



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

Centro de Tecnologia e Ciências

Instituto de Química

Alexander da Silva Neves

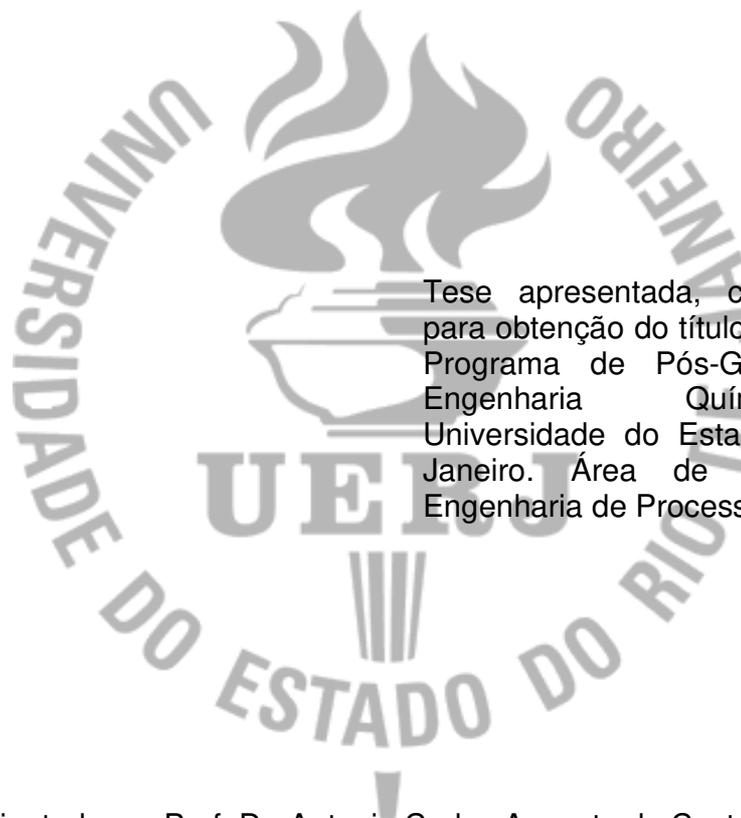
**Qualidade por *design* na operação unitária de  
liofilização de um produto biológico**

Rio de Janeiro

2021

Alexander da Silva Neves

**Qualidade por *design* na operação unitária de liofilização de um produto biológico**



Tese apresentada, como requisito para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de Concentração: Engenharia de Processos

Orientadores: Prof. Dr. Antonio Carlos Augusto da Costa  
Prof<sup>a</sup>. Dra. Elezer Monte Blanco Lemes

Rio de Janeiro  
2021

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC/Q

N518 Neves, Alexander da Silva.  
Qualidade por design na operação unitária de liofilização de um  
produto biológico. – 2021.  
166 f.

Orientador: Antonio Carlos Augusto da Costa  
Elezer Monte Blanco Lemes

Dissertação (Doutorado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro.  
Instituto de Química.

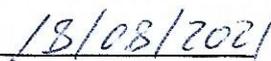
1. Liofilização – Teses. 2. Vacinas virais – Teses. 3. Vacinas –  
Indústrias - Teses. I. Costa, Antonio Carlos Augusto da. II. Lemes, Elezer  
Monte Blanco. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de  
Química. IV. Título.

CDU 661.12

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total  
ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.



Assinatura



Data

Alexander da Silva Neves

**Qualidade por *design* na operação unitária de liofilização de um produto biológico**

Tese apresentada, como requisito para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de Concentração: Engenharia de Processos.

Aprovado em: 11 de fevereiro de 2021.

Orientadores:

Prof. Dr. Antonio Carlos Augusto da Costa  
Instituto de Química – UERJ

Prof.<sup>a</sup>. Dra. Elezer Monte Blanco Lemes  
Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz)

Banca Examinadora:



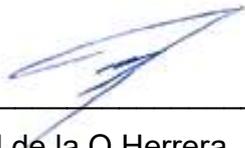
---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Gizele Cardoso Fontes Sant'Ana  
Instituto de Química – UERJ



---

Prof.<sup>a</sup> Dra. Marta Antunes Pereira Langones  
Instituto de Química – UERJ



---

Dr. Miguel Angel de la O Herrera  
Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz)

DocuSigned by:  
  
8D7C030662EF42A...

---

Dr. Daniel André Ribeiro  
Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz)



---

Dra. Marilza Batista Correa  
Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz)

Rio de Janeiro

2021

## DEDICATÓRIA

Aos meus pais Loyde Fatima e Luiz Carlos (*in memorian*), irmã Cristina, madrinha Cecília (*in memorian*), cunhado Christiano (*in memorian*), que sempre estão no meu coração e são o meu apoio em todos os momentos.

E especialmente para Luciana e Giovanna, que amo com todas as forças do meu coração, e são a alegria da minha vida.

## AGRADECIMENTOS

À Dra. Elezer Monte Blanco Lemes – por ser uma mentora no âmbito profissional e pessoal, me guiando sempre a procurar novos desafios e metas.

Ao Professor Doutor Antonio Carlos Augusto da Costa – pelo apoio, compreensão e orientação que foram essenciais para a realização deste trabalho.

Ao Doutor Antônio de Pádua Risolia Barbosa – pelo apoio e por ter acreditado que esse trabalho seria possível.

À Marcus Verdan e Izabella Pessoa – pelo apoio durante a realização deste trabalho.

À Luiz C. Penna Fanca (*in memorian*) – pela mentoria profissional de mais de 15 anos.

Aos amigos e colegas de trabalho – pela companhia, amizade e todas as experiências vivenciadas juntos.

Ao Programa De Pós-Graduação Em Engenharia Química do Instituto de Química da Universidade do Estado do Rio de Janeiro por me permitir formar parte desta ilustre Instituição.

Ao Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos Bio-Manguinhos – por ter me dado a honra de fazer parte de tão ilustre Instituição.

A imunização tem sido uma grande história de sucesso na saúde pública. A vida de milhões de crianças têm sido salva, milhões tem a chance de viver uma vida mais longa e saudável, de aprender, brincar, ler e escrever, se movimentar por aí livremente e sem sofrimento.

*Nelson Mandela*

## RESUMO

NEVES, Alexander da Silva. *Qualidade por design na operação unitária de liofilização de um produto biológico*. 2021. 166 f. Dissertação (Doutorado em Engenharia Química) – Instituto de Química. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

A indústria farmacêutica tem implementado práticas para atender requisitos regulatórios e certificar-se que os consumidores tenham produtos com qualidade, segurança e eficácia. Uma das mais recentes práticas é a utilização do conceito de *Quality by Design* (QbD), em português “Qualidade baseada no Projeto”, onde a qualidade do produto e do processo pode ser planejada desde o seu desenvolvimento evitando, assim, a maioria das não conformidades e problemas relacionados com a falta do planejamento dos limites de aceitação dos parâmetros de qualidade. No entanto, existe a preocupação de aplicar os princípios de QbD a sistemas e produtos existentes. Aliado a peculiaridade da indústria biofarmacêutica de utilização da operação unitária de liofilização nos seus processos de estabilização de medicamentos de origem biológica e, uma vez que os guias de qualidade não abordam a utilização dos conceitos de QbD em produtos já comercializados, este trabalho tem como objetivo propor uma metodologia utilizando estes conceitos de forma retrospectiva a partir de um banco de dados robusto para a vacina contra sarampo, caxumba e rubéola que se encontra no mercado. Para tal, ao invés de se desenhar o processo a partir do desenvolvimento do produto como preconizam os guias de qualidade internacionais, se utilizou uma base histórica de informações de um processo de produção, seus resultados e suas não conformidades, de ferramentas de análise de risco e de análises estatísticas utilizando como estudo a vacina tríplice viral. Com isto, foi possível propor uma metodologia para o mapeamento de parâmetros críticos, modos de falha e riscos, realizar correlações através da criação do espaço de projeto em cada etapa da operação unitária de liofilização e por fim, melhorar o rendimento dos lotes produtivos. Com a geração de maior conhecimento do produto e do processo a partir da metodologia é possível prever riscos através de uma base de conhecimento científico, assegurando a agências regulatórias que o produtor possui amplo conhecimento e controle das atividades desta operação unitária e que possa assegurar, ao consumidor final, produtos com a qualidade requerida.

Palavras-chave: Qualidade por Design. Liofilização. Indústria Biofarmacêutica.

## ABSTRACT

NEVES, Alexander da Silva. *Quality by design in the unity freeze drying operation of a biological product*. 2021. 166 f. Dissertação (Doutorado em Engenharia Química) – Instituto de Química. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2021.

The pharmaceutical industry has been implementing regulatory practices to assure that consumers obtain products with quality, safety and efficacy. The use of Quality by Design (QbD) for products on development has increased through the years to avoid problems related to the lack of planning of limits of acceptance of quality parameters. As a holistic vision, the QbD has been suggested by Regulatory Agencies to standardize globally the documentation necessary for the registration of new products. Although the concepts of QbD gain importance for products under development it is still not a widespread practice to existing systems and products already on the market. Therefore, this work aims to propose a case study with a measles, mumps and rubella vaccine using QbD concepts on the lyophilization unit operation production step to provide robustness and increase efficiency, leading to a lyophilization cycle time reduction. To achieve this, instead of designing the process from product development, as recommended by the international quality guides, a historical database of production process, its results, and its non-conformities, risk analysis tools, and statistical analysis were applied in the vaccine production as a case study. With this, it was possible to propose a methodology for mapping critical parameters and the formation of a design space in the lyophilization unit operation. With the generation of better product and process knowledge from the methodology it is expected to predict risks through a scientific knowledge base, assuring regulatory agencies that the producer has a broad knowledge and control of the activities of this unitary operation and that can assure products with the required quality.

Keywords: Quality by Design. Lyophilization. Biopharmaceutical Industry.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Modelo de Gerenciamento de Riscos .....	32
Figura 2 - Gerenciamento de risco à qualidade no ciclo de vida do produto .....	35
Figura 3 - O Processo de planejamento da qualidade .....	36
Figura 4 - Etapas da qualidade por design.....	40
Figura 5 - Design Space.....	42
Figura 6 - Fluxo do Processo de Produtos Liofilizados .....	49
Figura 7 - Transferência de energia e massa na operação de liofilização .....	53
Figura 8 - Desenho Esquemático de um Liofilizador Industrial .....	55
Figura 9 - Painel Sinótico do Liofilizador Industrial.....	55
Figura 10 – Exemplo de monitoramento de parâmetros críticos de processo e temperatura dos produtos durante o ciclo de liofilização de lotes comerciais, onde Pcam – pressão da câmara de liofilização; Tin – Temperatura de entrada de fluido nas prateleiras do liofilizador; Tprodx – Temperatura dos produtos na localização x da prateleira do liofilizador .....	57
Figura 11 – Exemplo de não conformidade durante a etapa de secagem primária do ciclo de liofilização.....	58
Figura 12 – Passos da metodologia proposta .....	68
Figura 13 - Mapeamento de falhas através de Ferramentas de Análise de Risco .....	70
Figura 14 – Matriz de nível de risco .....	80
Figura 15 - Gráfico de Pareto com as causas de não conformidades.....	89
Figura 16 - Subsistemas no diagrama de operação do liofilizador industrial.....	94
Figura 17 - Nó 1 Trocador de calor .....	96
Figura 18 - Nó 2 Tanque de Expansão .....	99
Figura 19 - Nó 3 Aquecedor .....	101
Figura 20 - Nó 4 Bomba de circulação .....	102
Figura 21- Nó 5 Prateleiras .....	104
Figura 22- Nó 1 Admissão de nitrogênio .....	106
Figura 23 - Nó 2 Grupo de vácuo .....	108
Figura 24 - Nó 3 Condensador .....	109
Figura 25 - Dispersão do ACQ Umidade Residual do histórico de lotes .....	120

Figura 26 - Comparação dos rendimentos do histórico dos lotes e experimento 1 .....	122
Figura 27 - Comparação dos rendimentos do histórico dos lotes e experimento 1 .....	123
Figura 28 - Comparação das potências do histórico dos lotes e experimento 1 .....	124
Figura 29 - Comparação das termoestabilidades do histórico dos lotes e experimento 1 .....	126
Figura 30 - Comparação da umidade residual do histórico dos lotes e experimentos 1 .....	128
Figura 31 - Comparação entre a distribuição de umidade residual antes e após modificações .....	129
Figura 32 - Comparação dos rendimentos do experimento 1 e 2.....	131
Figura 33 - Comparação da potência dos experimentos 1 e 2.....	132
Figura 34 - Comparação da termoestabilidade dos experimentos 1 e 2 .....	134
Figura 35 - Comparação dos resultados de umidade residual dos experimentos 1 e 2 .....	136
Figura 36 - Comparação entre a distribuição de umidade residual do experimento 1 e 2 .....	137
Figura 37 - Comparação das medianas de rendimento do histórico com variação de pressão e experimento 3.....	142
Figura 38 - Comparação das medianas de potência do histórico com variação de pressão e experimento 3.....	143
Figura 39 - Comparação das medianas de termoestabilidade do histórico com variação de pressão e experimento 3.....	145
Figura 40 - Comparação da umidade residual do histórico com variação de pressão e experimento 3.....	146
Figura 41 - <i>Design Space</i> para a etapa de congelamento da vacina tríplice viral .....	148
Figura 42 - <i>Design Space</i> para a etapa de secagem primária (pressão vs tempo vs Rendimento).....	150
Figura 43 - <i>Design Space</i> para a etapa de secagem primária (pressão vs Umidade Residual vs Rendimento) .....	151
Figura 44 - <i>Design Space</i> para a etapa de secagem secundária (pressão vs Umidade Residual Vs Rendimento).....	152

