

Componentes das embalagens plásticas podem migrar para a solução nela contida. Considerando que tais soluções são introduzidas diretamente na circulação

sanguínea, a preocupação com a qualidade destes recipientes plásticos deve ser redobrada, quando comparado aos de outras formas (MONTEIRO; GOTARDO, 2005).

Foram realizados ensaios químicos com o material plástico que compõe as embalagens dos Grupos A, B, C e D. De acordo com a Farmacopéia Européia (2008), deve ser avaliada a acidez e alcalinidade, a possibilidade de migração de substâncias da embalagem para a solução (absorbância), assim como o teor de substâncias redutoras, nas embalagens plásticas. A Farmacopéia Européia (2008) estabelece especificação para os ensaios de cinzas sulfatadas e substâncias solúveis em hexano somente para as embalagens constituídas por polietileno e polipropileno (Grupos B, C e D).

A acidez e alcalinidade, absorbância, substâncias redutoras e cinzas sulfatadas, apresentaram diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) entre os Grupos (Tabelas 35, 37, 39 e 43).

Os resultados para os ensaios de acidez e alcalinidade estavam dentro dos limites especificados para os Grupos A, B e C, enquanto o Grupo D ultrapassou o limite de 1,5 mL, por apresentar o valor de 1,52 mL devido ao resultado de uma amostra deste Grupo estar acima da especificação. O ensaio de substâncias redutoras apresentou-se adequado para os Grupos A e B, porém os resultados dos Grupos C e D excederam o limite especificado pela Farmacopéia Européia (2008) de 0,5 mL, com a média dos resultados de 1,24 mL e 3,18 mL para os Grupos C e D, respectivamente (Tabela 39). O teor de cinzas sulfatadas para os Grupos B, C e D estava abaixo do limite especificado para embalagens constituídas por polietileno e polipropileno e atendem ao limite máximo estabelecido pela Farmacopéia Européia (2008). Quanto ao Grupo A, a média do teor de cinzas sulfatadas foi $\leq 0,05$, porém não foi possível avaliar se este valor está adequado, devido à ausência de especificação para materiais de PVC para acondicionamento de soluções parenterais. A Farmacopéia Européia (2008) traz um limite de 1% para materiais de PVC não plastificados para acondicionamento de soluções aquosas não injetáveis, porém a embalagem avaliada neste estudo não se enquadra nesta categoria. Com relação aos ensaios de absorbância, substâncias solúveis em hexano e metais pesados, todos os Grupos A, B, C e D apresentaram respostas satisfatórias e dentro do limite especificado pela Farmacopéia Européia (2008), conforme Tabelas 37 e 41.

Com o intuito de avaliar a qualidade das embalagens, quanto ao teor de metais, estes foram quantificados por ICP-MS. Esta técnica é considerada adequada para detecção de metais, pois se trata de uma técnica sensível e que se caracteriza por limites de detecção da ordem de $\mu\text{g.L}^{-1}$, sendo aconselhável a sua utilização quando a concentração do analito é baixa. Comparando-se as diferentes técnicas espectroanalíticas utilizadas para a análise de materiais poliméricos tem-se que, em termos de precisão e exatidão, todas são equivalentes, no entanto, em termos de limites de quantificação a técnica ICP-MS é a mais sensível (CADOIRE; MATOSO; SANTOS, 2008).

A determinação de elementos metálicos em polímeros é importante para assegurar que os limites dos elementos potencialmente tóxicos obedeçam à regulamentação, considerando-se a grande quantidade de polímeros empregados no acondicionamento de alimentos, cosméticos e produtos farmacêuticos, que podem ser contaminados através de migração de diferentes espécies químicas (CADOIRE; MATOSO; SANTOS, 2008).

Estudos realizados por ICP-MS demonstraram contaminações significativas de soluções parenterais por metais tóxicos como zinco, titânio, cromo, bário e alumínio, os quais podem se depositar em vários órgãos e causar danos aos pacientes. A origem da contaminação das soluções parenterais pode ser atribuída a fatores como a embalagem, bem como ao processo de esterilização, pois pode promover a liberação dos metais das embalagens para a solução. O tempo e a temperatura de armazenamento também podem contribuir para a contaminação das soluções, apesar desta ser em nível de traços, quando administrados à pacientes debilitados, oferece risco potencial de acumulação e toxicidade (BERTAGNOLLI, 2008).

