

Desenvolvimento e validação intralaboratorial de metodologia analítica para determinação do teor de álcool etílico nas formulações antissépticas líquidas e em gel por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por índice de refração (clae-ir)

Development and intra-laboratory validation of analytical methodology for the determination of ethyl alcohol content in liquid and gel antiseptic formulations by high performance liquid chromatography with refractive index detection (clae-ir)

DOI:10.34117/bjdv7n12-138

Recebimento dos originais: 12/11/2021

Aceitação para publicação: 06/12/2021

Lauro de Sena Laurentino

Mestrado

Departamento de Química. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Av. Brasil, 4365, Rio de Janeiro, Brasil, CEP 21040-900.

Tel: (21) 3865-5225.

E-mail: lauro.laurentino@incqs.fiocruz.br

André Luís Mazzei Albert

Doutorado

Departamento de Química. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Av. Brasil, 4365, Rio de Janeiro, Brasil, CEP 21040-900.

E-mail: andre.mazzei@incqs.fiocruz.br

Eduardo da Silva Gomes de Castro

Mestrado

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, IFRJ. Rua Pereira de Almeida, 88, Rio de Janeiro, Brasil, CEP 202060-100.

Tel: (21) 99878-2097.

E-mail: castro.eduardo@ifrj.edu.br

Ana Lúcia Ribeiro de Barros

Mestrado

Departamento de Química. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Av. Brasil, 4365, Rio de Janeiro, Brasil, CEP 21040-900.

E-mail: ana.barros@incqs.fiocruz.br

Matheus Herdy Moraes

Graduado

Departamento de Química. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Av. Brasil, 4365, Rio de Janeiro, Brasil, CEP 21040-900.

E-mail: matheusherdy@eq.ufrj.br

Leonardo de Souza Lopes

Doutorado

Departamento de Química. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde,
Fundação Oswaldo Cruz. Av. Brasil, 4365, Rio de Janeiro, Brasil, CEP 21040-900.
E-mail: leonardo.lopes@incqs.fiocruz.br

Adriana Sant'Ana da Silva

Mestrado

Departamento de Química. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde,
Fundação Oswaldo Cruz. Av. Brasil, 4365, Rio de Janeiro, Brasil, CEP 21040-900.
E-mail: adriana.santana@incqs.fiocruz.br

José Luiz Neves de Aguiar

Doutorado

Departamento de Química. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde,
Fundação Oswaldo Cruz. Av. Brasil, 4365, Rio de Janeiro, Brasil, CEP 21040-900.
E-mail: jose.aguiar@incqs.fiocruz.br

RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvido e validado uma metodologia analítica para determinação de álcool etílico na forma de gel em formulações de produtos de diversas categorias, tais como: medicamentos, cosméticos e saneantes. O objetivo desse trabalho foi obter uma metodologia capaz de executar a vigilância sanitária dos produtos comercializados na forma de "álcool em gel" no Brasil durante o período da pandemia da Covid-19. O método é baseado na separação do analito dos demais componentes da matriz que apresentam o grupamento hidroxila na formulação, utilizando-se inicialmente a separação através de uma coluna de fase reversa, onde a separação é promovida pela diferença de polaridade entre as moléculas e afinidade com a fase estacionária. Após passagem pela coluna de fase reversa, a separação será realizada por uma coluna de troca iônica, a qual se dá pela interação eletrostática entre a resina contendo grupos funcionais carregados e íons de cargas opostas. Os resultados mostraram que o método apresentou linearidade de 500 a 1500 mg/L. Os parâmetros de: seletividade, precisão e exatidão foram confirmados por ensaios de recuperação utilizando-se Material de Referência Certificado (MRC), na amostra (95 - 105%). Por esse método foram analisadas 85 amostras comercializadas e os resultados mostraram que 54 estavam satisfatórias e 31 insatisfatórias. Conclusões: Todos os parâmetros avaliados ficaram de acordo com resolução específica da ANVISA e todos os resultados mostraram que a metodologia pode ser reproduzida com segurança e confiabilidade, podendo ser empregada em programas de monitoramento com as vigilâncias municipais, estaduais e Anvisa.

Palavras-chave: COVID-19, Pandemia, Álcool Etilico, Validação, CLAE-IR.