Figura 45 - *Design Space* para a etapa de secagem secundária. a) pressão da câmara vs Potência sarampo vs Rendimento; b) pressão da câmara vs Potência caxumba vs Rendimento c) pressão da câmara vs Potência rubéola vs Rendimento ..... 154

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Cenários Tradicional e de Qualidade por Projeto.....	38
Tabela 2 – Modelo de planilha de Análise Preliminar de Perigos.....	71
Tabela 3 – Critérios para avaliação da severidade do Perigo .....	72
Tabela 4 - Critérios para a avaliação da probabilidade de ocorrência do Perigo .....	72
Tabela 5 – Matriz de Risco Potencial .....	73
Tabela 6 - Modelo de planilha de Análise de Perigos e Operabilidade – HAZOP .....	74
Tabela 7– Critérios para o Grau de Severidade HAZOP.....	75
Tabela 8 - Níveis de frequência de ocorrência de desvios por produção de lotes HAZOP .....	75
Tabela 9 - Matriz de risco HAZOP.....	76
Tabela 10 - Modelo de planilha de Análise e Modos de Falha – FMEA.....	77
Tabela 11- Critérios para o Grau de Severidade FMEA.....	78
Tabela 12 - Índices de frequência de ocorrência de não conformidades por produção de lotes durante avaliação do nível de risco .....	79
Tabela 13 - Critérios para classificação quanto à detecção e índices para cada modo de falha .....	81
Tabela 14 – Escala de priorização de ações para redução do NPR resultante do FMEA .....	82
Tabela 15- Modelo de Perfil do Produto.....	86
Tabela 16 – Atributos de Qualidade do produto de estudo .....	87
Tabela 17 - Planilha de Riscos PHA .....	91
Tabela 18- Resultados da análise de PHA.....	92
Tabela 19 - Atributos de Qualidade que podem ser influenciados pela operação de liofilização.....	93
Tabela 20 - Resultados da análise HAZOP do sistema 1 - Nó 1.....	98
Tabela 21 - Resultados da análise HAZOP do sistema 1 - Nó 2.....	100
Tabela 22- Resultados da análise HAZOP do sistema 1 - Nó 3.....	101
Tabela 23 - Resultados da análise HAZOP do sistema 1 - Nó 4.....	103
Tabela 24 - Resultados da análise HAZOP do sistema 1 - Nó 5.....	105

Tabela 25- Resultados da análise HAZOP do sistema 2 - Nó 1.....	107
Tabela 26 - Resultados da análise HAZOP do sistema 2 - Nó 2.....	108
Tabela 27 - Resultados da análise HAZOP do sistema 2 - Nó 3.....	110
Tabela 28 - Resultado da análise de risco HAZOP para a operação unitária de liofilização.....	111
Tabela 29– Planilha de riscos FMEA das etapas da liofilização.....	115
Tabela 30 - Experimentos por etapa do ciclo de liofilização.....	115
Tabela 31 - Testes Shapiro-Wilk e Grubb para os resultados de rendimento e Atributos Críticos de Qualidade antes da mudança dos parâmetros críticos de processo na etapa de congelamento.....	118
Tabela 32 - Resultados de rendimento e Atributos Críticos de Qualidade antes da mudança dos parâmetros críticos de processo na etapa de congelamento.....	119
Tabela 33 - Resultados de rendimento e Atributos Críticos de Qualidade após da mudança dos parâmetros críticos de processo na etapa de congelamento.....	121
Tabela 34 - Teste de Mann-Whitney para a rendimento dos experimentos 1 e 2 .....	123
Tabela 35 - Teste de Mann-Whitney para a potência da etapa de congelamento .....	125
Tabela 36 - Teste de Mann-Whitney para a termoestabilidade da etapa de congelamento.....	127
Tabela 37 - Teste de Mann-Whitney para o histórico de umidade residual e experimento.....	128
Tabela 38 - Resultados de rendimento e Atributos Críticos de Qualidade dos lotes com variação de pressão na câmara na etapa de secagem primária .....	130
Tabela 39 - Teste de Mann-Whitney para a rendimento dos experimentos 1 e 2 .....	132
Tabela 40 - Teste de Mann-Whitney para as potências do experimento 1 e 2 .....	133
Tabela 41 - Teste de Mann-Whitney para a termoestabilidade da etapa de congelamento.....	135
Tabela 42 - Teste de Mann-Whitney para a umidade residual dos experimentos 1 e 2 .....	137
Tabela 43 - Resultados de rendimento e Atributos Críticos de Qualidade antes da mudança dos parâmetros críticos de processo na etapa de secagem.....	139

Tabela 44 - Resultados de rendimento e atributos críticos de processo após a mudança dos parâmetros críticos de processo na etapa de congelamento e não conformidade no parâmetro pressão .....	140
Tabela 45 - Teste de Mann-Whitney para a rendimento dos lotes no experimento 3 ..	141
Tabela 46 - Teste de Mann-Whitney para o histórico do rendimento e experimento 3	143
Tabela 47 - Teste de Mann-Whitney para o histórico de rendimento do experimento 3 .....	144
Tabela 48 - Teste de Mann-Whitney para o histórico de umidade residual e experimento 3 .....	146
Tabela 49 - Resumo dos resultados dos 3 experimentos realizados .....	147

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BM	Bio-Manguinhos
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CFR	Código de Regulação Federal ( <i>Code of Federal Regulation</i> )
ACQ	Atributo crítico de qualidade ( <i>Critical Quality Attribute</i> )
DS	Espaço de Projeto ( <i>Design Space</i> )
EUA	Estados Unidos da América
FDA	Administração de Drogas e Alimentos ( <i>Food and Drug Administration</i> )
FMEA	Análise de Modos de Falhas e Efeitos ( <i>Failure Mode and Effect Analysis</i> )
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HAZOP	Estudos de Perigo e Operabilidade ( <i>HAZard and OPerability study</i> )
ICH	Conselho Internacional de Harmonização ( <i>International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharamaceuticals for Human Use</i> )
IFA	Ingrediente Farmacêutico Ativo
ISO	Organização Internacional de Normatização ( <i>International Organization for Standardization</i> )
MS	Ministério da Saúde
NPR	Número de Prioridade de Risco
OMS	Organização Mundial de Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
PAT	Tecnologia Analítica de Processo ( <i>Process Analytical Technology</i> )
PCP	Parâmetro Crítico de Processo ( <i>Critical process Parameter</i> )
PHA	Análise Preliminar de Perigos ( <i>Preliminary Hazard Analysis</i> )
QbD	Qualidade baseada no Projeto ( <i>Quality by Design</i> )
QbT	Qualidade por Teste ( <i>Quality by Test</i> )
QTPP	Perfil de qualidade do produto ( <i>Quality Target Product Profile</i> )

RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
UR	Umidade Residual
USP	Farmacopéia dos Estados Unidos ( <i>United States Pharmacopeia</i> )
WFI	Água para injeção ( <i>Water for Injection</i> )

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	20
<b>1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	23
1.1 <b>A evolução das atividades regulatórias</b> .....	23
1.2 <b>O Conselho Internacional de Harmonização de Requerimentos Técnicos para Fármacos de Uso Humano (ICH)</b> .....	26
1.3 <b>O Desenvolvimento Farmacêutico – Guia Q8</b> .....	29
1.4 <b>Gerenciamento de Risco à Qualidade - Guia Q9</b> .....	30
1.5 <b>Sistema de Qualidade Farmacêutico - Guia Q10</b> .....	33
1.6 <b>Desenvolvimento e Produção de Princípios Ativos – Guia Q11</b> .....	34
1.7 <b>Qualidade baseada no Projeto (Quality by Design – QbD)</b> .....	35
1.8 <b>Etapas de Processamento Final na Indústria Biofarmacêutica</b> .....	46
1.8.1 <u>A Formulação</u> .....	48
1.8.2 <u>O Envase</u> .....	49
1.8.3 <u>A Liofilização</u> .....	49
1.8.4 <u>A Recravação</u> .....	58
1.8.5 <u>A Inspeção</u> .....	58
1.8.6 <u>A Embalagem</u> .....	58
1.8.7 <u>A Análise de controle de qualidade</u> .....	59
1.8.8 <u>Rendimentos dos lotes de produção</u> .....	61
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	63
2.1 <b>Objetivo Geral</b> .....	63
2.2 <b>Objetivos Específicos</b> .....	64
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	65
3.1 <b>Fluxograma da Metodologia de Análise</b> .....	66
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	83
4.1 <b>Resultados das etapas de suporte</b> .....	85
4.2 <b>Atributos Críticos de Qualidade</b> .....	88
4.4 <b>Análise de Risco HAZOP da Operação Unitária Crítica</b> .....	94
4.4.1 <u>Seleção de Nós do Sistema 1</u> .....	96

4.4.1.1	Nó 1 – Trocadores de calor.....	96
4.4.1.2	Nó 2 – Tanque de expansão.....	99
4.4.1.3	Nó 3 – Aquecedor.....	100
4.4.1.4	Nó 4 – Bomba de circulação.....	102
4.4.1.6	Nó 5 – Prateleiras.....	104
4.4.2	<u>Seleção de Nós do Sistema 2</u> .....	105
4.4.2.1	Nó 1 – Admissão de nitrogênio.....	105
4.4.2.2	Nó 2 – Grupo de vácuo.....	107
4.4.2.3	Nó 3 – Condensador.....	109
4.5	<b>Análise FMEA e Parâmetros Críticos de Processo</b> .....	112
4.6	<b>Planejamento de Experimentos</b> .....	115
4.6.1	<u>Experimento 1 (Etapa de Congelamento)</u> .....	117
4.6.2	<u>Experimento 2 (Etapa de Secagem Primária)</u> .....	130
4.6.3	<u>Experimento 3 (Etapa de Secagem Secundária)</u> .....	138
4.7	<b>Espaço de Projeto - Design Space</b> .....	148
4.7.1	<u>Design Space para a etapa de congelamento</u> .....	148
4.7.2	<u>Design Space para a etapa de secagem primária</u> .....	149
4.7.3	<u>Design Space para a etapa de secagem secundária</u> .....	152
5	<b>DISCUSSÃO GERAL</b> .....	155
	<b>CONCLUSÃO</b> .....	157
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	160

## INTRODUÇÃO

A indústria farmacêutica tem implementado práticas para atendimento regulatório e certificar-se que os consumidores tenham produtos com qualidade, segurança e eficácia.

Com a globalização do mercado, novos produtos são desenvolvidos com o objetivo de reduzir os custos na saúde através de uma harmonização de práticas de forma a permitir uma melhor acessibilidade aos novos medicamentos. Surge, então a necessidade de requisitos técnicos transparentes para o registro de produtos farmacêuticos para uso humano. Com a criação de um plano de harmonização internacional formado pelos países Europeus, o Japão e os Estados Unidos da América chamado de Conselho Internacional de Harmonização de Requerimentos Técnicos para Fármacos de Uso Humano (*International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use - ICH*) em 1990, torna-se possível através de guias, uma orientação para os estudos dos fatores que afetam a segurança, qualidade, eficácia e multidisciplinaridade dos produtos nos processos de manufatura (ANVISA, 2018).

Uma das práticas regulatórias que vem sendo implementada em consonância com o ICH é a utilização do conceito de *Quality by Design* (QbD), também conhecida como “Qualidade Baseada no projeto”, onde a qualidade é planejada, a partir dos seus atributos críticos.

Com esse olhar a QbD tornou-se uma abordagem sistemática para o desenvolvimento de produtos biofarmacêuticos ou farmoquímicos que se inicia com os objetivos definidos e enfatiza a ciência e a gestão de riscos à qualidade, de forma a assegurar que a qualidade do produto seja construída nos processos de produção, desde a sua concepção, ao invés de ser testada apenas na aprovação final dos produtos (ICH Q8(R2)).

Tem se tornado cada vez mais claro que embora os requisitos regulatórios e as normas sejam extremamente valiosos, é importante que o produtor possua conhecimento dos seus processos e produtos e dos possíveis desvios que podem ou

não causar impactos na qualidade final dos produtos através de uma base científica sólida com registros e comprovações em todas as etapas do ciclo de produção.

Apesar dos guias do ICH abordarem a QbD nos produtos em desenvolvimento, Mendivil e Burns (2009) demonstram a preocupação de aplicar os princípios de QbD a sistemas existentes uma vez que os guias conceituais do ICH não são claros quanto a utilização da QbD em produtos farmacêuticos já desenvolvidos e que se encontram no mercado.

Samanta (2012), aplicou os princípios do QbD de forma retroativa proporcionando uma abordagem estruturada para a obtenção do conhecimento e desenvolvimento para um processo de fabricação robusta reduzindo a variabilidade da impureza do dímero formado pela reação entre 2 n butil-4-espiro ciclopentano-2-imidazolina-5-ona e 4-bromo metil-2'-cianobifenil e os custos de qualidade relativo a impurezas através do controle das variáveis críticas do processo.