Além dos aditivos e monômeros residuais presentes nos materiais de embalagem, outros compostos químicos podem estar presentes, tais como produtos de degradação de polímeros e aditivos, formados durante o processo de transformação, solventes residuais provenientes de tintas de impressão e outros resíduos químicos empregados no processamento do material de embalagem. Assim torna-se bastante claro que embalagens plásticas não são inertes, já que todas estas substâncias se encontram dispersas na matriz polimérica e podem migrar para o produto nelas contido (FREIRE et al., 2008).

O polipropileno pode ser utilizado em altas temperaturas, característica que pode ser eficientemente usada em processos que requeiram esterilização. Pode envolver catalisadores como alumínio, cromo, titânio, vanádio e zinco (BERTAGNOLLI, 2008) para polimerização do propileno e obtenção do polipropileno com estrutura regular e com propriedades de interesse comercial (SARANTÓPOULOS et al., 2002). Um importante composto presente em amostras de polipropileno é o titânio, pois fornece informação sobre a atividade do catalisador utilizado no processo de síntese (CADORE; MATOSO; SANTOS, 2008).

A Farmacopéia Européia (2008) recomenda a realização de ensaios de metais extraíveis como o alumínio, cromo, titânio, zinco e vanádio para materiais constituídos por polietileno e polipropileno. Por se tratarem de embalagens fabricadas com filmes trilaminados, com constituição poliméricas similares, os Grupos C e D foram comparados quanto aos ensaios de metais. Foram identificadas diferenças significativas entre estes Grupos somente para os ensaios dos metais alumínio, cromo e zinco (Tabela 47). Foi observado um teor maior de alumínio, cromo, titânio e zinco nas embalagens do Grupo C em relação ao Grupo D. Em contrapartida, o metal vanádio foi encontrado em menor quantidade no Grupo C comparado ao Grupo D. Porém, tanto o Grupo C quanto o Grupo D apresentaram os resultados de metais dentro do limite especificado para a Farmacopéia Européia (2008).

Dentre os aditivos utilizados nas embalagens de polipropileno e polietileno, pode ser citado o aditivo plástico butilhidroxitolueno (BHT), utilizado como antioxidantes fenólicos com especificação de no máximo 0,125%, conforme disposto na Farmacopéia Européia (2008). Todos os Grupos avaliados quanto à presença de BHT apresentaram resultados dentro do limite especificado. Porém, foi verificada diferença significativa entre os Grupos B, C e D, sendo este último a embalagem que apresentou os maiores valores deste aditivo plástico.

Polímeros que possuem elevado grau de cristalinidade, como polipropileno, apresentam maior resistência ao ataque químico, pois o elevado grau de ordenamento das macromoléculas dificulta a difusão de moléculas de baixo peso molecular através do material polimérico. Em geral, os polietilenos são resistentes à maioria dos produtos químicos (SARANTÓPOULOS et al., 2002). Essas características podem estar associadas aos resultados satisfatórios obtidos nos

ensaios de metais e plastificante (BHT) para os materiais constituídos por polietileno e polipropileno (Grupos B, C e D).

São estabelecidos ensaios específicos para embalagens de PVC como presença de aminas aromáticas e presença de alguns metais (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINE & HEALTHCARE, 2008). O PVC utilizado na fabricação de embalagens é um composto por uma mistura de aditivos como plastificantes, estabilizantes, modificadores de impacto e compostos auxiliares de processamento (SARANTÓPOULOS et al., 2002) e podem conter estabilizadores como cádmio e bário e ainda apresentar antioxidantes e plastificantes como DEHP, estearato de cálcio ou estearato de zinco, entre outros aditivos (BERTAGNOLLI, 2008). Compostos de PVC plastificado utilizado na fabricação de embalagens flexíveis possuem 40 a 60% de polímero balanceado com a proporção do polímero ou resina de PVC (SARANTÓPOULOS et al., 2002). Deste modo, podem ser observados os resultados de menor resistência à tração do Grupo A, por tratar-se de embalagem constituída por PVC, o qual possui alta flexibilidade devido aos aditivos utilizados na formulação do material de embalagem.