ABSTRACT

In this work, an analytical methodology was developed and validated to determine ethyl alcohol in the form of gel in formulations of products of different categories such as: medicines, cosmetics and sanitizing agents. The goal of this work was develop a methodology able to performing the sanitary surveillance of products marketed in the form of "Alcohol Gel" in Brazil during the COVID-19 pandemic period. The method was based on the separation of the analyte from the other components of the matrix that present the

hydroxyl group in the formulation, initially using the separation through a reverse phase column, where the separation is based on the difference in polarity between the molecules and affinity with the stationary phase. After passing through the reverse phase column, the separation will be carried out by an ion exchange column which is based on the electrostatic interaction between the resin containing charged functional groups and ions of opposite charges. The results indicated that the method showed linearity from 500 to 1500 mg / L. It was selectivity, precision and its accuracy was confirmed by the satisfactory test of recovery of the Certified Reference Material (MRC) in the sample (95 - 105%), 85 commercialized samples were analyzed, the results showed that 54 were satisfactory and 31 unsatisfactory. All parameters evaluated were in accordance with specific ANVISA resolution and all results showed that the methodology can be reproduced safely and reliably, and can be used in monitoring programs with municipal, state and Anvisa surveillance.

Keywords: COVID-19, Pandemic, Ethyl Alcohol, Validation, HPLC-RI

1 INTRODUÇÃO

Em virtude da emergência de saúde pública internacional relacionada ao vírus SARS-CoV2, causador da Covid-19, diversos procedimentos foram estabelecidos visando facilitar o acesso da população a produtos auxiliares na prevenção do contágio, dentre eles o uso de preparações antissépticas a base de álcool etílico¹. Trata-se de medidas excepcionais e temporárias que visam atender à demanda gerada pela pandemia de Covid-19, e que foram avaliadas do ponto de vista da relação risco-benefício como favoráveis aos pacientes e à população em geral².

A Anvisa através da publicação da RDC N° 350, de 19/03/2020³ permitiu, em caráter excepcional, a produção e comercialização de preparações antissépticas alcoólicas sem prévia autorização por empresas regularizadas fabricantes de medicamentos, saneantes, cosméticos e farmácias magistrais. Em setembro de 2020, a Anvisa altera a RDC N° 350/2020 e passa a vigorar a RDC N° 422, de 16/09/2020⁴, até que o Ministério da Saúde reconheça que não mais se configura a situação de Emergência em Saúde Pública de Importância Nacional. Essas legislações permitiram a comercialização no país de muitos produtos antissépticos e desinfetantes a base de álcool etílico nos mais diversos tipos de formulação e em qualquer forma física e conseqüentemente, uma demanda no monitoramento da qualidade, eficácia e segurança dos mesmos².

A utilização do álcool etílico hidratado tem sido mundialmente reconhecida devido sua excelente atividade bactericida de amplo espectro, rápida ação na temperatura ambiente, baixo custo, facilidade de manuseio e aquisição e odor

relativamente agradável. A ampla solubilidade em água, significativa estabilidade e sua baixa toxicidade ao ambiente são algumas vantagens de seu uso⁵.

Devido à inexistência de uma metodologia oficial para a determinação do teor do álcool etílico nas formulações antissépticas e desinfetantes, tornou-se necessário o desenvolvimento e validação de um procedimento. O método desenvolvido no presente nesse trabalho utiliza a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência, com detecção por índice de refração e baseia-se na separação do analito dos possíveis componentes da matriz que apresentem o grupamento hidroxila em sua composição, como por exemplo a glicerina, o propilenoglicol e o isopropanol. A separação completa ocorre em duas etapas, a primeira etapa considera a diferença de polaridade entre as moléculas e a afinidade com a fase estacionária pela passagem em uma coluna de fase reversa, a segunda etapa de separação é realizada com base na interação eletrostática entre a resina contendo grupos funcionais carregados e íons de cargas opostas através de uma coluna de troca iônica, desse modo os íons da fase móvel deslocam os íons da amostra através da coluna e a força de interação define o tempo de retenção dos componentes na coluna e o sistema de detecção RID responde à mudança do índice de refração do analito com a fase móvel, gerando o sinal cromatográfico. A validação do método foi realizada, conforme o preconizado na Resolução RDC N°166 de 24/07/2017⁶. O objetivo desse trabalho foi desenvolver e, em seguida realizar a validação intralaboratorial de um método para determinação do teor de álcool etílico em formulações antissépticas que estão sendo comercializadas no Brasil durante o período da pandemia da Covid-19. O método desenvolvido e validado permitiu determinar o teor de etanol em 85 amostras comercializadas e os resultados obtidos fornecerão aos órgãos competentes o atual cenário da concentração de álcool etílico nas formulações antissépticas comercializadas durante a Pandemia. Além disso, o método poderá ser utilizado por outros laboratórios públicos (LACENS) e privados para controle desses produtos.