Uma particularidade da indústria biofarmacêutica é que diversos produtos necessitam da operação unitária liofilização como parte da sua cadeia produtiva devido às dificuldades de estabilidade do ingrediente ativo em solução, o que é frequentemente comum em produtos biológicos complexos como vacinas e biofármacos.

Esta operação unitária tem como objetivo a retirada do solvente do produto, geralmente água, através de sublimação sob um ambiente de vácuo. Os produtos uma vez secos por esta operação, isto é, com umidade residual abaixo do limite aceitável, podem ser armazenados por longos períodos, desde que protegidos da ação do oxigênio, umidade e luz. Devido à sua estrutura altamente porosa, a pastilha formada pode a qualquer momento reabsorver seus solventes originais, readquirindo as suas características físico – químicas originais.

Considerando a ampla utilização da operação unitária de liofilização na indústria farmacêutica, o motivador deste trabalho é de propor uma metodologia utilizando os princípios de QbD de forma retrospectiva para um produto biológico que se encontra no mercado.

Como estudo de caso a metodologia será aplicada na vacina sarampo, caxumba e rubéola (vacina tríplice viral) a qual necessita para a sua comercialização a operação unitária de liofilização para sua estabilidade na temperatura de armazenamento. O ciclo de liofilização dessa vacina possui parâmetros de processo com limites estreitos e, devido ao tempo de mercado, correlações entre parâmetros de processo e atributos de qualidade não foram desenvolvidos com o olhar do conceito de QbD.

Assim, ao invés de se desenhar o processo a partir do desenvolvimento do produto como preconiza os guias do ICH, se utilizará uma base histórica robusta de informações dos processos de produção com a ocorrência de variabilidades em parâmetros críticos de processo, de análises de qualidade e do equipamento de liofilização do produto biológico para que seja desenhando o espaço de projeto dessa operação unitária.

## 1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 A evolução das atividades regulatórias

Ao longo da história, novas descobertas impulsionaram os caminhos do desenvolvimento em diversas áreas. O desenvolvimento da indústria, do comércio e, conseqüentemente, os lucros advindos de novos produtos impulsionaram essa busca pelo inovador. Foi a partir da aliança entre industrialização e pesquisa que a área de saúde se desenvolveu principalmente no que tange à esfera de medicamentos (DEUS; SÁ, 2011).

A indústria farmacêutica possui uma importante representatividade para a economia e, principalmente para a política da saúde, pois o produto destina-se a promover a saúde e aumentar a qualidade de vida do usuário final. Devido a esta criticidade o setor farmacêutico vem sofrendo grandes modificações desde a segunda guerra mundial e, atualmente seu desenvolvimento cresce progressivamente devido ao avanço no comércio exterior, tornando acirrada a competitividade entre os produtores para alcançar o topo do mercado internacional, ganhando a confiança e satisfação do consumidor, paciente e familiares com produtos de alta qualidade (POLITICINDIA, 2020).

Muitas das companhias farmacêuticas surgiram entre o final do século XIX o início do século XX e os benefícios à população mundial advindos com a produção industrial de medicamentos são inegáveis.

No entanto, o aumento da produção de medicamentos representou também o aumento dos riscos associados ao consumo inadequado e a uma maior probabilidade de falhas durante o processo de produção e/ou desenvolvimento.

A percepção de que era importante ter uma avaliação independente dos medicamentos antes de serem colocados no mercado foi alcançada em momentos e regiões diferentes da história da indústria farmacêutica e em muitos casos, a realização desta avaliação foi conduzida por tragédias (BRITO;PONTES, 2010).

Kawano *et al.* (2006) destacam alguns desses erros. O primeiro deles relaciona-se à troca de excipientes no elixir de sulfanilamida, em 1937, o qual ocasionou a morte de 100 crianças nos Estados Unidos. Posteriormente, destacam outro fato ocorrido no mesmo país, em 1958, que envolveu uma contaminação cruzada de tabletes vitamínicos de uso pediátrico contaminados com estrógeno, o qual ocasionou o aparecimento de caracteres sexuais secundários em crianças. Fato esse observado também em 1962, quando tabletes pediátricos de isoniazida foram contaminados com dietilbestrol.

Deus e Sá (2011) apresentam um surto de *salmonelose* ocorrido em Estocolmo. Cerca de 240 pacientes medicados com comprimidos utilizados para tratar hipertireodismo, foram infectados por dois tipos de salmonelas, a *S. muenchen* e a *S. bareilly*. Investigações realizadas indicaram que a fonte de contaminação havia sido a matéria-prima utilizada no fabrico dos comprimidos, a qual continha uma quantidade de bactérias por grama acima do permitido, sendo a maior parte delas da flora fecal.

Introduzida no mercado mundial em 1957 pela *German Company Chemie Grunental*, a talidomida passou a ser comercializada em alguns países como droga de ação hipnótico-sedativa. Nos estudos clínicos de aplicação da droga em ratos, coelhos e cobaias a taxa de letalidade não foi significativa, mesmo com doses altas. Esse fato fez com que o medicamento fosse considerado de baixa toxicidade e maior segurança quando comparado aos barbitúricos. Em pouco tempo a talidomida já estava sendo comercializada em 46 países também para o tratamento de enjoo matinal em gestantes (SOUZA *et al.*, 2012).

A partir de 1959, inicialmente na Alemanha, começaram os relatos sobre o nascimento de crianças com malformação congênita, cujas mães tinham utilizado a talidomida durante a gestação. Essa malformação apresentava-se sob a forma de comprometimento do desenvolvimento dos ossos longos dos membros inferiores e superiores, sendo chamada de focomelia pela semelhança com as focas. Algumas crianças apareceram com deformidades ainda mais severas, pela ausência total dos membros, denominada amelia (SOUZA *et al.*, 2012).

Para Matthews e McCoy (2003), um total de 8.000 a 12.000 crianças foram afetadas pelos efeitos teratogênicos da talidomida na década de 60 e, segundo Oliveira

*et al.* (1999), esse número é de 10.000 a 15.000 crianças em todo o mundo. Como consequência, a talidomida foi retirada do mercado em novembro de 1961 pela *Chemie Grunental*, pela *Distillers Biochemicals Ltd.* (DBCL) em dezembro de 1961 e pela *William S. Merrel Company* em março de 1962 (LEANDRO; SANTOS, 2015).

Ainda na Europa no ano de 1988, foram diagnosticados 40 casos de conjuntivite hemorrágica decorrentes do uso de uma solução de lente de contato fabricada em condições inadequadas (KAWANO *et al.*, 2006).

Além da necessidade da obtenção de dados que comprovassem a segurança, a qualidade e a eficácia de novos medicamentos e de eventos inesperados como verificasse nas décadas de 1960 a 1980, ocorre o incremento de regulamentações e onde a gestão de risco começou a ganhar destaque na indústria farmacêutica.

A necessidade de um controle sanitário que assegurasse os requisitos essenciais à qualidade de novos produtos fez com que os países criassem suas regulamentações e seus respectivos órgãos responsáveis. Nos Estados Unidos, o *Food and Drug Administration* (FDA), criado em 1930, e que tem, entre outros desígnios, as responsabilidades de proteger a saúde pública assegurando que drogas humanas e veterinárias, vacinas, e outros produtos biológicos e dispositivos médicos destinados ao uso humano sejam seguros e efetivos são do órgão governamental responsável pelo controle sanitário. Na Europa, a *European Medicines Agency* (EMA), na Inglaterra, *Medicines and Healthcare Product Regulatory Agency* (MHRA), Canadá, *Health Canada*, etc. Todos os órgãos reguladores da saúde, medicamentos e de vigilância sanitária (KRAPOHL, 2004).

No Brasil, criada em 1999 pela Lei nº 9.782, a ANVISA é o órgão responsável pela regulação sanitária no país. No que tange ao Gerenciamento e Análise de Riscos, a ANVISA passou a exigir em suas auditorias, dentro e fora do Brasil, a apresentação de programas de Análise de Riscos por parte das empresas. Em vigor desde 16 de abril de 2010, a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 301, de 21 de agosto de 2019, que dispõe sobre as diretrizes gerais de Boas Práticas de Fabricação (BPF) de Medicamentos, substitui a RDC 17/10 e detalha o Esquema de Cooperação em Inspeção Farmacêutica, PIC/s, como requisito mínimo a ser seguido na fabricação de

medicamentos, é a legislação a qual os riscos devem ser avaliados pelas empresas através de ferramentas de Análise de Riscos (BRASIL, 2010).

Na indústria farmacêutica, com o advento da obrigatoriedade de se registrar os medicamentos previamente, obtendo, assim, a autorização para a fabricação, distribuição e venda, avaliar o nível de qualidade desses produtos passou a ser essencial fazendo com que a avaliação de riscos ganhasse força com a necessidade de assegurar a qualidade dos produtos farmacêuticos.

Diante desta realidade os fabricantes de produtos para a saúde, identificaram a necessidade de implementar um sistema que assegure a qualidade do produto, avaliando o desempenho que o produto tem em promover o efeito terapêutico esperado, levando em consideração as propriedades físicas, químicas, microbiológicas, pureza, identidade, potência e outras, específicas para cada tipo de produto. Associando a qualidade do seu produto à sua segurança e eficácia (FDA, 2006).

Lucchese (2003), cita que a internacionalização da economia e suas consequências, tais como a intensificação de trocas comerciais e mudanças nas estratégias de produção, como por exemplo, a terceirização, o aumento de escala e a concentração de fábricas, causaram mudanças nas relações entre o comércio e a saúde, isto é, entre a regulamentação e o controle sanitário. Diz ainda que, enquanto para os sanitaristas a proteção e a segurança da população são preponderantes sobre os interesses comerciais, para economistas e empresários, as barreiras sanitárias são obstáculos ao desenvolvimento do comércio.

A criação de agências reguladoras sanitárias seguramente aumentou a qualidade dos medicamentos, sendo possível apenas comercializar aqueles que apresentassem testes e análises que comprovassem sua segurança, eficácia e qualidade. Porém, a necessidade de uma harmonização nas regulamentações, decorrente não só da globalização e da internacionalização do mercado farmacêutico, como também do favorecimento à concorrência pelo mercado de novos produtos, favoreceu o surgimento do Conselho Internacional de Harmonização de Requerimentos Técnicos para Fármacos de Uso Humano (*International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use - ICH*).

## 1.2 O Conselho Internacional de Harmonização de Requerimentos Técnicos para Fármacos de Uso Humano (ICH)

Nos Estados Unidos, a Agência Regulatória Americana (*Food and Drug Administration* - FDA) não liberou a comercialização da talidomida devido às exigências sobre a comprovação da segurança do fármaco. Por esse motivo, a agência saiu fortalecida desse episódio passando, a partir de então, a coordenar todas as atividades relativas à política regulatória de medicamentos daquele país (OLIVEIRA *et al.*, 1999).

Para a maioria dos países que tenham ou não iniciado controles de registro do produto, nas décadas de 60 e 70 verificou-se um aumento rápido das leis, regulamentações e diretrizes para elaboração de relatórios e avaliação dos dados sobre a segurança, qualidade e eficácia de novos medicamentos. A indústria, no momento, estava se tornando mais internacional e buscando novos mercados globais. No entanto, a divergência de requisitos técnicos entre países era tal que a indústria considerou necessário duplicar muitos procedimentos de ensaio demorados e de alto investimento, a fim de comercializar novos produtos internacionalmente (ICH, 2017).

A partir desse momento verificou-se a necessidade de avaliar mais criteriosamente tudo aquilo que envolvia o desenvolvimento de novos medicamentos e os riscos a ele associados, resultando em um rápido aumento na legislação, na regulamentação e nas orientações para a geração de relatórios que fossem capazes de avaliar a segurança, a qualidade e a eficácia de novos medicamentos (HERRERA, 2015).

A urgente necessidade de racionalizar e harmonizar a regulação foi impulsionada por preocupações sobre o aumento dos custos de cuidados de saúde, a escalada do custo de pesquisa e desenvolvimento e a necessidade de atender à expectativa do público na rapidez de novos tratamentos disponíveis mais seguros e eficazes (ICH, 2017).

As indústrias então desenvolveram o conceito de que, reduzindo essas diferenças, os custos para o desenvolvimento de novos e promissores produtos farmacêuticos também poderiam ser reduzidos (VAN DER LAAN; DeGEORGE, 2013).

A harmonização dos requisitos regulamentares foi pioneira na Comunidade Europeia (CE), na década de 1980, onde o desenvolvimento de um mercado único de produtos farmacêuticos evoluía rapidamente. O sucesso alcançado na Europa demonstrou que a harmonização era viável. Ao mesmo tempo houve discussões bilaterais entre a Europa, o Japão e os EUA sobre possibilidades de harmonização. Foi, então, na Conferência Internacional de Autoridades Reguladoras de Medicamentos (*International Conference of Drug Regulatory Authorities - ICDRA*), em Paris, em 1989, que os planos específicos começaram a se materializar. Logo depois, as autoridades da Federação Europeia de Indústrias Farmacêuticas e Associações (*European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations – EFPIA*) se aproximaram para discutir com a indústria uma iniciativa conjunta de harmonização internacional sendo, então, concebido o ICH (ICH, 2017).