Além disso, foram realizados ensaios para teor de policloreto de vinila e a média dos resultados para o Grupo A foi de 58,5% (Tabela 50), satisfatório para este material de embalagem estabelecido pela Farmacopéia Européia (2008), a qual estabelece resultados maiores que 55% de policloreto de vinila.

Os ftalatos compreendem o principal grupo de plastificantes monoméricos empregados na produção de PVC, dentre os quais o ftalato de di-(2-etilexila) ou DEHP é o mais utilizado (RIBEIRO; OLIVEIRA, 2009). A Organização Mundial de Saúde recomenda que dispositivos médicos e produtos que podem contribuir para a introdução de DEHP no organismo devem ser estudados visando reduzir a exposição por via intravenosa (MONTEIRO; GOTARDO, 2005). O Grupo A foi analisado quanto à quantificação do plastificante DEHP e os resultados foram satisfatórios para as amostras analisadas, conforme estabelecido pela Farmacopéia. Além do plastificante DEHP, foi quantificado o composto di-2-etilhexil adipato (DOA) com média de 0,01%. Apesar de apresentar-se em pequenas quantidades, não é permitida a utilização do aditivo DOA nas formulações de embalagens de PVC, conforme estabelecido pela Farmacopéia Européia (2008). A presença deste aditivo, nesta concentração pode ser explicada por uma possível “contaminação” do

processo ou até mesmo associada à presença deste aditivo em algum outro componente utilizado na formulação.

Um dos problemas apresentados pelo PVC é a baixa estabilidade ao calor, a qual é solucionada a partir do desenvolvimento de uma série de compostos organometálicos e sais baseados principalmente em chumbo, cádmio, bário, zinco, cálcio e estanho, com propriedades de estabilização dos intermediários responsáveis pelas reações de degradação térmica.

Metais alcalino-terrosos como Bário e Cálcio, de caráter iônico, funcionam como estabilizantes do PVC principalmente através de neutralização do ácido clorídrico (RODOLFO JR; MEI, 2007).

A utilização de estabilizantes térmicos como o cloreto de zinco pode aumentar a resistência térmica do polímero. No entanto, quando este componente é utilizado na resina de PVC, deve ser quantificado no final do estudo de estabilidade, a fim de determinar a lixiviação do mesmo para a solução parenteral (RIBEIRO; OLIVEIRA, 2009).

Em embalagens flexíveis os sistemas baseados em bário e zinco têm predominado nas formulações, em substituição à participação dos sistemas estabilizantes que empregam sais de cádmio, devido à restrição deste metal pela elevada toxicidade. Formulações à base de bário e cádmio foram durante muito tempo utilizados com elevado nível de estabilização e manutenção de cor e transparência (RODOLFO JR.; MEI, 2007). O cádmio é classificado no Grupo 1 de carcinógenos da IARC (*Internation Agency for Research on Cancer*), ou seja, é um elemento com potencial carcinogênico (NUNES, 2009).

Essa característica pode ser observada nos resultados obtidos para o Grupo A, as quais revelam uma menor quantificação de cádmio, com relação ao zinco e bário, estanho e cálcio (Tabela 45).

Além disso, sistemas baseados em bário-cádmio, bário-cádmio-zinco e bário-zinco são normalmente utilizados em combinação com óleos epoxidados, como o óleo de soja epoxidado. Outra combinação seria a utilização de compostos de estanho usualmente utilizados em sinergia com óleos epoxidados, os quais aumentam a efetividade dos mesmos (RODOLFO JR.; MEI, 2007).

Os resultados referentes aos metais bário, cádmio, estanho e zinco presentes nas embalagens do Grupo A foram satisfatórios, conforme estabelecido pela Farmacopéia Européia (2008). Porém, a quantificação de cálcio mostrou resultados

insatisfatórios para este metal ao apresentar como resultado a média de 1,99 ppm, considerado acima do especificado pela Farmacopéia Européia (2008), a qual admite resultados inferiores a 0,007 ppm para este metal. Isso pode estar atrelada à uma “contaminação” durante o manuseio de preparo da amostra, já que os demais metais estão abaixo do limite especificado.