2 MÉTODOLOGIA

2.1 REAGENTES

Para a análise cromatográfica foi utilizada a água ultrapura do sistema Milli-Q (Milipore) como fase móvel. Toda a validação foi realizada com o reagente etanol, grau CLAE da marca Merck (Alemanha) e o material de referência certificado de etanol (MRC) foi adquirido junto ao Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO). Para os testes de adição padrão e efeito de matriz foi preparado um placebo

de álcool em gel baseado na formulação proposta no Formulário Nacional da Farmacopeia brasileira 2^o Edição⁷.

2.2 EQUIPAMENTOS

Para o desenvolvimento e validação deste trabalho foram utilizados o cromatógrafo de fase líquida da marca Waters, modelo Alliance 2996 e detector de índice de refração marca Waters, modelo 2414. As colunas utilizadas foram: coluna de guarda SHODEX SC-LG – WAT034244, coluna SHODEX SC1011, (300 x 8) mm e Coluna Polymerex X, 5u, RP-18, 100 A, (150 x 4,5) mm. As soluções foram filtradas com o filtro de Membrana 0,22 um, da Millipore. A balança analítica utilizada para a pesagem das amostras foi a Mettler Toledo AG 204. Utilizou-se micropipetas volumétricas e balões volumétricos apresentando certificado de calibração rastreáveis à Rede Brasileira de Calibração.

2.3 CONDIÇÕES ANALÍTICAS

Após o desenvolvimento e otimização da metodologia, as condições analíticas foram definidas como: coluna Polymerex X, 5u, RP-18 conectada à coluna de guarda SHODEX SC-LG ligada à coluna SHODEX SC1011, (as colunas devem estar conectadas nesta ordem); fase móvel água ultrapura do sistema Milli-Q; fluxo de 0,6 mL/min; temperatura da coluna de 80°C, temperatura do amostrador de 4°C; detector de índice de refração com sensibilidade de 32 e temperatura interna de 40°C; volume de injeção de 20µL e tempo de corrida de 40 minutos.

2.4 ETAPA DE PREPARO DA AMOSTRA (CLEANUP)

As amostras que apresentam compostos oleosos em sua formulação, como por exemplo, extratos, óleos de coco, Aloe Vera, etc, deverão passar pelo processo de cleanup, com objetivo de retirar da matriz todos estes componentes oleosos que podem danificar as colunas de separação cromatográfica. Esse procedimento é realizado extraíndo em funil de separação todos esses compostos pela adição de 70 mL da amostra em 70 mL de Hexano P.A, com agitação vigorosa por 5 segundos e repetindo esta agitação por cinco vezes. Para validar essa etapa, foi realizada uma curva de adição padrão de etanol em uma matriz de cosméticos que contem compostos oleosos antes do processo de adição do hexano. O percentual de recuperação para cada nível de concentração foi calculado.

2.5 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

2.5.1 Parâmetros avaliados

O método proposto foi validado seguindo os parâmetros de seletividade, linearidade, faixa linear de trabalho, limites de detecção e quantificação, precisão, exatidão, efeito matriz, parâmetros especificados na Resolução RE N° 166/2017.

2.5.2 Seletividade

A seletividade do método foi demonstrada através das injeções das seguintes soluções: diluente (água ultrapura); padrão de álcool etílico grau HPLC; adição de padrão na amostra branca. Os tempos de retenção relativos ao álcool etílico foram comparados. Além disso, com o objetivo de avaliar a interferência de outros compostos hidroxilados e que apresentam alta probabilidade de estarem presentes na formulação, avaliou-se a seletividade do método injetando os seguintes compostos: glicerina, propilenoglicol, etanol e isopropanol. O padrão de cada um desses quatro compostos foi analisado individualmente, adicionados na amostra branca. Após identificar o tempo de retenção de cada composto, foi analisada uma mistura dos quatro compostos adicionados na amostra branca.