O nascimento do ICH teve lugar em uma reunião em abril de 1990, organizado pela EFPIA, em Bruxelas. Representantes das agências reguladoras e associações industriais da Europa, Japão e dos EUA se encontraram, principalmente, para planejar uma Conferência Internacional, mas a reunião também discutiu as implicações mais amplas e termos de referência do ICH (ICH, 2017).

Na reunião do primeiro comitê do ICH, os Termos de Referência foram acordados e decidiu-se que os temas selecionados para a harmonização seriam divididos em segurança, qualidade e eficácia de modo a refletir os três critérios que são a base para a aprovação e autorização de novos medicamentos (ICH, 2017).

A missão do ICH é de realizar recomendações no sentido de alcançar maior harmonização na interpretação e aplicação de normas técnicas e exigências para registro de produtos farmacêuticos, reduzindo ou evitando assim a duplicação de ensaios realizados durante a pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos humanos (ICH, 2017).

Desde o início, o processo do ICH evoluiu gradualmente. Na primeira década, verificou-se progressos significativos no desenvolvimento de Diretrizes ICH tripartidas para a Segurança, Qualidade e temas de Eficácia. O trabalho também foi realizado em uma série de temas multidisciplinares importantes, que incluíam o Dicionário Médico

para atividades de regulação (*Medical Dictionary for Regulatory Activities – MedDRA*) e o Documento Técnico Comum (*Common Technical Document - CTD*) (ICH, 2017).

Ao longo da segunda década o desenvolvimento de diretrizes do ICH continuou, porém com maior atenção à necessidade de manter as diretrizes já existentes enquanto a ciência e tecnologia continuavam a evoluir. A necessidade de alavancar com outras organizações também foi reconhecida, em particular para o desenvolvimento de padrões eletrônicos. O comitê diretivo do ICH reconheceu as vantagens oferecidas pela colaboração com Organizações de Desenvolvimento de Padrões, não só a partir da perspectiva de ter um maior número disponível de conhecimentos técnicos, mas também a oportunidade de progredir normas ICH como padrões globais (ICH, 2017).

Entrando em sua terceira década de atividade, a atenção do ICH é dirigida para estender os benefícios da harmonização para além das regiões da ICH. Formação, bem como a participação ativa das regiões não-ICH em desenvolvimento de diretrizes, são vistos como chave neste esforço (ICH, 2017).

Os guias do ICH não são considerados como normativos e sim como orientativos até que sejam adotados e publicados nos respectivos países, geralmente pelas agências regulatórias. Quando um tópico específico é julgado importante por todas as partes envolvidas, como por exemplo um tópico que necessita ser harmonizado, um documento conceitual é gerado e o comitê diretor deve concordar com o seu objetivo e seu potencial impacto no desenvolvimento de novas drogas e estabelecer os marcos para a criação de uma nova diretriz. É formado então um grupo de especialistas, com a participação de todos os países membros e representantes da indústria (FDA, 2018).

Mendivil e Burns (2009), identificaram a importância do trabalho da ICH para definir os termos e conceitos-chave facilitando ainda mais o diálogo entre a indústria e as autoridades reguladoras e, assim, trazer negócios e recompensas reguladoras para aqueles que irão adotar uma abordagem QbD para fabricação de produtos farmacêuticos.

A preocupação com a abordagem QbD para a indústria farmacêutica é tratada por Huang *et. al.* (2009) onde a diversidade na abordagem QbD e PAT provavelmente será refletida em toda a indústria. Os princípios para QbD podem ser aplicados a

qualquer negócio, mas como eles serão melhor explorados irá depender do produto da empresa e do seu negócio (genéricos, vacinas, biofármacos, fabricante do ingrediente farmacêutico ativo).

O ICH atualmente possui quatro grandes grupos de guias. São eles: Qualidade, Segurança, Eficácia e Multidisciplinaridade (que inclui a terminologia médica do ICH (MedDRA), o Documento Técnico Comum (CTD) e o desenvolvimento de Padrões Eletrônicos para a Transferência de Informações Regulatórias (ESTRI)).

Dentro da indústria farmacêutica todos os guias do ICH são importantes. Para esse trabalho será dado foco aos guias Desenvolvimento Farmacêutico ICH-Q8, Gerenciamento de Risco a Qualidade ICH-Q9 e Sistema da Qualidade Farmacêutico ICH-Q10 explicitados melhor a seguir.

### **1.3 O desenvolvimento farmacêutico – Guia Q8**

O objetivo do desenvolvimento farmacêutico é projetar um produto de qualidade cujo processo de fabricação permita consistência e robustez, de forma a alcançar o desempenho pretendido com reprodutibilidade e confiabilidade. As informações e os conhecimentos adquiridos a partir de estudos de desenvolvimento farmacêutico e da experiência de fabricação podem servir de base para o gerenciamento de riscos à qualidade, bem como fornecem uma compreensão científica para subsidiar a definição do espaço do projeto, das especificações e dos controles de fabricação. As recomendações do Guia ICH Q8(R2) permitem sistematizar o conhecimento adquirido a partir da aplicação de métodos científicos e do gerenciamento de risco ao desenvolvimento de um produto e seu processo de fabricação (FAGUNDES, 2012).

#### 1.4 Gerenciamento de risco à qualidade - Guia Q9

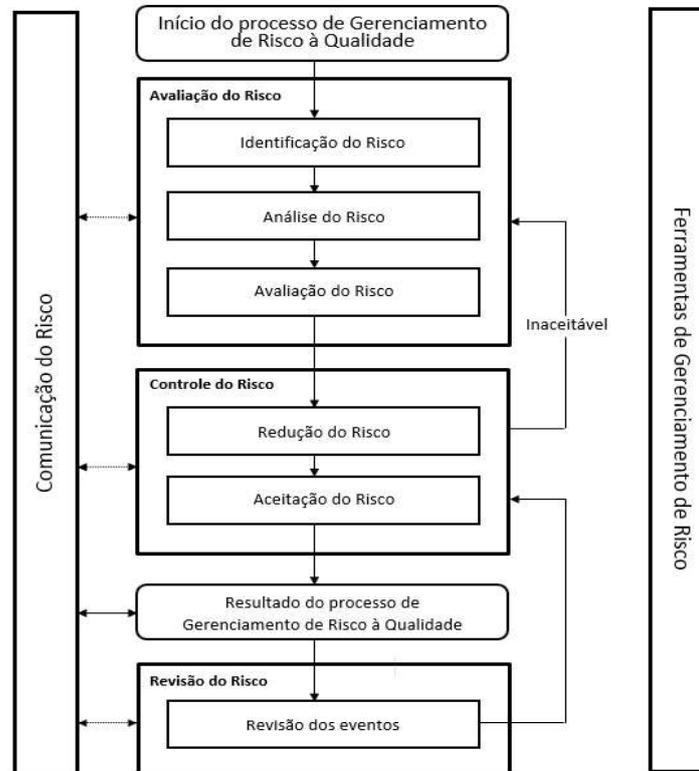
O guia ICH Q9 trata especificamente do Gerenciamento dos Riscos à qualidade sendo um importante componente para um sistema de qualidade efetivo.

O objetivo do ICH Q9 é de oferecer uma abordagem sistemática do Gerenciamento de Riscos à Qualidade de medicamentos (sintéticos, biológicos e biotecnológicos), matérias-primas e materiais de embalagem; além das diferentes fases do ciclo de vida de um produto: desenvolvimento, fabricação, distribuição, inspeção e revisões. Ele fornece princípios e ferramentas que irão dar um embasamento para decisões baseadas nos riscos identificados, tanto para a indústria quanto para os órgãos reguladores.

O gerenciamento de risco na indústria farmacêutica é hoje uma atividade essencial no planejamento, na prevenção, na mitigação e no tratamento de tudo aquilo que possa, de alguma forma, oferecer risco à qualidade de um produto ou processo ao longo de toda a cadeia produtiva. Engloba a avaliação, o controle, a comunicação e a revisão dos riscos associados à qualidade do produto ao longo de seu ciclo de vida que permite identificar, entender os riscos e prover embasamento para se tomar decisões.

A Figura 1 mostra um modelo proposto pelo ICH Q9 para o processo de Gerenciamento de Riscos. Nesse diagrama podem ser identificados três grupos distintos. No primeiro grupo, a avaliação do risco, que está associada ao desenvolvimento do processo, seguido do controle do risco, onde é desenvolvida a estratégia para controle e, por fim, a revisão do risco, indicando a necessidade de melhoria contínua.

Figura 1 - Modelo de Gerenciamento de Riscos



Fonte: ICH, 2005

No processo de gerenciamento de riscos, quatro etapas devem ser priorizadas:

- Avaliar o risco.** Essa etapa compreende as atividades de identificar os perigos, analisar e avaliar os riscos associados a esses perigos. Nesta etapa, é muito importante que o risco esteja bem definido e o problema bem descrito, pois dessa forma, as informações necessárias para direcionar as perguntas sobre o risco e a aplicação da ferramenta adequada serão mais eficazes.
- Controlar o risco.** O objetivo é reduzir o risco a um nível aceitável, usando um esforço proporcional a sua relevância. São tomadas decisões para mitigar e/ou aceitar o risco. É o desenvolvimento da estratégia de controle;
- Revisar o risco.** Deve ser desenvolvido um sistema de monitoramento contínuo de riscos.

- d) Comunicar o risco. Consiste na troca de informações sobre o gerenciamento de risco à qualidade entre os gestores de risco, avaliadores, consumidores, indústria e outros interessados, ocorrendo em todos os estágios do processo.

Para que o Gerenciamento de Risco à Qualidade seja realizado, as indústrias farmacêuticas, e outros segmentos, fazem uso de ferramentas pelas quais é possível realizar a identificação dos riscos e propor medidas para seu controle, evitando desta forma acidentes e incidentes no ambiente produtivo (QUINTELLA, 2011).

Segundo Mendonça (2013), as ferramentas de análise de risco, de uma maneira geral, podem ser usadas de forma qualitativa, quantitativa ou semiquantitativa.

As ferramentas apresentam-se muito flexíveis, quanto a sua aplicabilidade e bastante útil ao resultado, entretanto algumas considerações devem ser avaliadas para que sejam escolhidas. Segundo a ABNT 31010 (2012) a escolha de uma, ou mais, ferramentas deve considerar as seguintes perspectivas:

- O contexto da situação ou da organização em questão;
- Os tipos de resultados ou saídas que serão gerados. Estes devem permitir uma maior aprendizagem do processo, seus respectivos riscos e a melhor maneira de tratá-los;
- A forma de utilização da ferramenta, que deve ser rastreável, repetível e verificável;
- O nível de detalhe das informações requerido;
- Os tipos dos riscos que estão sendo analisados;
- A disponibilidade de informações e dados;
- O grau de conhecimento especializado, recursos humanos e outros recursos necessários;
- Requisitos regulatórios e contratuais.

O Guia ICH-Q9 (2005) apresenta uma lista não exaustiva de ferramentas de análise de risco para o uso na indústria farmacêutica:

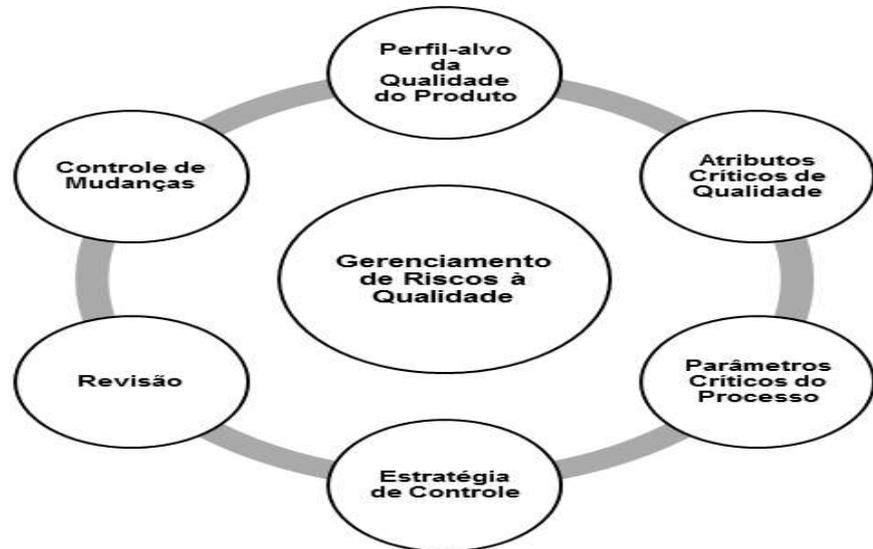
- Análise de Modo e Efeitos de Falha (*Failure Mode Effects Analysis* – FMEA);

- Análise de Modo e Efeitos de Falha e Análise Crítica (Failure Mode, Effects and Criticality Analysis - FMECA);
- Análise Preliminar de Perigos (*Preliminary Hazard Analysis* – PHA);
- Análise de Perigos de Operabilidade (*Hazard Operability Analysis* – HAZOP);
- Análise de Árvore de Falhas (*Fault Tree Analysis* – FTA);
- Análise de Perigos e Pontos Críticos de Controle (*Hazard Analysis and Critical Control Points* – HACCP).

