

## Estudos de Estabilidade Análise de Impurezas Validação Analítica Validação de Processo

Profa. Camila (Vic) Crnkovic – camilavic@usp.br



FBT 0536  
SUPERVISÃO E GARANTIA DE QUALIDADE

Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas



## Validação Analítica:

- É a avaliação sistemática de um método por meio de ensaios experimentais de modo a confirmar e fornecer evidências objetivas de que os requisitos específicos para seu uso pretendido são atendidos.
- A validação deve demonstrar que o método analítico produz resultados confiáveis e é **adequado à finalidade** a que se destina, de **forma documentada** e mediante **critérios objetivos**.

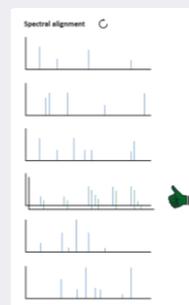


## Parâmetros da Validação Analítica

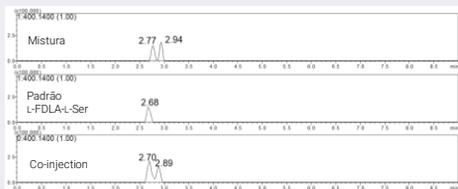
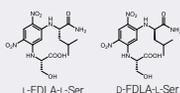
- Seletividade
- Linearidade
- Efeito Matriz
- Precisão
- Exatidão
- Limite de Detecção
- Limite de Quantificação
- Robustez
- Faixa de Trabalho

## Parâmetros da Validação Analítica Seletividade

- Capacidade de identificar o analito de interesse, inequivocamente, na presença de outros componentes da amostra (impurezas, produtos de degradação, matriz)
- Pode ser necessária a combinação de dois ou mais métodos analíticos de identificação.
- Para demonstrar a seletividade, os ensaios devem ser aplicados a substâncias estruturalmente semelhantes ao analito.



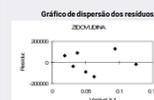
## Parâmetros da Validação Analítica Seletividade



## Parâmetros da Validação Analítica Linearidade

- Capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra.

- No mínimo, 5 concentrações diferentes da SQR para as soluções preparadas em, no mínimo, **triplicata**.
- O coeficiente de correlação deve estar acima de 0,990.
- O coeficiente angular deve ser significativamente diferente de zero.



DOI: 10.5216/rel.v5i2.5229

## Parâmetros da Validação Analítica

### Efeito Matriz

- O efeito matriz deve ser determinado por meio da comparação entre os coeficientes angulares das curvas de calibração construídas com o padrão do analito em solvente e com a amostra fortificada com o padrão.
- O paralelismo das retas é indicativo de ausência de interferência dos constituintes da matriz.
- Paralelismo deve ser demonstrado por análise estatística com nível de significância de 5%.



## Parâmetros da Validação Analítica

### Faixa de Trabalho

- Deve-se considerar os resultados de linearidade, precisão e exatidão.

Teste	Faixa
Teor	80-120%
Uniformidade de conteúdo	70-130%
Dissolução	-20% a +20%
Teor de Impurezas	Limite de quantificação (LQ) a 120%

## Parâmetros da Validação Analítica

### Precisão e Exatidão



## Parâmetros da Validação Analítica

### Precisão

Avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra

- A precisão deve ser demonstrada pela dispersão dos resultados, calculando-se o desvio padrão relativo (DPR):

$$DPR = \frac{DP}{CMD} \times 100$$

concentração média determinada

- 3 concentrações: baixa, média e alta, com 3 réplicas em cada nível ou
- 6 réplicas a 100% da concentração do teste

#### Repetibilidade:

- Mesmas condições de operação, mesmo analista, mesma instrumentação, mesmo dia
- Precisão intra-corrída

#### Precisão Intermediária

- Mesma amostra, no mesmo laboratório, em pelo menos dois dias diferentes, realizada por operadores distintos
- Precisão inter-corrída

#### Reprodutibilidade

- Laboratórios diferentes.
- Aplicável em estudos colaborativos ou na padronização de métodos analíticos para inclusão desses em compêndios oficiais
- Precisão inter-laboratorial