Os óleos epoxidados são aditivos que podem estar presentes na formulação das embalagens de PVC com a função de melhorar a estabilidade térmica. São considerados co-estabilizantes utilizados em sinergia com compostos metálicos (RODOLFO JR.; MEI, 2007). Porém, quando utilizados em altas concentrações podem apresentar problemas de migração (RODOLFO JR.; NUNES; ORMANJI, 2002). Desta maneira, estes foram avaliados por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) para o Grupo A e apresentaram valores abaixo do limite estabelecido pela Farmacopéia Européia (2008).

Monômeros são substâncias de partida para a produção de polímeros, os quais são compostos reativos e que podem estar presentes nos materiais de embalagem plástica, geralmente em concentrações baixas, considerados como residuais (CADORE et al., 2008). Este caso inclui o cloreto de vinila e para tanto realizou-se ensaio para determinação de monômero de cloreto de vinila residual para o Grupo A, o qual apresentou resultados satisfatórios. Os materiais de PVC plastificados são produzidos pelos métodos de polimerização que permitem garantir um teor em cloreto de vinila residual inferior a 1 ppm (EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINES & HEALTHCARE, 2008).

As aminas aromáticas são utilizadas como antioxidantes primários, as quais possuem efeito de estabilização térmica exclusivamente junto aos radicais livres (RODOLFO JR.; MEI, 2007). Foi realizado o ensaio de avaliação de aminas aromáticas primárias para o Grupo A e os resultados foram satisfatórios, conforme estabelecido pela Farmacopéia Européia (2008).

Com relação ao ensaio de substâncias solúveis em água, o Grupo A apresentou resultados satisfatórios para este ensaio, conforme estabelecido pela Farmacopéia Européia (2008). Essa característica pode ser comprovada pela resistência dos polímeros ao ataque em meio aquoso (SARANTÓPOULOS, 2002).

A partir da análise estatística, pode ser verificado que em todas as variáveis analisadas para o Grupo A, os dados foram homogêneos devido à variabilidade ter sido baixa, demonstrado por meio do Coeficiente de Variação (CV).

6.4 Avaliação dos cuidados de conservação e utilização das SPGV's nos serviços de saúde

Foram avaliadas as instalações do almoxarifado presentes em cinco instituições hospitalares para comparação e avaliação das condições físicas e estruturais do local de armazenamento de Soluções Parenterais de Grande Volume e verificação do cumprimento das condições preconizadas na rotulagem destes produtos.

A principal característica insatisfatória observada refere-se ao controle de umidade relativa. Em três das cinco instituições avaliadas, não foram encontrados registros de controle de temperatura e umidade.

Trata-se de um requisito essencial para controlar a qualidade do medicamento durante a vida útil, já que foi observada neste estudo a influência da umidade relativa em variáveis como perda de peso das embalagens de solução parenteral. Além disso, 60% das instituições observadas possuíam termohigrômetro digital, o qual facilita a realização de medições diárias de controle de temperatura e umidade. A média da umidade para os locais onde havia possibilidade de medição foram de 46,0%, cujo valor que se enquadra nos padrões utilizados neste estudo (25% e 75% UR).

Com relação ao controle de temperatura, foram observados registros diários da temperatura local, e a média para estes locais foram de 24,4°C, dentro do permitido pela legislação (BRASIL, 2010) e de acordo com o estabelecido na rotulagem dos produtos, com especificação de temperatura ambiente de 15°C a 30°C (BRASIL, 2009).

Outra característica relevante estaria relacionada à conservação da embalagem secundária ou caixa de transporte nestes locais de armazenamento. Foram encontradas em uma instituição, caixas danificadas devido à extrapolação da quantidade de caixas sobrepostas. Esse fato pode comprometer qualidade da embalagem primária, já que a resistência à pressão pode ocasionar microfuros ou demais danos que influenciam a segurança destes produtos no momento da utilização.

7. CONCLUSÃO

Neste trabalho foi verificada a importância dos padrões químicos e físicos da embalagem, bem como a integridade das soluções nelas contidas para garantir que todas as especificações estejam dentro dos limites estabelecidos para as embalagens de acondicionamento de SPGV, já que são conhecidas as interações entre embalagem e conteúdo.

Para tanto, foi verificado que a conservação das soluções parenterais nas condições estabelecidas pela legislação está diretamente relacionada à qualidade e desenvolvimento da embalagem para utilização nos serviços de saúde. Além disso, é imprescindível que as áreas de armazenamento estejam adaptadas para assegurar as condições ideais de temperatura e umidade, compatíveis com os materiais armazenados.