2.5.3 Linearidade

Para a comprovação da linearidade, foram preparadas três curvas analíticas de forma independente, contendo cinco níveis de concentrações igualmente espaçados (de 500 a 1500 mg/L). O método utilizado para análise de dados foi o método dos mínimos quadrados ordinários (MMQO). O ajuste da equação de calibração pelo MMQO se baseou em várias premissas relativas aos resíduos da regressão e ao modelo proposto. Verificou-se se os resíduos foram variáveis aleatórias com média zero e variância constante e desconhecida, se os resíduos foram variáveis normalmente distribuídas (teste de Ryan-Joiner), se os resíduos apresentavam comportamento homoscedásticos, com distribuição constante ao longo dos valores de X (teste de Brown-Forsythe) e se o resíduo de uma observação não foi correlacionado com o resíduo em outra observação, se foram independentes (teste de Durbin-Watson) e se a relação entre X_i e Y_i era linear (teste lack-of-fit)⁸.

2.5.4 Faixa Linear de Trabalho

A faixa linear de trabalho foi definida conforme o estabelecido na Resolução da ANVISA nº166, de 24 de julho de 2017, e o intervalo de variação testado foi entre 50 e 150% da concentração média da amostra de trabalho.

2.5.5 Limites de Detecção e Quantificação

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para o álcool etílico foram avaliados através dos cálculos do desvio padrão da inclinação de três curvas analíticas preparadas de forma independente.

2.5.6 Precisão

A precisão foi avaliada em dois níveis: repetitividade (precisão intra-corrída) e precisão intermediária (precisão inter-corrídas). Para a repetitividade, foram avaliadas 9 replicatas independentes distribuídos em 3 níveis de concentração diferentes, sendo 3 preparos de concentrações baixas (500 mg/L), 3 de médias (1000 mg/L) e 3 altas (1500 mg/L), por um único analista em um mesmo dia. O desvio padrão (s) e o desvio padrão relativo percentual de repetitividade (DPRr) dos teores encontrados foram calculados e comparados com os limites estabelecidos em função da concentração de analito.^{7,9} Para a determinação da precisão intermediária, 9 replicatas independentes foram analisadas em dias diferentes e por analistas diferentes. O desvio padrão (s) e o desvio padrão relativo percentual de precisão intermediária (DPRr) dos teores encontrados foram calculados e comparados com os limites estabelecidos em função da concentração de analito. Para a concentração de 1000ppm (0,1%), o DPR% máximo aceitável é de 3,7%.^{7,9}

2.5.7 Exatidão

Para o parâmetro exatidão foram analisadas três soluções independentes do material de referência certificado MRC - INMETRO, preparadas na amostra branca, na concentração aproximada do ponto central da curva (1000 mg/L). Os teores obtidos foram comparados com o valor teórico que consta no certificado com os valores de recuperação calculados.

2.5.8 Efeito de Matriz

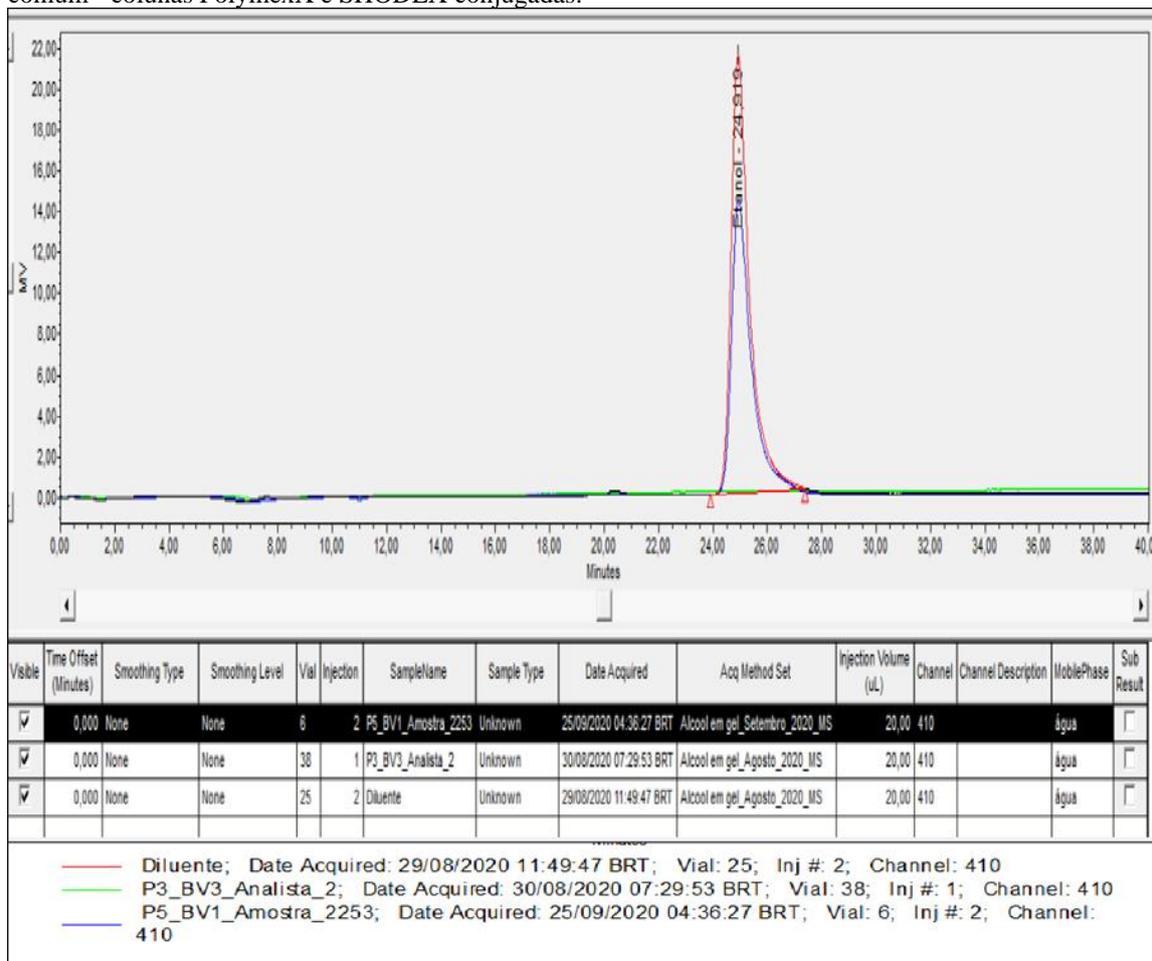
Devido à multiplicidade de formulações disponíveis comercialmente, a definição acerca de quais tipos de amostras ocorrem ou não o efeito de matriz, torna-se