## Parâmetros da Validação Analítica

### Exatidão

Avaliação da proximidade dos resultados obtidos em relação ao valor verdadeiro

- Calculada a partir de 9 determinações, contemplando o intervalo linear do método analítico, ou seja, 3 concentrações (baixa, média e alta) com 3 réplicas em cada nível

$$\text{Exatidão} = \frac{\text{concentração média experimental} - \text{concentração teórica}}{\text{concentração teórica}} \times 100$$

- Crítérios de aceitação devem ser definidos de acordo com:**

- Os objetivos do método;
- Variabilidade intrínseca do método;
- Concentração de trabalho;
- Concentração do analito da amostra.

## Parâmetros da Validação Analítica

### Limite de Detecção e Quantificação

Menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser **detectado**, porém, **não necessariamente quantificado**

- Métodos visuais: menor concentração em que se pode constatar o efeito visual
- Métodos instrumentais: razão sinal-ruído ( $\geq 2:1$ )

$$LD = \frac{3,3\sigma}{IC}$$

- desvio padrão
  - intercepto com o eixo do Y de, no mínimo, 3 curvas de calibração
  - linha de regressão
  - ruído da análise de brancos
- IC: inclinação da curva de calibração

Menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser **determinada com precisão e exatidão aceitáveis**

$$LQ = \frac{10\sigma}{IC}$$

- Razão sinal-ruído  $\geq 10:1$
- Devem ser testadas precisão e exatidão nas concentrações correspondentes ao limite de quantificação.

Para produtos adequados à resolução que estabelece parâmetros para a identificação, identificação e quantificação de produtos de degradação em medicamentos, o limite de quantificação deve ser menor ou igual ao limite de identificação.

Parâmetros da Validação Analítica

# Robustez

- Indica a capacidade do método em resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas.
- Caso haja susceptibilidade do método a variações nas condições analíticas, essas deverão ser controladas por meio de precauções descritas no método.

Preparo das Amostras	Estabilidade das reações analíticas
	Tempo de exposição
	Compatibilidade de Eluente
Especrofotometria	Variação de pH do eluente
Cromatografia Líquida	Diferentes sites ou fabricantes de solventes
	Variação de pH do fase móvel
	Diferentes sites ou fabricantes de colunas
	Temperatura
Cromatografia Gasosa	Fluxo de fase móvel
	Diferentes sites ou fabricantes de colunas
	Temperatura
Outras técnicas analíticas	Temperatura
	As variações a serem testadas deverão ser avaliadas criticamente e seus resultados deverão ser apresentados

Parâmetros da Validação Analítica

# Robustez

- Teste de Youden: planejamento experimental baseado em análise estatística para a redução do número de experimentos na análise de robustez.

TABLE I - Nominal parameters and variables for the robustness evaluation of the chromatographic method for benzamide quantitation

Parameter	Nominal condition	Variable
A1	Methanol concentration in mobile phase	80% - A 90% - B
B1	Methaly phase pH	2.8 - B 3.1 - A
C1	Column temperature	30°C - C 30°C - A
D1	Methaly phase flow rate	1.0 - D 1.2 - A
E1	Column supplier	Shimadzu - E Ace - A
F1	Methaly supplier	Indus - F J. Baker - F
G1	Chromatograph model	Agilent 1200 - G JIP 1100 - E

TABLE II - Factorial combination of the analytical parameters for robustness evaluation by Youden's test

Analytical parameter	Factorial combination							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Methaly concentration	A	A	A	A	B	B	B	B
Methaly phase pH	B	B	B	B	A	A	A	A
Column temperature	C	C	C	C	C	C	C	C
Methaly phase flow rate	D	D	D	D	D	D	D	D
Column supplier	E	E	E	E	E	E	E	E
Methaly supplier	F	F	F	F	F	F	F	F
Chromatograph model	G	G	G	G	G	G	G	G
Result	1	2	3	4	5	6	7	8