### **1.5 Sistema de qualidade farmacêutico - Guia Q10**

O outro guia interesse na indústria farmacêutica é o ICH Q10 onde é descrito um modelo para um sistema efetivo de gerenciamento da qualidade na indústria farmacêutica. São definidas responsabilidades gerenciais, política de qualidade, planejamento de qualidade, gerenciamento de recursos, comunicação, ciclo de vida do produto, tratamento de desvios, controle de mudanças, monitoramento de rendimento do processo e de qualidade do produto. Assim como o Q9 e o seu conteúdo, o Q10 fornece ferramentas e conceitos para uma abordagem mais segura e robusta num processo de Análise de Riscos. Além disso, a Análise de Riscos atua como um importante componente para um efetivo sistema de qualidade.

Figura 2 - Gerenciamento de risco à qualidade no ciclo de vida do produto



Fonte: ICH Q10, 2008

### 1.6 Desenvolvimento e produção de princípios ativos – Guia Q11

Por final, o guia ICH Q11 tem sido cada vez mais utilizado pela indústria farmacêutica. Nele são abordados aspectos de desenvolvimento e fabricação referentes ao Ingrediente Farmacêutico Ativo (IFA), incluindo a presença de etapas destinadas a reduzir impurezas, além de fornecer mais esclarecimentos sobre os princípios e conceitos descritos nas orientações do ICH Q8, Q9 e Q10 (ICH Q11, 2012).

Uma maior compreensão do IFA e seu processo de fabricação pode criar a base para abordagens regulatórias mais flexíveis. O grau de flexibilidade regulatória geralmente depende do nível de conhecimento científico relevante fornecido no pedido de autorização de comercialização (ICH Q11, 2012).

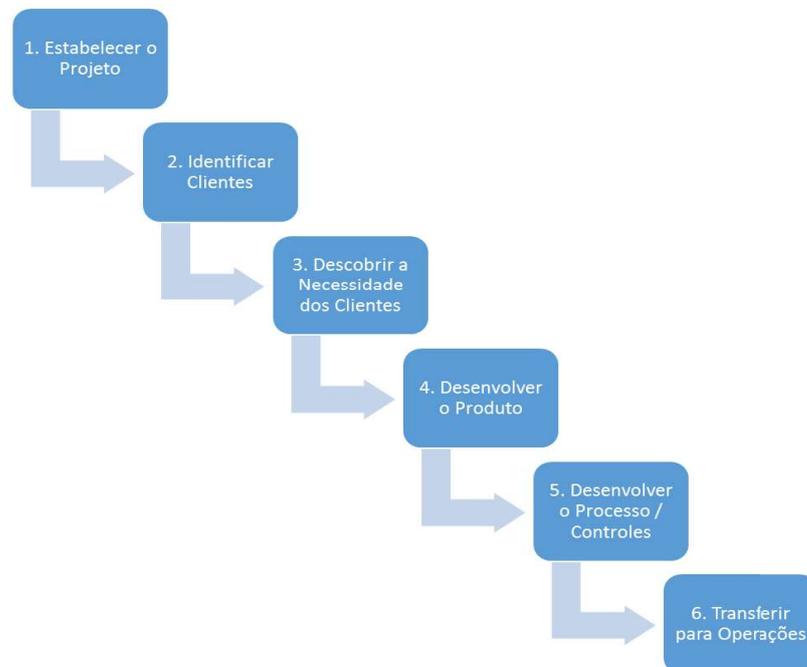
### 1.7 Qualidade baseada no projeto (*Quality by Design – QbD*)

O conceito de Qualidade baseada no Projeto (*Quality by Design - QbD*) foi primeiramente delineado pelo especialista em qualidade Juran (1992). Segundo o autor a qualidade poderia ser planejada sendo que a maioria das crises de qualidade e problemas estavam relacionados com a maneira em que a qualidade tinha sido planejada desde o desenvolvimento do produto.

Segundo Juran (1992), o planejamento da qualidade consiste em uma sequência de eventos - um roteiro de planejamento de qualidade. Primeiro identifica-se os clientes e suas necessidades. Em seguida, projeta-se produtos (bens e serviços) que respondem a essas necessidades. Também se projeta processos que podem produzir esses bens e serviços. Finalmente, passa-se o plano para as forças operacionais.

O processo de planejamento da qualidade é resumido na Figura 3.

Figura 3 - O Processo de planejamento da qualidade



A abordagem das empresas era da qualidade depois da concepção ou qualidade por controle de qualidade (*Quality by Test* – QbT), isto é, a qualidade e o desempenho do produto são atingidos predominantemente por restrição da flexibilidade no processo de manufatura e ensaios analíticos no produto acabado (FDA, 2011). Com isto, o sistema regulatório minimiza um efetivo e eficiente processo de manufatura que assegura a qualidade do produto. Como resultado, as complexidades de uma mudança de escala não são levadas em consideração, as especificações do produto são frequentemente respondidas utilizando-se dados de um ou mais lotes e uma compreensão mais sistêmica não tem um papel significativo no processo. Finalmente um opressivo requisito regulatório impõe notificações para a execução de mudanças mínimas e incrementais nos processos e controles inibindo assim melhorias contínuas e estratégias para implantação da garantia da qualidade em tempo real (YU, 2008).

Hubert *et al.* (2014) em seu estudo de caso utilizaram a abordagem de Qbd de forma a otimizar um método realizado rotineiramente através de uma comparação entre o método tradicional de Qualidade por Testes (QbT) e a estratégia de Qbd adotada. No modelo QbT, cada lote foi testado contra uma especificação para assegurar sua qualidade e consistência de manufatura. No modelo Qbd, os lotes não necessitaram realmente ser testados contra as especificações uma vez que os controles durante o processo provêm suficiente evidências para que os lotes atinjam a especificação ao serem submetidos aos testes analíticos.

A especificação no modelo Qbd é somente utilizada para confirmar a qualidade do produto e não de servir como base de demonstração da consistência da produção e dos controles aplicados (YU,2008). A tabela 1 descreve os cenários tradicional e desejado pela Qualidade de Projeto.

Tabela 1 - Cenários Tradicional e de Qualidade por Projeto

Cenário Tradicional (QbT)	Cenário de Qualidade baseada no projeto (QbD)
Qualidade através de testes e ensaios	Qualidade baseada no projeto de produtos
Aplicação intensiva de dados	Aplicação de conhecimento dando suporte ao produto e ao processo
Especificações baseadas em dados históricos	Especificações baseadas nos requisitos de desempenho do produto
Processo congelados desencorajando alterações	Processos flexíveis permitindo a melhoria contínua
Foco na reprodutibilidade frequentemente evitando e ignorando variações	Foco na robustez entendendo e controlando variáveis

Fonte: Adaptado de YU, 2008.

Com a QbD, passamos de processos estáticos que não permitem mudanças para processos flexíveis dentro de um espaço desenhado, colocando foco na robustez do processo, permitindo controlar as variáveis intrínsecas de cada processo e produto biofarmacêutico (Anastasia e Anurag, 2012).

A adoção pelo FDA das práticas de QbD se iniciam com o relatório "Qualidade farmacêutica para o século 21: Uma Abordagem Baseada em Risco " (2004) e, a partir de então, a agência implementou os conceitos de QbD nos seus processos de análise de produtos pré-mercado.

O paradigma então do desenvolvimento farmacêutico é projetar a qualidade (*Quality by Design*) através de estratégias sistemáticas que permitam assegurar mediante processo e produtos bem compreendidos e controlados que a qualidade não depende dos ensaios finais de aprovação do produto final (Anastasia; Anurag, 2012).

Assim, os processos estáticos que não permitiam mudanças se tornam processos flexíveis dentro de um espaço de projeto, colocando foco na robustez do processo, permitindo, assim, controlar as variabilidades intrínsecas de cada processo e produto biotecnológico.

Do ponto de vista da indústria farmacêutica, a QbD requer o desenvolvimento de uma compreensão científica fundamental de processos críticos e os atributos do

produto, o estabelecimento de controles de concepção e ensaio com base na qualidade do produto e dentro dos limites da compreensão científica e da utilização dos conhecimentos adquiridos ao longo do seu ciclo de vida para operarem em um ambiente de melhoria contínua (KOVALESKI, 2006).

A QbD é um esforço deliberado do projeto, desde a concepção do produto até a comercialização que fornece uma compreensão completa de como os atributos do produto, de materiais e do processo se relacionam com o desempenho dos atributos de qualidade do produto apresentando-se com uma abordagem proativa, sistemática, científica, com base em análise de risco do desenvolvimento farmacêutico (FDA, 2004). A QbD exige uma compreensão clara dos processos, a fim de definir os parâmetros de projeto e controle que determinam os limites e a esfera operacional (FRASER, 2012).

A QbD inicia com objetivos pré-definidos e com destaque nas concepções do produto, do processo e do controle. Isto significa planejar e desenvolver formulações e processos de manufatura que garantam os objetivos pré-definidos da qualidade do produto através da identificação das características críticas de qualidade do ponto de vista do paciente, traduzindo-se em atributos que o produto deve apresentar independentemente das variações dos parâmetros críticos do processo (FDA, 2004).

Para tal, as relações entre as variáveis da formulação e do processo produtivo (incluindo os atributos dos insumos ativos e dos excipientes, assim como os parâmetros do processo) e as características do produto são estabelecidas e as fontes de variação identificadas. O conhecimento assim adquirido é utilizado para implementar um robusto e flexível processo de manufatura que pode se ajustar e produzir um produto consistente repetidamente (FDA, 2004).

A Figura 4 demonstra as etapas propostas para a implementação da QbD segundo ICH, Q8(R2) para o desenvolvimento de um produto farmacêutico.

Figura 4 - Etapas da qualidade por design



Fonte: Adaptado do guia Q8(R2) ICH.

Primeiramente, deve-se definir o objetivo do produto, ou seja, o uso a que se destina e definir sua segurança e eficácia clínica, isto é, o Perfil Alvo de Qualidade do Produto (QTPP - *Quality Target Product Profile*).

O QTPP é um resumo prospectivo das características de qualidade de um medicamento que, idealmente, serão realizados para garantir a qualidade desejada, tendo em conta a segurança e eficácia do medicamento (ICH, Q8(R2)).

Receber todos os requisitos do produto é o primeiro passo para planejar a Qualidade.

Para tal, não devem ser considerados na análise somente aspectos técnicos. É importante que haja uma equipe multidisciplinar para a formação do QTPP que deve incluir áreas como logística, comercial, econômica entre outras.

Em seguida, deve-se propor uma formulação e identificar os Atributos Críticos de Qualidade (CQA – *Critical Quality Attributes*) os quais devem cumprir os objetivos propostos do perfil de qualidade e serem relacionados aos materiais e insumos da formulação proposta.

Os CQA são propriedades ou características físicas, químicas, biológicas ou microbiológicas que devem estar dentro de um limite, escala ou a distribuição adequada para garantir a qualidade do produto desejado (ICH, Q8(R2)).

Como os produtos biológicos geralmente possuem numerosos CQA e associado a ele mais de um parâmetro crítico de processo, que impactam na segurança e eficácia, a identificação de um CQA é melhor realizada utilizando análise de risco, de acordo com o Guia ICH Q9.

Os Parâmetros Críticos de Processo (*Critical Process Parameter* - CPP) são definidos como um ou mais parâmetros de processo cuja variação tem um impacto sobre um atributo crítico de qualidade e, portanto, deve ser monitorado ou controlado para garantir que o processo reproduza a qualidade desejada (ICH, Q8(R2), 2009).

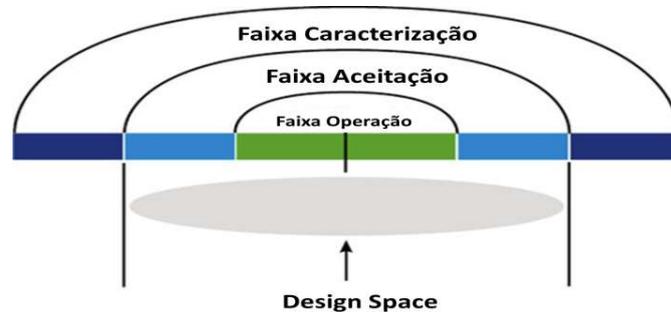
Os limites dos parâmetros críticos de processo que demonstram a segurança para qualidade do produto são denominados de Espaço do Projeto (*Design Space* - DS).

O DS é uma combinação multidimensional e interação de variáveis de entrada (por exemplo, atributos materiais) e parâmetros de processo que foram demonstradas para fornecer garantia de qualidade” (ICH Q8 (R2), 2009).

Para que o DS seja aceitável é preciso demonstrar sua viabilidade técnica e científica através de experimentos e que o sistema de qualidade desenhado pelo produto seja capaz de absorvê-lo.

Na Figura 5 demonstra um exemplo de DS.

Figura 5 - Design Space



Fonte: Adaptado de RATHORE, 2009

Conforme figura 5, o DS é geralmente dividido em três faixas:

- Operação – faixa onde o processo deve ser realizado. Quanto menor a faixa de operação, mais robusto o processo;
- Aceitação – faixa onde o processo foi desenhado (DS). Operação do processo nesta faixa não configura uma mudança;
- Faixa de caracterização – faixa onde o produto foi caracterizado, porém está fora do DS e configura uma mudança ou falha no atendimento das especificações.

A determinação do DS envolve (ICH, Q8(R2), 2009):

- a) Conhecimento - Combinação de dados experimentais e conhecimentos geralmente multidisciplinares de química, física, biologia, engenharia etc. para modelar e prever o rendimento;
- b) Desenho de Experimentos - Método eficiente para determinar o impacto de múltiplos parâmetros e suas interações;
- c) Correção de Escala (*Scale-up*) - Abordagem semiempírica para traduzir as condições de funcionamento entre as diferentes escalas e equipamentos.