tecnicamente inviável. Dessa forma, definiu-se que, para todas as amostras destinadas às análises fossem utilizadas curvas de adição padrão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método proposto apresentou boa seletividade. A figura 1 mostra a sobreposição dos cromatogramas do diluente, do padrão de etanol e da adição de padrão em uma matriz comum de produto cosmético. A sobreposição dos cromatogramas mostrados na figura, comprovam a seletividade do método para a análise do ativo etanol em solução aquosa, apresentando tempo de retenção de aproximadamente 24,9 min, e o mesmo sinal foi detectado no mesmo tempo de retenção na matriz de cosmético, quando o etanol foi adicionado.

Figura 1. Sobreposição dos cromatogramas do diluente, do padrão de etanol e da adição de padrão na matriz comum - colunas PolymexX e SHODEX conjugadas.

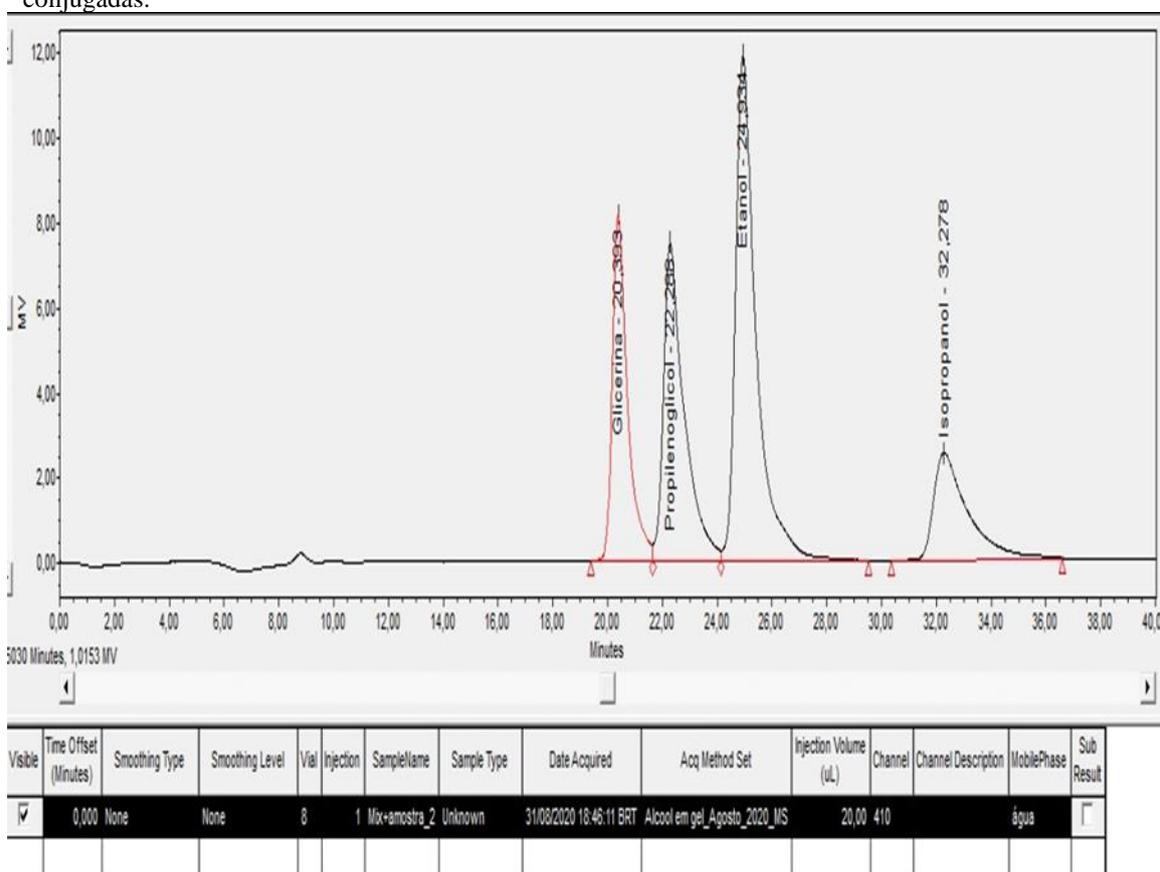


Fonte: Elaboração própria

A **figura 2** mostra a mistura dos quatro compostos (pool) adicionada a uma matriz comum. O tempo de retenção de cada sinal cromatográfico foram determinados e

verificou-se que o sinal no tempo de retenção (TR) 24,934 min, que se refere ao ativo etanol, possui uma adequada resolução em relação aos interferentes, glicerina (TR 20,393 min), propileno glicol (TR 22,268 min) e isopropanol (TR 32,278 min). Isso confirma que ocorreu uma boa separação cromatográfica de todos os compostos hidroxilados possíveis de estarem como aditivos nas matrizes de cosméticos e saneantes o que comprova que o método apresenta boa seletividade em relação aos interferentes estudados quando foi utilizado o sistema cromatográfico com as duas colunas conjugadas (PolymexX e a coluna SHODEX).

Figura 2. Mistura dos quatro padrões em matriz comum de cosmético – colunas PolymexX e SHODEX conjugadas.