DOI: 10.1590/S1519-40522009000200007

## Testes para diferentes finalidades

Parâmetro Avaliado	Identificação	Teste de Impurezas		Doseamento
		Quantitativo	Ensaio Limite	-dissolução (quantificação) -uniformidade de conteúdo -potência
Exatidão	não	sim	não	Sim
Precisão Repetibilidade	não	sim	não	Sim
Precisão Intermediária	não	sim <sup>(1)</sup>	não	sim <sup>(1)</sup>
Seletividade <sup>(2)</sup>	sim	sim	sim	sim
Limite de Detecção	não	não <sup>(3)</sup>	sim	não
Limite de quantificação	não	sim	não	não <sup>(3)</sup>
Linealidade	não	sim	não	sim
Intervalo	não	sim	não	sim

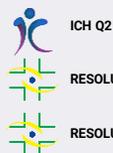
(1) Nos casos em que for condizente a reprodutibilidade, não é necessário condizir a precisão intermediária.  
 (2) Nos casos de ensaio de identificação, pode ser necessária a combinação de dois ou mais procedimentos analíticos para atingir o nível necessário de discriminação.  
 (3) Pode ser necessário em alguns casos.

## Validação de métodos analíticos: marcos legais



ICH Q2  
 RESOLUÇÃO - RDC Nº 166, DE 24 DE JULHO DE 2017  
 RESOLUÇÃO - RDC Nº 27, DE 17 DE MAIO DE 2012

## Validação de métodos analíticos: marcos legais



ICH Q2  
 RESOLUÇÃO - RDC Nº 166, DE 24 DE JULHO DE 2017  
 RESOLUÇÃO - RDC Nº 27, DE 17 DE MAIO DE 2012

métodos analíticos empregados em insumos farmacêuticos, medicamentos e produtos biológicos em todas as suas fases de produção

## Validação de métodos analíticos: marcos legais



ICH Q2  
 RESOLUÇÃO - RDC Nº 166, DE 24 DE JULHO DE 2017  
 RESOLUÇÃO - RDC Nº 27, DE 17 DE MAIO DE 2012

métodos bioanalíticos

## Validação de Métodos Analíticos Microbiológicos

"§ 4º Estão excluídos desta Resolução os métodos microbiológicos, para os quais deve ser apresentada justificativa técnica para a abordagem escolhida, baseada na Farmacopeia Brasileira ou em outros compêndios oficiais reconhecidos pela Anvisa." (RDC 166/2017)

Farmacopeia Americana (USP)  
Farmacopeia Europeia (EP)

Art. 7º Os métodos analíticos compendiais devem ter sua adequabilidade demonstrada ao uso pretendido, nas condições operacionais do laboratório, por meio da apresentação de um estudo de validação parcial.

Art. 8º A validação parcial deve avaliar, pelo menos, os parâmetros de precisão, exatidão e seletividade.

- Não há regulação específica para a validação de métodos microbiológicos.



## Estudos de Estabilidade Análise de Impurezas Validação Analítica Validação de Processo

Profa. Camila (Vic) Crnkovic – camilavic@usp.br

USP

FBT 0536  
SUPERVISÃO E GARANTIA DE QUALIDADE  
Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas



## Qualificação vs Validação



## Qualificação vs Validação



## Plano Mestre de Validação (PMV)

- O Plano Mestre de Validação (PMV) é o documento que traz todos os aspectos do processo de validação e expressa intenções de como é sua gestão, incluindo as definições de **políticas, abrangência, cronogramas e responsabilidades**

Moretto & Calvo. Qualificações e Validações. Sindusfarma 2017

## Plano Mestre de Validação (PMV)

- O PMV deve ser escrito de forma clara e objetiva e conter os itens a seguir:
  - Objetivo;
  - Política de Validação;
  - Estrutura organizacional para as atividades de validação;
  - Escopo do PMV;
  - Áreas responsáveis;
  - Planejamento de atividades;
  - Treinamentos;
  - Cronogramas;
  - Documentos (POPs, **protocolos**, etc);
  - Controle de Mudanças;
  - Assinaturas e Referências.