Assim, para a determinação do DS torna-se necessário um conjunto de métodos estruturados e organizados cujo objetivo é de determinar as relações entre os fatores que afetam um processo e seus resultados, isto é, entre os atributos críticos de qualidade, os parâmetros críticos de processo, os atributos críticos de materiais e as conclusões estabelecidas, o qual é denominado de Desenho de Experimentos (*Design of Experiments – DoE*).

O Desenho de experimentos é uma das ferramentas do DS que permitem o estabelecimento dos limites de controle (OMS, 2013).

Com o objetivo de demonstrar a aplicabilidade da metodologia estatística Bayesian de forma a identificar o espaço de Design de um processo de secagem por pulverização (*spray-drying*), Lebrun *et al.* (2012) utilizando os princípios do guia ICH Q8(R2) através de uma abordagem baseada em risco preditivo foi ajustada para o processo, a fim de esclarecer as incertezas e correlações encontradas no processo e nos atributos de qualidade críticos. Isto permitiu quantificar os riscos e observar quando o processo é executado de acordo com as especificações de forma a descrever resultados de qualidade satisfatórios.

Após a definição das faixas de trabalho e operação, uma estratégia para o controle e monitoramento de todo o processo deve ser implementada. O controle em processo é o meio para se conseguir a qualidade desejada para o produto, como parte do conceito que a qualidade não se mede apenas no produto final e deve ser garantida desde o desenvolvimento do produto.

A estratégia de controle tem sido definida como um conjunto planejado de controles, derivado do produto atual e da compreensão do processo que assegura melhorar o desempenho do processo e qualidade do produto (ICH Q8 (R2), 2009).

Numa estratégia de controle tradicional, qualquer variabilidade em entradas do processo (tais como a qualidade do material de alimentação ou matérias-primas) resulta na variabilidade na qualidade do produto, porque os controles de fabricação como atributos de materiais ou parâmetros de processo são fixos.

Segundo a ANVISA, um desvio de qualidade é definido como um afastamento dos parâmetros de qualidade estabelecidos para um produto ou processo (BRASIL, 2010) e não conformidade como sendo o não cumprimento de requisito previamente especificado (BRASIL, 2013).

Assim, em uma estratégia de controle tradicional a variabilidade de entradas ou do processo é uma não conformidade que pode levar a um desvio de qualidade do produto. Ao ocorrerem, devem ser registradas em documentação específica e comunicadas a Área de Qualidade das empresas de forma que as variabilidades possam ser tratadas quanto a sua criticidade, com plano de mitigação ou eliminação do

risco de nova ocorrência baseado em reuniões multidisciplinares para o desenvolvimento de um plano de ação e de ações de melhoria contínua.

Os lotes com não conformidade são colocados em quarentena até que sejam avaliados quanto a sua criticidade, onde, a decisão final pode ser o descarte do mesmo devido à falta de evidências que o processo possa ser realizado fora do requisito especificado e, conseqüentemente, prejuízos do produtor.

Já numa estratégia de controle de processo dinâmico, as operações são realizadas dentro de uma variabilidade conhecida e determinada cientificamente que não afeta a qualidade do produto. Os controles dos parâmetros do processo de fabricação podem ser modificados (dentro do DS), para remover ou reduzir a variabilidade provocada por entradas do processo, resultando, assim, na qualidade do produto mais consistente, evitando não conformidades e desvios à qualidade do produto que possam levar a retenção ou descarte dos lotes produzidos (SANGSHETTI *et al.*, 2017).

As ferramentas técnico-científicas que permitem monitorar o processo e assegurar que ele se movimente dentro do Design Space são denominadas de Tecnologia Analítica de Processo (*Process Analytical Technology – PAT*). A PAT é o espaço para projetar, analisar e controlar a produção mediante medidas adequadas durante o processo seja dos atributos críticos da qualidade dos produtos de partida, intermediários, bem como durante o processo de manufatura, a fim de assegurar a qualidade do produto final (FDA, 2004).

Baj (2014) descreve algumas das melhores práticas para superar os desafios comuns em PAT. Como um dos principais desafios cita a falta de compreensão das ferramentas reais, mesmo em diferentes áreas. As ferramentas estatísticas mais utilizadas são os gráficos de controle, de capacidade e índice e em termos de ferramentas não-estatísticas, os diagramas de fluxo de processo e Ishikawa funcionam muito bem. Imprescindível o aumento da comunicação e de trabalho em todos os grupos funcionais para que uma melhor compreensão do processo possa ser alcançada, e, portanto, melhor controle.

Por fim, deve-se monitorar o processo continuamente e atualizá-lo de forma a garantir a qualidade projetada o que se estende para as matérias-primas utilizadas durante as etapas de produção.

As matérias-primas utilizadas nos processos de biotecnologia muitas vezes tendem a ser de natureza complexa, pois muitas vezes não podem ser bem definidas ou apresentarem variabilidade de lote para lote. A variabilidade na qualidade do produto causada pela variabilidade na qualidade de matérias-primas tem sido destacada como uma preocupação por parte das autoridades regulatórias, uma vez que os processos biotecnológicos utilizam um grande número de diferentes matérias-primas.

Com base na compreensão do possível impacto que uma matéria-prima pode ter na qualidade do produto ou na consistência do processo, uma abordagem adequada pode, então, ser utilizada para entender esse impacto permitindo a indústria concentrar tempo e recursos em matérias-primas mais críticas utilizando uma abordagem de análise de risco.

Anurag (2014) revisou o progresso que tem sido realizado nos últimos anos (2010-2014) e proveu uma perspectiva na implementação da Qbd identificando áreas onde existe a oportunidade de maiores contribuições. O autor destaca as oportunidades existentes para a academia e indústria para ajudar na implementação da QbD e PAT, principalmente em processos contínuos uma vez que requer uma compreensão do processo e produto (QbD) bem como para a tomada de decisão em tempo real com adequados controles (PAT).

A publicação Pharma IQ (2014) explora três tendências-chave na implementação da PAT e QbD, os negócios no caso de implementação da PAT e QbD e as melhores práticas para superar os desafios comuns no PAT através de entrevistas. A análise dos níveis de investimento para a implementação de QbD e PAT de 2010-2012 resultou que 80% dos entrevistados disseram que pretendem investir em QbD e PAT mesmo com orçamentos e margens cada vez mais apertados. Em 2010, 34% dos entrevistados não possuía planos de investimento em QbD e PAT, em 2012 este percentual diminuiu para 5% enquanto 81% implementaram ou estão em fase de implementação de QbD e PAT, o que em 2010 representava somente 53% mostrando a tendência de crescimento e mudança de cultura para a implementação da QbD e PAT.

Cooper (2014) relata a lentidão da indústria na utilização do PAT e QbD, os principais benefícios da implementação do PAT e QbD e os maiores desafios que a indústria farmacêutica e biofarmacêutica enfrentam quanto à interpretação dos guias regulatórios. Através de um estudo de caso em pequenas moléculas são propostas ferramentas úteis para estabelecer um campo comum sobre como desenvolver e definir um espaço de design através de exemplos de como executar três etapas principais na caracterização do processo: 1) executar uma análise de risco para identificar parâmetros para caracterização do processo; 2) desenvolver estudos baseados em uma abordagem de projeto de experimentos para estudar esses parâmetros e suas interações; e 3) executar esses estudos e analisá-los para determinar quais parâmetros são críticos e como o espaço de design deve ser definido.

Hass *et al.* (2014) acelerou o processo de desenvolvimento de um candidato à vacina em escala comercial até a chegada ao mercado através das aplicações de conceitos de QbD ao utilizar uma combinação de históricos e de conhecimento científico de fabricação através de análise de risco. Awotwe-Otoo *et al.* (2012) baseado na abordagem QbD, avaliaram uma série de variáveis e suas interações na qualidade desafiando um modelo de anticorpo monoclonal, de forma a obter uma formulação otimizada com alvos de qualidade pré-definidos.

Avaliando os potenciais atributos críticos de qualidade, Thoorens (2014) reuniu o conhecimento prévio da celulose microcristalina focando o seu uso no processo de compressão direta de comprimidos utilizando os conceitos de qualidade por design.

Fundamental para QbD é a utilização da gestão de riscos de qualidade. Como afirmado anteriormente, os conceitos QbD não são novos; em vez disso, "as inovações são a aplicação desses princípios no desenvolvimento, submissão e fabricação de medicamentos" (LITTLE, 2014).

A indústria biofarmacêutica está atualmente experimentando "um déficit de conhecimento e experiência" em relação ao uso de conceitos de QbD (LITTLE, 2014). Normalmente, os fabricantes aprendem através da experiência, e até que eles tenham usado com sucesso a QbD com submissões regulatórias positivas, continuarão com ressalvas sobre o uso da estrutura QbD no desenvolvimento de medicamentos.

A partir de 2013, o quadro QbD para o desenvolvimento de medicamentos genéricos passou a ser obrigatório para o FDA onde os revisores são instruídos a avaliar as propostas de novos medicamentos de acordo com os guias Q8, Q9 e Q10 (SANGSHETTI *et al.*, 2017). Com isto, o paradigma da indústria farmacêutica é de desenhar a qualidade através de estratégias sistemáticas que permitam assegurar através de processos e produtos bem compreendidos e controlados que a qualidade não depende dos ensaios finais de aprovação do produto final (SANGSHETTI *et al.*, 2017).

Um desenvolvimento científico eficiente e robusto, combinado com o gerenciamento de riscos à qualidade e o sistema de qualidade farmacêutico irão aumentar a consistência no cumprimento das especificações do medicamento e a eficiência da fabricação. Juntos, Q8, Q9, Q10 e Q11 proporcionam uma abordagem sistemática e baseada no risco e na ciência ao desenvolvimento e fabricação farmacêutica (ICH Q10, 2008).

Na indústria farmacêutica os quatro guias atuam conjuntamente em diferentes estágios ao longo de todo o ciclo de vida de um produto. Para o caso do processamento final, englobam as atividades de formulação (definição do perfil alvo de qualidade, estudos de pré-formulação, análise da formulação, seleção e otimização), desenvolvimento de processo de envase e liofilização (análise do processo, desenvolvimento de escala laboratorial, *scale-up*) e fabricação (fabricação em escala comercial, liberação de lotes, verificação e melhoria contínua).

## **1.8 Etapas de processamento final na indústria biofarmacêutica**

Diferentemente de outros segmentos da indústria, a indústria biofarmacêutica possui normas muito restritas principalmente quanto à esterilidade de seus produtos finais e os riscos associados a esta esterilidade ao longo do processo produtivo. As normas elaboradas pela *Food and Drug Administration* (FDA), seguidas pela agência regulatória europeia e japonesa e logo após pela Organização Mundial da Saúde

(OMS) e ANVISA no Brasil, preconizam um maior domínio de processo, a necessidade de maiores investimentos em instalações e equipamentos das indústrias farmacêuticas e uma análise de risco abrangente na cadeia produtiva.

Tais exigências demandam um maior desenvolvimento tecnológico da indústria farmacêutica e de seus fornecedores. Para atender as Boas Práticas de Fabricação tornou-se necessário adequar equipamentos, instalações, fluidos de processo, *layouts* de fábricas, redes de frio e outras modificações que elevaram significativamente os custos da unidade produtiva.

Não se pode omitir e/ou modificar uma etapa do processo produtivo sem que haja uma nova validação de forma a verificar se o resultado esperado é satisfatório. Além disto, a autoridade regulatória deve estar ciente da modificação, principalmente se esta foi executada em algumas fases como a troca de embalagem primária ou modificações na formulação do produto, esta última provavelmente será acompanhada por estudos clínicos que possam comprovar a melhor ou igual eficiência do medicamento e o baixo risco associado à administração deste no organismo humano.

A vacina sarampo, caxumba e rubéola possui como ingredientes ativos os vírus vivos atenuados do sarampo (cepa Schwarz), da rubéola (cepa Wistar RA27/3) e da caxumba (cepa RIT 4385 derivada da cepa Jeryl-Lynn), produzidos em substratos celulares e células diploides. Os bulks (concentrados virais) monovalentes de rubéola, sarampo e caxumba são misturados juntamente com volumes apropriados de excipientes e estabilizadores. A vacina trivalente é, então, envasada e liofilizada (Bio-Manguinhos, 2019).

A vacina sarampo, caxumba e rubéola a ser utilizada para o estudo de caso nesse trabalho atende aos requisitos da Anvisa para a fabricação de substâncias biológicas e dada à natureza específica de uma indústria biofarmacêutica de produção de produtos liofilizados, Neves (2013) representa o fluxo do processo em seis etapas considerando como ponto de partida a etapa de formulação do produto (Figura 6).

Figura 6 - Fluxo do Processo de Produtos Liofilizados



Fonte: NEVES, 2013.

A produção de produtos liofilizado da figura 6 é descrita em detalhes a seguir.

### 1.8.1 A formulação

A formulação é a primeira etapa para o processamento final de um lote onde a operação unitária de mistura se encontra presente. Nela o Ingrediente Farmacêutico Ativo (IFA), solvente (geralmente água grau para injetáveis para a diluição), excipiente, estabilizante, crioprotetores, tampões e demais insumos são adicionados em um tanque previamente esterilizado (NEVES, 2015).