O trabalho apresenta resultados alcançados que demonstram que é de extrema importância o desenvolvimento da embalagem adequada juntamente com estudos de estabilidade realizados pelo fabricante que reforçam a manutenção da qualidade durante o prazo de validade ou vida útil do produto.

Vale ressaltar a importância da realização de novos ensaios quando houver alteração do material plástico empregado, bem como nos casos de qualquer modificação realizada na formulação ou composição do material de embalagem.

Os desvios de qualidade referentes às embalagens primárias de SPGV's abordados nos resultados deste trabalho estão inseridos no cotidiano dos profissionais da saúde e poderão ser úteis para tornar mais eficiente os métodos de Controle de Qualidade desenvolvidos pelas indústrias farmacêuticas e ainda tornar-se ferramenta efetiva para minimizar a ocorrência de desvios que possam afetar a qualidade das SPGV's nos serviços de saúde.

8. REFERÊNCIAS

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM E96/E96M**: standard test methods for water vapor transmission of materials. Philadelphia: Elsevier, 2010.

_____. **D 882-10**: standard test method for tensile properties of thin plastic sheeting. Philadelphia: Elsevier, 2010.

_____. **D6042-09**: standard test method for determination of phenolic antioxidants and erucamide slip additives in polypropylene homopolymer formulations using Liquid Chromatography. Philadelphia: Elsevier, 2009.

_____. **D6953-03**: standard test method for determination of antioxidants and erucamide slip additives in polyethylene using Liquid Chromatography. Philadelphia: Elsevier, 2010.

AMIN, A.; DANTULURI, A. K. R.; BANSAL, A. K. Investigating the effect of humidity on the α -relaxations of low-density polyethylene using dielectric spectroscopy. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 422, n. 1-2, p. 302-309, Jan. 2011.

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN, L. V. **Farmacotécnica**: formas farmacêuticas & sistemas de liberação de fármacos. São Paulo: Premier, 2000.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 15403**: filmes estiráveis de poli(cloreto de vinila) (PVC) para contato com alimentos – requisitos e métodos de ensaio. Rio de Janeiro, 2010. 15 p.

AVIS, K. E.; LACKMAN, L.; LIEBERMAN, H. A. **Pharmaceutical Dosage Forms**: Parenteral Medications. New York: Marcel Dekker Inc, 1992. v. 1.

BERTAGNOLLI, D. C. **Migração de metais por interação das embalagens com soluções parenterais**. 2008. 258 p. Tese (Doutorado em Química) – Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2008.

BIO-RAD. KnowItAll Database by Bio. Disponível em: <<http://www.bio-rad.com>>. Acesso em: 2 dez. 2011.

BRAGA, G. K. Estudo de Estabilidade: comparação entre a Regulação Brasileira e a Harmonizada da União Européia, Japão e Estados Unidos da América – Parte 1. **Revista Fármacos e Medicamentos**, v. 9, n. 53, p. 20-26, jul./ago. 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução n. 105 de 19 de maio de 1999**. Aprova os regulamentos técnicos e disposições gerais para embalagens e equipamentos plásticos em contato com

alimentos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 04 nov. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RE n. 485 de 19 de março de 2002.** Determina a publicação do guia para a realização de estudos de estabilidade. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 04 nov. 2011.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RE n. 899 de 29 de maio de 2003.** Determina a publicação do guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 04 nov. 2011.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC n. 45, de 12 de março de 2003.** Dispõe sobre o Regulamento Técnico de Boas Práticas de Utilização das Soluções Parenterais (SP) em Serviços de Saúde. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 04 nov. 2011.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RE n. 398 de 12 de novembro de 2004.** Determina a publicação do Guia para realização de estudos de estabilidade. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 04 nov. 2011.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RE n. 01 de 29 de julho de 2005.** Autoriza ad referendum, a publicação do guia para realização de estudos de estabilidade. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 04 nov. 2011.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC n. 29 de 17 de abril de 2007.** Dispõe sobre as regras referentes ao registro e comercialização para a substituição do sistema de infusão aberto para fechado em soluções parenterais de grande volume. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 04 nov. 2011.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC n. 11 de 29 de fevereiro de 2008.** Prorroga os prazos previstos no art.4º da Resolução RDC n. 29 de 17 de abril de 2007. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 04 nov. 2011.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC n. 14 de 12 de março de 2008.** Altera as disposições transitórias da RDC n. 45 de 12 de março de 2003 que dispõe sobre o regulamento técnico de Boas Práticas de Utilização das Soluções Parenterais (SP) em serviços de saúde. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 04 nov. 2011.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC n. 71 de 22 de dezembro de 2009.** Estabelece regras para a