Moretto & Calvo. Qualificações e Validações. Sindusfarma 2017



## Tipos de Qualificação



## Qualificação de Projeto (QP)

- Verificação documentada de que o projeto proposto **para instalações, sistemas e equipamentos** é adequado ao seu fim estabelecido;
- Responde à pergunta: as especificações do projeto foram atendidas de acordo com os requerimentos do usuário e as BPF?

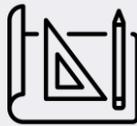
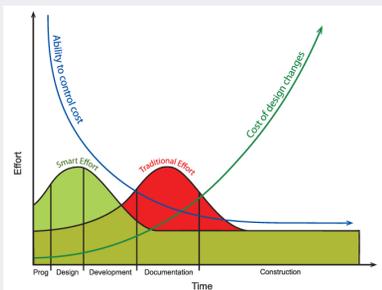


Figura 1 - Lei de Sitter.



## Qualificação de Instalação (QI)

- Art. 33. A QI deve ser executada em equipamentos, instalações, utilidades e sistemas.
  - Art. 34. A QI deve incluir, mas não se limitar, aos seguintes itens:
    - I - verificação da correta instalação de componentes, instrumentação, equipamentos, tubulações e serviços em relação aos desenhos técnicos e especificações de engenharia;
    - II - verificação da instalação correta em relação a critérios pré-definidos;
    - III - coleta e compilação de instruções de funcionamento e de trabalho do fornecedor e requisitos de manutenção;
    - IV - **calibração de instrumentação**; e
    - V - verificação dos materiais de construção.
- IN 168/2022



## Qualificação de Operação (QO)

Operação & Segurança

- Art. 35. A QO normalmente segue a QI, mas dependendo da complexidade do equipamento, pode ser executada como uma combinação de Qualificação de Instalação/Operação (QIO).
- Art. 36. A QO deve incluir, não estando limitada, aos seguintes itens:
  - I - testes que foram desenvolvidos a partir do conhecimento dos processos, sistemas e equipamentos para garantir que o sistema esteja operando conforme projetado; e
  - II - testes para confirmar limites operacionais superiores e inferiores e/ou condições de "pior caso".

IN 168/2022



## Qualificação de Desempenho (QD)

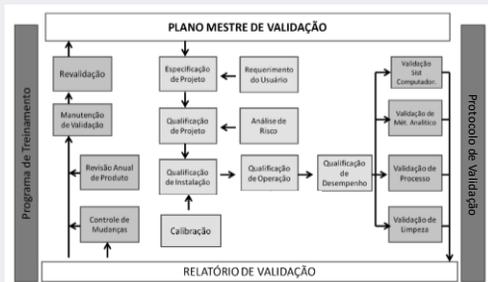


- Verifica se o processo está consistente e reproduzível, de acordo com os parâmetros/especificações definidos;
- Deve incluir:
  - Testes utilizando materiais de produção, substitutos qualificados ou produtos simulados com comportamento comprovadamente equivalente sob condições normais de operação;
  - Testes que incluam uma condição ou conjunto de condições compreendendo os limites de operação (superiores e inferiores)

## Tipos de Qualificação



Moretto & Calvito. Qualificações e Validações. Sindusfarma, 2017



Adaptado de Moretto & Calvito. Qualificações e Validações. Sindusfarma, 2017

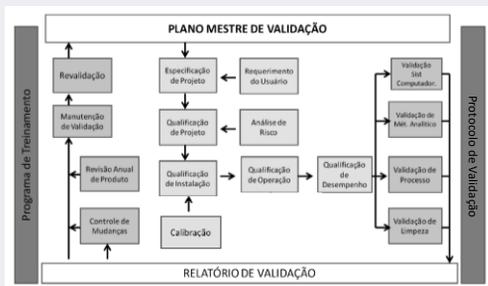
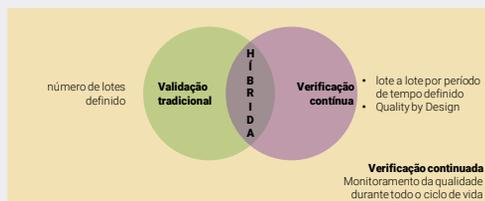
## Protocolo de Validação