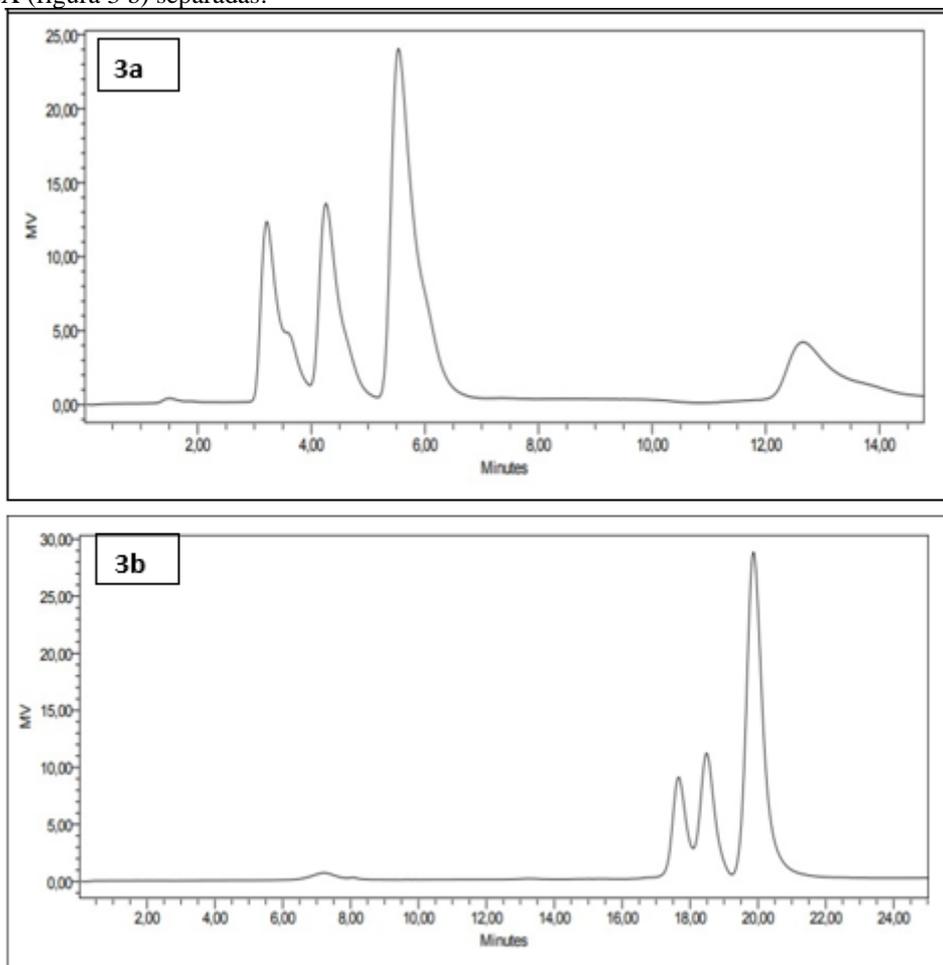


Fonte: Elaboração própria

A **figura 3** abaixo mostra a mesma mistura dos quatro compostos adicionada a uma matriz comum injetada no sistema cromatográfico utilizando a coluna PolymexX e a coluna SHODEX separadamente (Figura 3a e 3b respectivamente). Na figura 3a percebe-se que apesar de haver separação entre as quatro substâncias, há pouca retenção para garantir que o sinal do etanol (TR 5,8 min aproximadamente) não possa coeluir com outras substâncias provenientes de formulações diversas do mercado, além do que, é possível observar que a utilização de uma coluna de fase reversa maior provavelmente

acarretaria o aumento na má formação dos sinais (fator de cauda e duplicação do sinal). Na figura 3b percebe-se que apesar da melhoria na retenção do sinal do etanol, não há resolução adequada entre o sinal do isopropranol e do etanol (houve coeluição). Portanto, após o exposto, o desenvolvimento do método foi ratificado com a necessidade da utilização do sistema cromatográfico com as duas colunas conjugadas (Figura 2), garantido dessa forma uma adequada retenção, adequado formato e resolução satisfatória para quantificar o etanol em diversas formulações do mercado. Ademais, contribuiu para essa decisão o fato da limitação da necessidade de ser ter como fase móvel somente água (requisito fundamental para a utilização da coluna SHODEX).

Figura 3. Mistura dos quatro padrões em matriz comum de cosmético – colunas PolymexX (figura 3a) e SHODEX (figura 3 b) separadas.



Fonte: Elaboração própria

A linearidade obtida a partir de três do álcool etílico na faixa de concentração estudada foi confirmada e demonstrada pela na Tabela 1. As regressões obtidas foram significativas e não apresentaram desvio da linearidade, os resíduos seguiram a normal, eram independentes e apresentaram comportamento homoscedástico.