rotulagem de medicamentos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 04 nov. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC n. 17 de 16 de abril de 2010**. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 04 nov. 2011.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC n. 24 de 14 de junho de 2011**. Dispõe sobre o registro de medicamentos específicos. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 04 nov. 2011.

BUGNO, A. Esterilidade: Validação de Metodologia e Propostas de Otimização de Resultados. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo. São Paulo, 2001.

CADORE, S.; MATOSO, E.; SANTOS, M. C. A espectrometria atômica e a determinação de elementos metálicos em material polimérico. **Quím. Nova**, v. 31, n. 6, p. 1533-1542, 2008. ISSN 0100-4042.

CARVALHO, J. P.; SANTOS, A. S.; SÁ, A. S.; TEIXEIRA, C. S., NOGUEIRA, M. S. Estabilidade de Medicamentos no âmbito da farmacovigilância. **Revista Fármacos e Medicamentos**. São Paulo, p. 22-27, jun. 2005.

CENTRAL DRUGS STANDARD CONTROL ORGANIZATION . Directorate General Of Health Services Ministry Of Health & Family Welfare. **Guidelines on intravenous fluid's storage, distribution and administration**. CDSCO, Aug. 2011.

CLARK, R. W.; LIERMAN, J. C., LANDER, D.; DUNN, J. E. Sterilization of packages and their contents using light. United States Patent, 2006.

COMISSÃO FARMACOPÉIA ANVISA. **Farmacopéia Brasileira**. 3. ed. São Paulo: FIOCRUZ, 2010.

COUTINHO, F. M. B.; MELLO, I. L.; SANTA MARIA, L. C. Polímeros. **Ciênc. Tecnol.**, v. 13, n. 4, p. 229-234, 2003..

CRAWFORD, R. J. *Plastics Engineering. Processing of Plastics*. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 1998. Cap. 4.

CUADRADO, J. A. P.; FORN, M. P. **Validación de Métodos Analíticos**. Barcelona: Asociación Española de Farmacéuticos de La Industria AEFI, Mar. 2001.

EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINES & HEALTHCARE. **European Pharmacopoeia**. 6 ed. Strasbourg: EDQM, 2008.

_____. **European Pharmacopoeia**. 7 ed. Strasbourg: EDQM, 2010.

FREIRE, M. T. A.; BOTTOLI, C. B. G; REYES, S. F.; REYES, F. G. Contaminantes voláteis provenientes de embalagens plásticas: desenvolvimento e validação de métodos analíticos. **Quim. Nova**, vol. 31, n. 6, p. 1522-1532, 2008.

GRIMM, W. Storage conditions for stability testing-long term testing and stress tests. **Drugs Made in Germany**, v. 29, p. 39–47, 1986.

GUIMARÃES, T. Considerações sobre Sistema de Infusão de Terapia Intravenosa: Aberto x Fechado. **Revista Prática Hospitalar**, v. 10, n. 58, jul./ago. 2008.

HAYWARD, D.; JENK, D. R. Interactions between polymer containers and parenteral solutions" Correlating equilibrium polymer-water interaction constants with solute partition coefficients. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 66, n. 1-3, p. 87-96, Dec. 1990.

ICH. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. **Q1A(R2) Stability Testing of new drug substances and products** Rockville: ICH, 2003.

INTERNATIONAL STANDARD. **ISO 15747**: plastic containers for intravenous injection. Geneva (Switzerland): CEN, 2010. p. 2-3; 6-8.

ISHII, M.; KUNIMURA, J.S.; PENNA, T.C.V.; CHOLEWA, O. Study on the thermal stability of green fluorescent protein (GFP) in glucose parenteral formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 7, n. 1-2, p. 109-117, 2007.

JENKE, D. Evaluation of model solvent systems for assessing the accumulation of container extractables in drug formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 224, n. 1-2, p. 51-60, Aug. 2001.