- Descreve detalhadamente o processo de validação, definindo:
  - cronogramas e responsabilidades;
  - parâmetros críticos de processo (PCP);
  - atributos críticos de qualidade (ACQ);
  - critérios de aceitação;
  - plano de amostragem

## Abordagens para a Validação de Processos



## Abordagens para a Validação de Processos



Adaptado de Moretto & Calvito. Qualificações e Validações. Sinusfarma, 2017

## Validação de limpeza

- "Art. 97. A validação de limpeza deve ser realizada para confirmar a eficácia de qualquer procedimento de limpeza para todos os equipamentos em contato direto com os produtos.
- Art. 105. Os limites para resíduos de produtos carregados devem ser baseados em uma avaliação toxicológica."

IN 168/2022

## Validação de limpeza

- A validação de limpeza é um requisito regulatório e deve estar prevista no Plano Mestre de Validação.
- A sequência de fabricação dos produtos numa unidade multipropósito tem impacto na definição da estratégia da validação de limpeza.
- A limpeza e desinfecção de equipamentos e áreas são elementos-chave para o controle da contaminação.
- Uma das formas de usar corretamente os desinfetantes e antissépticos é promover o rodízio entre as substâncias ativas, garantindo, assim, a eficiência da desinfecção e evitando o aparecimento de cepas de microrganismos resistentes.

Moretto & Calvito. Qualificações e Validações. Sinusfarma, 2017

## Validação de processo: marcos legais



ICH Q7

**RESOLUÇÃO - RDC N° 654, DE 24 DE MARÇO DE 2022**  
Boas Práticas de Fabricação de Insumos Farmacêuticos Ativos

**RESOLUÇÃO - RDC N° 658, DE 30 DE MARÇO DE 2022**  
Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos

**INSTRUÇÃO NORMATIVA IN N° 138, DE 30 DE MARÇO DE 2022**

Boas Práticas de Fabricação complementares às atividades de qualificação e validação.

## DICA: Bibliotecas Temáticas ANVISA



gouvbr Ministério da Saúde | Digital de Governo | Acesso à Informação | Legislação | Atividade | **Tela**

Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa | Digite sua pesquisa

Assuntos | Regulação | Legislação | **Bibliotecas temáticas**

### Bibliotecas temáticas

Publicado em 05/04/2023 09:00 | Atualizado em 07/10/2022 07:42 | Compartilhar

Todas as normas da Anvisa foram organizadas em bibliotecas temáticas. O objetivo é facilitar o acesso e a aplicabilidade do enfoque regulatório e aprimorar o processo de revisão normativa.

As bibliotecas foram divididas por macrotemas, representados pelas imagens, que correspondem às grandes áreas de atuação da Agência. A biblioteca de temas transverais abrange assuntos aplicáveis a todos os macrotemas, como Autorização de Funcionamento de Empresas (AFE), Certificação de Boas Práticas de Fabricação (CBPF), Tarefas de Fiscalização de Vigilância Sanitária (TFVS), Inspeções em Boas Práticas, etc.

Cada biblioteca por sua vez, é estruturada em temas que representam ações de atuação regulatória, descritas de acordo com o que a Agência regula (produto e serviços sujeitos à vigilância sanitária e como eles regulam: notificação, fiscalização, monitoramento etc).

As bibliotecas são atualizadas periodicamente, conforme as publicações de normativas da Anvisa.

<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/regulamentacao/legislacao/bibliotecas-tematicas>

## DICA: Bibliotecas Temáticas ANVISA



<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/regulamentacao/legislacao/bibliotecas-tematicas>

## QUIZ!

Etapas da atividade:

1. Formação de grupos (2, 3 ou 4 membros)
2. Resolução das perguntas em grupo
3. Sorteio de grupos para compartilhar as respostas com a turma
4. Demais grupos concordam ou discordam da resposta
5. Revisão das respostas



## OBRIGADA!

Profa. **Camila (Vic) Crnkovic**  
camilavic@usp.br