Tabela 1. Avaliação da linearidade: ANOVA da regressão, teste de desvio da linearidade (falta de ajuste) e avaliação dos resíduos das curvas analíticas do álcool etílico.

<i>Testes estatísticos</i>	<i>Resultados</i>
Análise da Regressão	Área = 719 (mg/L) + 39500
<i>(Modelo: $Y = bx + a$)</i>	
Coefficiente de Determinação (r^2)	0,9993
Significância da regressão	
<i>(ANOVA, $p < 0,001$)</i>	$p = 6,46 \cdot 10^{-20}$
Normalidade dos resíduos $R_{crit} = 0,94$	
<i>(Ryan-Joiner, $Req > R_{crit}$)</i>	$Req = 0,99$
Autocorrelação dos Resíduos	d (calculado) = 2,38
$dL = 1,08$; $dU = 1,36$	
Homogeneidade dos Resíduos	
<i>(Brown-Forsythe, $p > 0,05$)</i>	$p = 4,84 \cdot 10^{-1}$

Fonte: Elaboração própria

Os limites de detecção e quantificação determinados a partir da curva analítica do álcool etílico foram, respectivamente, 39,2 mg/L e 116 mg/L. O método apresentou-se preciso nos dois níveis analisados. A repetitividade do método apresentou coeficiente de variação de 1,23% para o nível de concentração baixo, 1,16% para o nível de concentração médio e 1,80% para o nível alto. A precisão intermediária foi confirmada pelos valores dos coeficientes de variação de 1,19% para concentração baixa, 1,17% para concentração média e 1,64% para concentração alta. Os valores do coeficiente de variação demonstrados acima confirmam que os resultados estão dentro dos critérios aceitáveis ($DPR < 3,7\%$). A exatidão foi comprovada com o resultado da análise do material de referência certificado e é mostrado na tabela 2. As análises dos 3 preparos independentes se mostraram satisfatórias, já que ficaram dentro dos limites estabelecidos pelo certificado emitido pelo INMETRO. Os percentuais de recuperação da etapa de cleanup são mostrados na tabela 3.