### 1.8.2 O envase

A etapa de envase consiste no fracionamento do produto formulado contido no tanque em frascos previamente lavados e despirogenizados. O tanque com o produto formulado é conectado à máquina de envase que, por meio de um sistema de sucção e agulhas, injeta em cada frasco o volume especificado.

O Controle em Processo para a quantidade de volume injetada em cada frasco é controlada de forma estatística ou por pesagem de cada frasco.

Logo após a colocação do volume necessário de produto em cada frasco, a máquina de envase posiciona tampas de borracha (rolhas) previamente esterilizadas na boca de cada frasco. Para um produto que deverá ser seco pelo processo de liofilização, as rolhas são inseridas parcialmente no frasco de modo que haja abertura para a saída do vapor de água.

O processo de envase é realizado de forma contínua sendo os frascos semi-arrolhados transferidos assepticamente para o equipamento de liofilização até que este tenha sua capacidade preenchida.

O processo de liofilização então pode ser iniciado.

### 1.8.3 A liofilização

A operação unitária de secagem do produto se encontra presente na etapa de liofilização.

A liofilização - ou secagem a frio (*freeze drying* em inglês) - é um complexo processo multiestágios, que precisa ser cuidadosamente ajustado para cada caso, e que torna sua principal característica - a secagem a partir do estado congelado - um atrativo particularmente importante para a estabilização de componentes orgânicos hidratados e lábeis, de origem biológica (NEVES, 2013).

Produtos biológicos são rotineiramente liofilizados para melhorar sua estabilidade e, assim, aumentar o tempo de prateleira comercialmente. No entanto, a liofilização é uma operação unitária dependente da formulação do produto e seu processo de envase. Enquanto a seleção de excipiente é focada na melhoria da estabilidade do produto, para um produto liofilizado uma consideração adicional é a compatibilidade da formulação para o processo de liofilização (PIKAL, 1990).

A duração dos ciclos de liofilização depende do produto a ser liofilizado e geralmente requer mais de três dias para se obter um produto que atinja as especificações de qualidade (Mariner *et al.*, 1990; Wang, 2000; Chen *et al.*, 2010; Freixeiro *et al.*, 2013; Orr *et al.*, 2014).

Mayeresse (2012) demonstra a importância do processo de liofilização para a indústria farmacêutica. A revisão do mercado global mostra que um de cada dois novos produtos será liofilizado nos próximos anos como vacinas e anticorpos monoclonais. Isto se deve a novas moléculas com maior especificidade nas doenças e o aumento da complexidade da molécula, principalmente de origem biológica e não mais por síntese química e, portanto, cada vez menos estável no estado líquido, necessitando, assim, do processo de liofilização.

Para o processo de estabilização de produtos farmacêuticos com ingrediente ativo termicamente sensível (grande maioria dos produtos biológicos) ainda não se possui um processo que possa substituir a liofilização para o uso comercial (NEVES, 2013).

Para liofilizar, o produto deve estar totalmente congelado. A partir de então, o produto deve ser submetido à baixa pressão, geralmente na faixa de mbar ou micron de Hg ( $\mu\text{Hg}$ ), enquanto energia sob condições controladas é fornecida. Esta energia fornecida provê o produto do necessário calor de sublimação, de tal forma que os cristais de gelo presentes passem diretamente do estado sólido para o estado gasoso, sem passar pelo líquido. O vapor de água gerado é removido da área de secagem do produto por bombeamento a vácuo, retornando à gelo nas superfícies refrigeradas do condensador enquanto os gases não condensáveis são removidos para o sistema de bombas de vácuo (LEARY;STANFORD, 1977).

A tecnologia de liofilização é dividida em três fases: a fase de congelamento – onde o produto líquido é congelado, a fase de secagem primária – onde o solvente congelado é retirado por sublimação e a fase de secagem secundária – onde na fase final do ciclo o solvente é retirado por dessorção.

A fase de congelamento se caracteriza pela formação de cristais de gelo.

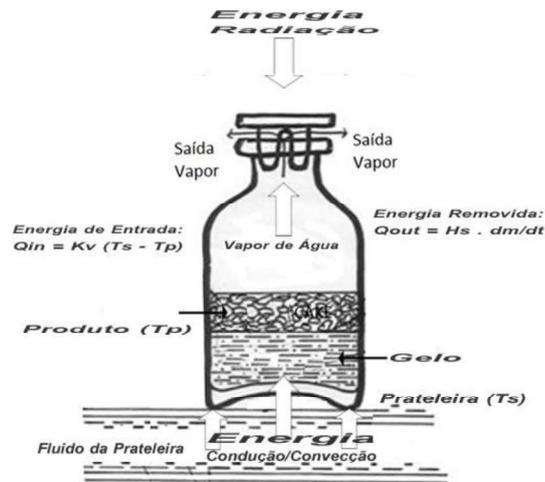
A forma dos cristais de gelo obtidos durante o congelamento do produto possui reflexos diretos na fase de secagem primária, grandes cristais de gelo criam grandes poros conduzindo a uma rápida sublimação da água, mas a secagem secundária pode ser lenta devido a menor área de superfície formada, limitando a dessorção da água durante esta etapa. Para manter um equilíbrio, tem sido recomendado um grau moderado de supercongelamento (WANG; HAYMET, 1998).

A fase de secagem primária se caracteriza pela transferência de energia ao produto para que o gelo então seja removido por sublimação.

A secagem primária é um processo de sublimação bem definido que ocorre de cima da superfície do produto para baixo em direção ao produto congelado conforme ocorre a secagem. Acima da face da superfície está o produto seco, ou “bolo”; abaixo está o produto com os cristais de gelo remanescentes ainda a serem sublimados.

Na figura 7, observa-se que a energia é fornecida ao produto principalmente pela base do frasco em contato com a prateleira e o vapor d'água sublima da superfície do gelo no topo do frasco.

Figura 7 - Transferência de energia e massa na operação de liofilização



Fonte: Adaptado de FRANKS, 2007.

No caso de um produto farmacêutico não demonstrar comportamento eutético, é imperativo congelar a solução abaixo da sua temperatura vítrea ( $T_g$ ), de forma a garantir a máxima concentração de produto congelado e minimizar reações químicas deletérias que foram demonstradas em ocorrer a altas taxas na matriz congelada (FRANKS, 2007).

Pela mesma razão, a temperatura durante a remoção do gelo por sublimação não pode aumentar acima da  $T_g$  em nenhum momento durante o processo de sublimação, de forma a evitar o derretimento do gelo dentro da mistura supersaturada (FRANKS, 2007).

A pressão da câmara afeta a taxa de sublimação, mas não a força motora que é dada pela diferença da pressão de vapor d'água entre a frente de gelo no frasco e a superfície do condensador. Uma vez que a pressão de vapor d'água é inversamente proporcional à temperatura, é de fato a diferença de temperatura entre a frente de gelo no frasco e a superfície do condensador que provém a força motora. Por motivos óbvios, a pressão da câmara deve ser mantida abaixo da pressão de vapor saturada do gelo durante a temperatura de operação (FRANKS, 2007).

Os princípios de engenharia e mecanismos de transferência de energia que regem o suprimento de energia para o produto congelado foram discutidos em detalhes por Oetjen (2017).

Além do gelo livre que é sublimado durante a secagem primária, continua a existir uma quantidade substancial de moléculas de água que estão vinculadas ao produto, em geral na faixa de 5-10%.

O processo de remoção da água da solução sólida remanescente é chamado de secagem secundária. Assim que todo o gelo livre for removido na secagem primária, a temperatura do produto já pode ser aumentada, sem receios de derretimento ou colapso e continuar até que o produto tenha conteúdo úmido aceitável para armazenamento em longo prazo (geralmente na faixa de 0.5% a 3%).

Para que todo o processo de liofilização ocorra utiliza-se o equipamento chamado liofilizador.

Os liofilizadores industriais são fabricados de forma a receber os recipientes com produto em uma câmara com prateleiras. Por dentro das prateleiras ocas e com chicanes circula um fluido que pode ser aquecido ou resfriado por um sistema de refrigeração e aquecimento composto por trocadores de calor e serpentinas de aquecimento de forma a controlar a temperatura das prateleiras na temperatura necessária de acordo com a receita programada no equipamento para determinado produto.

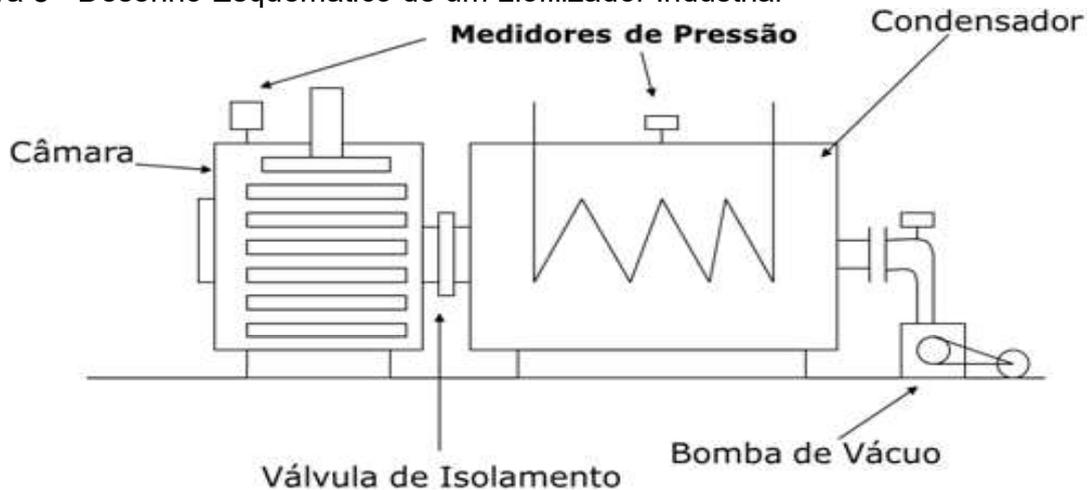
Um condensador se encontra adjacente a câmara para estocar o vapor de água que deixa os frascos durante o processo de secagem, funcionando como uma armadilha de frio. Compressores se ligam ao condensador de forma que válvulas eletrônicas possam realizar a expansão direta do gás comprimido e diminuindo a temperatura das serpentinas do condensador a valores inferiores a  $-40^{\circ}\text{C}$ . O vapor em contato com a superfície fria das serpentinas do condensador retorna a fase sólida (gelo) podendo ser derretido depois pela injeção de vapor.

A diminuição da pressão da câmara, para que ela seja mantida abaixo da pressão de vapor saturado do gelo na temperatura escolhida de processo, é conseguida através de um sistema de vácuo e um controle modular de injeção de gás inerte.

Controle de pressão, bombas para circulação do fluido da prateleira, trocadores de calor, válvulas e Controlador Lógico Programável completam o equipamento de forma que ele possa reproduzir o ciclo de liofilização desenvolvido para o produto.

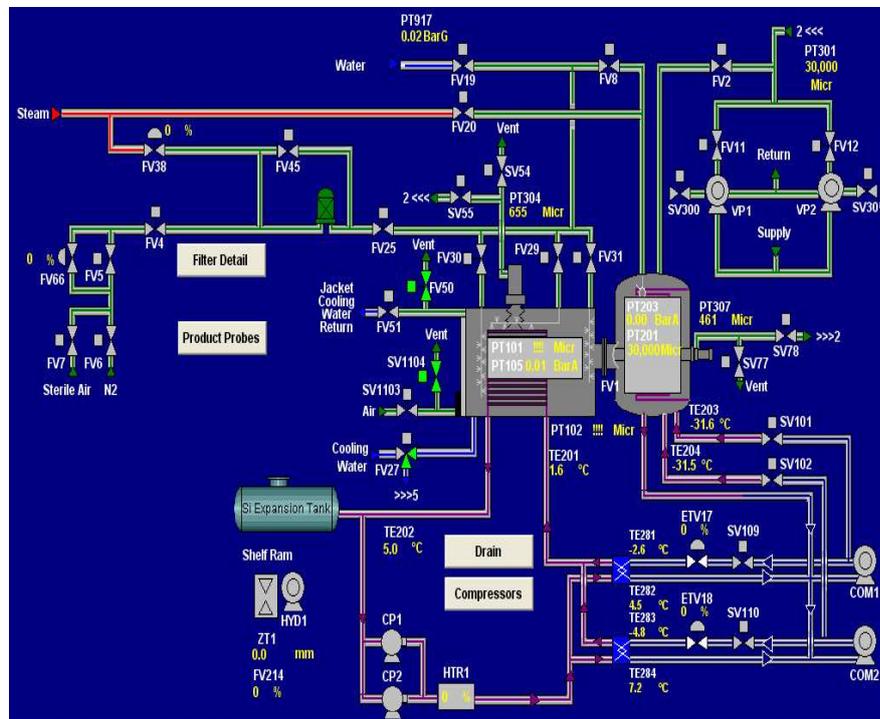
Um típico esquema de um liofilizador simplificado utilizado na indústria farmacêutica pode ser visto na Figura 8 e seu diagrama sinótico na figura 9.

Figura 8 - Desenho Esquemático de um Liofilizador Industrial



Fonte: NEVES, 2013.

Figura 9 - Painel Sinótico do Liofilizador Industrial



Fonte: *Operating Manual Lyomax 21 Industrial Freeze Drying System*, 2008.