LIU, W.; LAM, P.; FAULHABER, S.; SANE S. Biopharmaceutical Manufacturing Using Blow-Fill-Seal Technology. **BioPharm International**, v. 24, n. 7, p. 22-29, 2011.

LUCISANO, V. Y. M. Estabilidade de Drogas. **Princípios de físico-química em Farmácia**. São Paulo: Edusp, 2003. v. 1.

MAROCO, J. **Análise Estatística com utilização do SPSS**. 2. ed. Lisboa: Silabo, 2003.

MARTINDALE, W. H.; REYNOLDS, J. E. F. (Eds). **The extra pharmacopeia**. 31 ed.- London: Royal Pharmaceutical Society, 1996. .

MONTEIRO, M.; GOTARDO, M. A. Efeito de di-(2-etilhexila) (DEHP) em bolsas de

PVC para soluções parenterais de grandes volumes. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, São Paulo, v. 26, n. 1, p. 9-18, 2005.

NÓBREGA, J. A.; A. OKUMURA, F.; CAVALHEIRO, E. T. G. Experimentos simples usando fotometria de chama para ensino de princípios de espectrometria atômica em cursos de química analítica. **Quim. Nova**, v. 27, n. 5, p. 832-836, 2004.

NOGAROTO, S. L. ; PENNA, T. C. V. ; MARTINS, A. M. S. ; GODOI, I. P. Validação de Processos de Esterilização. In: Nogaroto, S. L.; Penna, T. C. V. (Org.). **Desinfecção e Esterilização**. São Paulo: Atheneu, 2006. p. 125-156.

NUNES, J.A. Desenvolvimento de método para determinação de Ag, As, Cd, Co, Mn, Ni, Pb e Se em sangue por espectrometria de massas com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) utilizando diluição das amostras em meio alcalino. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo. São Paulo, 2009.

PEARSON, M. L. Guidelines for prevention of intravascular device-related infections. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1996.

PINTO, T. J. A; KANEKO, T. M.; PINTO, A. F.. **Controle Biológico de Qualidade de Produtos Farmacêuticos, Correlatos e Cosméticos**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2010.

RIBEIRO, A. F.; OLIVEIRA, A. A. Considerações sobre a estabilidade de Soluções Parenterais de Grande Volume Acondicionadas em Bolsas de PVC. **Revista Fármacos & Medicamentos**, São Paulo, v. 10, n. 56, p. 60-62, jan./fev. 2009.

RODOLFO JR., A.; MEI, L. H. I. Mecanismos de degradação e estabilização térmica do PVC. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, vol. 17, n. 3, p. 263-275, 2007.

_____; A. NUNES, L. R.; ORMANJI, W. **Tecnologia do PVC**. 2. ed. São Paulo: ProEditores/Braskem, 2002.

ROSENTHAL, V. D.; MAKI D. G. Prospective study of the impact of open and closed infusions systems on rates of central venous catheter - associated bacteremia. **American Journal Infection Control (AJIC)**, United States of America, v. 32, n. 3, p. 135-141, 2004.

SARBACH, C ; YAGOUBI, N.; SAUZIERES, J.; RENAUX, C ; FERRIER, D.; POSTAIRE, E. Migration of impurities from a multilayer plastics container into a parenteral infusion fluid. **Int. J. Pharm.**, v. 140, n. 2, p. 169-174, 1996.

SARANTÓPOULOS, C.I.G.L; OLIVEIRA, L.M; PADULA, M.; COLTRO, L.; ALVES, R.M.V.; GARCIA, E.C. **Embalagens Plásticas Flexíveis** – Principais Polímeros e Avaliação de Propriedades. Campinas: Centro de Tecnologia de Embalagem – CETEA/ITAL, 2002.

SILVA, K. E. R; ALVES, F. D. S.; SOARES, M. F. R; PASSOS, R. C. S; FARIA, A. R; ROLIM NETO, P. J. Modelos de Avaliação da Estabilidade de Fármacos e Medicamentos para a Indústria Farmacêutica. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v. 30, n. 2, p. 1-8, 2009.

SILVERSTEIN., R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. **The United States Pharmacopeia**. 33th.ed. Rockville: U. S. Pharmacopeial, 2010

VALERY, P. P. T. **Boas práticas para estocagem de medicamentos**. Brasília: Central de Medicamentos, 1990.