Tabela 2. Resultado do teste de exatidão do método - Análise do MRC - INMETRO 8852.0013.

MRC INMETRO	Real (g/L)	Aceitável (g/L)	Recuperação (%)
Preparo 1	5,028		100,9
Preparo 2	5,002	4,931 à 5,033	100,4
Preparo 3	5,015		100,6

Fonte: Elaboração própria

Tabela 3. Percentual de recuperação da etapa do cleanup.

	C (mg/L)	Área	Recuperação (%)
AP1	545,66	352725	-
AP2	799,66	516928	100,00
AP3	1053,66	680608	99,93
AP4	1307,66	846233	100,11
AP5	1561,66	1009028	99,95

Legenda: AP: adição padrão; C: Concentração

Fonte: Elaboração própria

De acordo com o guia de performance de métodos padronizados da AOAC (Association of Official Analytical Chemists)¹⁰, a faixa aceitável para o teste de recuperação para o nível de concentração estudado (0,1% = 1000ppm) é de 95 à 105%. Isso mostra que a etapa de cleanup apresentou resultados satisfatórios garantindo que o analito de interesse permaneça na fase aquosa.

4 CONCLUSÕES

O método descrito neste trabalho foi desenvolvido e validado a fim de se disponibilizar um procedimento analítico para quantificação de álcool etílico em produtos à base de gel em diversas categorias. O método apresentou-se confiável e seguro necessários em procedimentos analíticos. Os parâmetros verificados garantiram que ele é seletivo, exato e preciso, apresentando-se, portanto, validado conforme a RDC N° 166/2017 (ANVISA) e sendo recomendado para a rotina de análises de controle de qualidade em laboratórios públicos e privados. O método possibilitou a determinação do teor de etanol em 85 amostras do mercado de diversas formulações, resultando em 54 satisfatórias e 31 insatisfatórias, o controle realizado no período desses produtos dará suporte às ações da Vigilância Sanitária, promovendo medidas de melhoria da qualidade da produção e comercialização, entre outras responsabilidades que lhes são conferidas.

REFERÊNCIAS

1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Orientações gerais para produção de formulações antissépticas alcoólicas. Quarta diretoria, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2020.
2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Nota Técnica nº 3, de 24 de março de 2020. Orientações gerais sobre a doação de álcool 70%. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2020.
3. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Resolução RDC nº 350, de 19 de março de 2020. Define os critérios e os procedimentos extraordinários e temporários para a fabricação e comercialização de preparações antissépticas ou sanitizantes oficinais sem prévia autorização da Anvisa e dá outras providências, em virtude da emergência de saúde pública internacional relacionada ao SARS-CoV-2. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2020.
4. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Resolução RDC nº 42 de 25 de outubro de 2010. Dispõe sobre a obrigatoriedade de disponibilização de preparação alcoólica para fricção antisséptica das mãos, pelos serviços de saúde do país, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 2010.
5. ANDRADE, D. *et al.* Álcoois: a produção do conhecimento com ênfase na sua atividade antimicrobiana. *Medicina, Ribeirão Preto*, 35: 7 – 13, Mar. 2002.
6. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Resolução RE nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de 417 métodos analíticos. [Diário Oficial da República Federativa do Brasil], Poder executivo, 418 Brasília de 25 de julho 2017.
7. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira. 2.ed. Rev. 2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa. 2012.
8. BAZILIO, FS. *et al.* Uso de planilha eletrônica na verificação da adequação de curva analítica ao modelo linear. *Analytica*, Rio de Janeiro, 2012.
9. Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia - Inmetro. DOQ- CGCRE-008: Orientação sobre validação de métodos analíticos. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia; 2018.
10. AOAC International, Official methods of analysis of AOAC International, in Guidelines for Standard Method Performance Requirements (Appendix F Gaithersburg: AOAC International, 2016.