No entanto, para que o liofilizador execute as etapas necessárias para a secagem do produto torna-se necessária a inserção de uma programação no seu Controle Lógico Programável denominada de ciclo de liofilização.

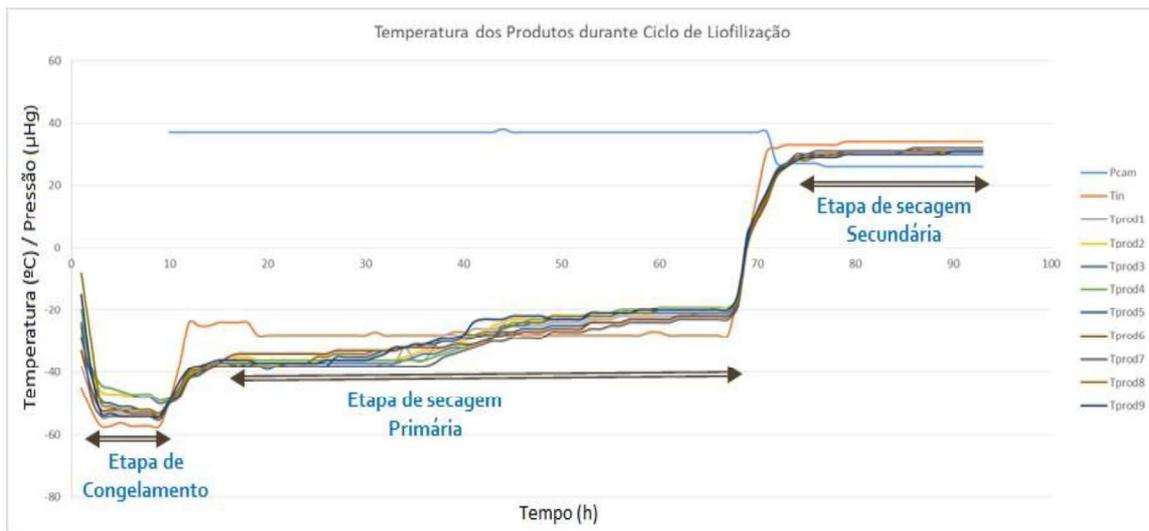
O ciclo de liofilização é a ligação entre os parâmetros do processo de liofilização e o equipamento de liofilização.

O resumo de Kasper *et al.* (2011) destaca os recentes avanços e discute os novos desafios da liofilização. A Tecnologia Analítica de Processo e a QbD são questões líderes onde o redesenho do equipamento de liofilização ou até mesmo a troca por processos contínuos também devem ser reconsideradas no futuro.

Fissore, Pisano e Barresi (2014) investigaram um ciclo de liofilização levando em consideração a eficiência da energia utilizada. A análise foi focada na fase de secagem primária devido a este estágio contribuir com a maior parte da energia consumida durante um ciclo de liofilização. Um modelo matemático simplificado foi utilizado para calcular o espaço de design do processo e, acrescentando equações que descrevem a dinâmica do liofilizador, a análise da energia do processo foi executada para apontar as condições operacionais que permitem minimizar a perda de energia e maximizar a eficiência energética.

Durante o processo de liofilização é possível realizar o monitoramento do produto através de sensores imersos no produto, possibilitando um maior conhecimento sobre o perfil e comportamento do produto em condições operacionais normais ou quando variabilidades intrínsecas ou não conformidades ocorrem ao decorrer do ciclo de liofilização. A figura 10 demonstra um exemplo de ciclo de liofilização onde os parâmetros críticos de processo temperatura, tempo e pressão são monitorados continuamente, assim como a temperatura dos produtos.

Figura 10 – Exemplo de monitoramento de parâmetros críticos de processo e temperatura dos produtos durante o ciclo de liofilização de lotes comerciais, onde Pcam – pressão da câmara de liofilização; Tin – Temperatura de entrada de fluido nas prateleiras do liofilizador; Tprod<sub>x</sub> – Temperatura dos produtos na localização x da prateleira do liofilizador



Fonte: Autor.

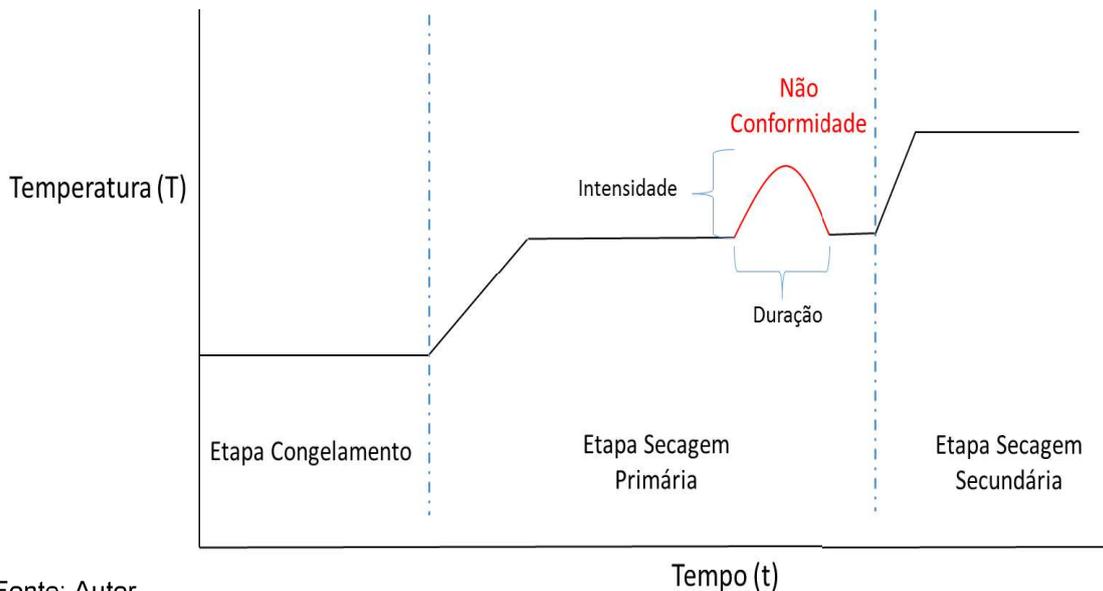
A temperatura de entrada de fluido nas prateleiras do liofilizador é controlada automaticamente pelo programa lógico programável do liofilizador em  $\pm 1,5^{\circ}\text{C}$ . A temperatura dos produtos é medida continuamente através de sensores imersos no produto em cada uma das prateleiras e possibilitam informações de perfil do produto que podem ser utilizadas para a melhoria ou otimização do ciclo de liofilização.

Durante a produção de lotes em escala comercial podem ocorrer variabilidades intrínsecas ao processo devido a termodinâmica envolvida no processo de liofilização ou fatores externos ou falhas no equipamento que possam ocasionar alteração dos parâmetros de processo temperatura ou pressão e, indiretamente, no tempo do ciclo de liofilização. Afastamentos dos *setpoints* e das faixas estabelecidas para o ciclo de liofilização levam ao equipamento de liofilização manter a etapa do ciclo automaticamente até que os valores de pressão e temperatura retornem às faixas pré-definidas.

Afastamentos das condições ideais de operação representam não conformidades do processo que podem resultar em valores fora da especificação dos atributos de qualidade do produto.

A figura 11 demonstra um tipo de não conformidade durante a etapa de secagem primária, onde a temperatura da prateleira do equipamento aumentou acima do *setpoint* estabelecido por determinado tempo.

Figura 11 – Exemplo de não conformidade durante a etapa de secagem primária do ciclo de liofilização



No caso da figura 11, o afastamento da temperatura da condição ideal de operação poderia não representar uma não conformidade se anteriormente estivesse demonstrado, de forma científica, que tal mudança não ocasionou influência negativa nos atributos críticos de qualidade, isto é, se um espaço de projeto estivesse estabelecido correlacionando, nesse caso, a temperatura e os atributos críticos de qualidade e seus limites.

Ao término da secagem do produto, as prateleiras do equipamento se sobrepõem de forma a fechar os frascos e, assim, permitir a retirada deles do equipamento sem que o produto reidrate ou contamine.

Os frascos então são encaminhados para a etapa de recravação.

#### 1.8.4 A recravação

A etapa de recravação consiste na selagem dos frascos com o produto oriundo da finalização do processo de liofilização. Esta etapa tem por finalidade proteger o produto da entrada de umidade e contaminação através da colocação de um selo para fixar a rolha no frasco. Para tal, é utilizada uma máquina para a colocação de selos metálicos de forma automática de forma a fixar a rolha no frasco do produto.

#### 1.8.5 A inspeção

Após a recravação, os frascos são inspecionados quanto ao seu aspecto, fissuras existentes no frasco, cor de selo, partículas e demais padrões físicos de qualidade que ele deva possuir para ser liberado ao mercado. Os frascos não conformes são contados e segregados para descarte e amostras são retiradas do lote pelo Controle de Qualidade para análise dos parâmetros físico-químicos e microbiológicos e, por fim, encaminhado para uma câmara fria onde permanecerá até a sua embalagem final.

#### 1.8.6 A embalagem

A última etapa do processamento final é a embalagem secundária do lote do produto onde os frascos serão rotulados e embalados para a expedição final ao cliente.

### 1.8.7 Análises de controle de qualidade

Para uma produção comercial de vacina é primordial para a liberação dos lotes ao mercado e ao Programa Nacional de Imunização (PNI), onde, de forma a retornar à população sua contribuição tributária a vacina será disponibilizada de forma gratuita, atender às especificações referente aos métodos analíticos.

É a qualidade de um produto biológico que mantém sua potência, atividade, título, imunogenicidade, durante o armazenamento a temperaturas recomendadas e durante a exposição accidental a condições excepcionais. Fatores internos e externos, que influenciam sua estabilidade e o seu tempo de vida (*shelf-life*) são: a estabilidade da sua estrutura, temperatura, pH, meio de suspensão, ciclos de congelamento e aquecimento, agentes antisépticos e inativantes, exposição à luz, se são inativadas ou atenuada (PEETERMANS, 1996).

Uma vez que o produto escolhido possui base biológica e necessita da operação unitária de secagem para sua estabilização, a avaliação de umidade residual do produto e testes que caracterizam o ingrediente farmacêutico ativo ou sua atividade biológica são obrigatórios pelas Agências Regulatórias.

O conteúdo de umidade residual após a liofilização frequentemente controla a estabilidade da proteína por um longo período, tanto física como biologicamente. O conteúdo de umidade de uma fórmula de proteína liofilizada pode mudar significativamente durante o armazenamento, devido a uma variedade de fatores tais como: liberação da umidade pela rolha de borracha butílica e entrada de ar para o interior do frasco contendo o produto liofilizado, cristalização de um excipiente amorfo, ou liberação de umidade de um excipiente hidratado. A água pode afetar a estabilidade da proteína tanto direta como indiretamente (TATTINI, 2006).

O método por titulação por Karl Fischer, originalmente descrito em 1935, é a abordagem mais utilizada na determinação do conteúdo de água residual uma vez que fornece uma melhor estimativa para a umidade residual total, é bastante reprodutível e pode ser automatizado (TATTINI, 2006).

De acordo com os Mínimos Requerimentos da OMS para a umidade residual do produto em estudo, tanto o método de análise quanto o limite superior de umidade devem ser especificados pela autoridade nacional de controle. Geralmente, níveis de umidade abaixo de 2% são considerados satisfatórios (WHO, 2013). Para o produto escolhido, a umidade residual está preconizada para, no máximo, 2,5% para estar aprovada neste teste (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

No entanto, as ferramentas analíticas, extremamente úteis e decisivas à avaliação de diferentes medicamentos sintéticos, não permitem demonstração de evidências quanto à estrutura das moléculas, nem conclusões sobre a eficácia de medicamentos biológicos, provenientes de diferentes fabricantes (ANVISA, 2017).

Dessa forma, medicamentos biológicos não são completamente caracterizados por análises químicas convencionais. São necessários ensaios bioquímicos, imunológicos e ensaios biológicos “in vivo” para avaliar sua atividade (ANVISA, 2017).

Alguns pontos críticos estão relacionados à produção e caracterização desses medicamentos, a saber, potência, pureza, incluindo isoformas e produtos de degradação do produto derivado de biotecnologia; resíduos do sistema de produção (meio de cultura, proteínas celulares, DNA, etc.) e do sistema de purificação; padrões de glicosilação distintos, possíveis organismos contaminantes ou agentes infecciosos transmitidos pelo sistema produtor celular ou animal. Portanto, o processo produtivo é um determinante da qualidade do produto final (ANVISA, 2017).

O teste de potência consiste em determinar a concentração de partículas virais suficiente para a imunização humana, contidas em uma dose humana (DH), quando mantida de 2°C a 8°C, se liofilizada, ou a -70°C, quando retirada na etapa de formulação (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Tendo por base os Mínimos Requerimentos da OMS (WHO, 2013) e Farmacopeia Brasileira (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010), os valores são considerados satisfatórios para teste de potência quando:

- Os títulos médios dos frascos da vacina liofilizada estocada de 2°C a 8°C, e da vacina mantida a 37°C, por 14 dias, for maior ou igual a 3,73 Log 10 PFU/DH<sup>1</sup> equivalente a 3 Log 10 LD50<sup>2</sup> por dose em camundongo;
- Não apresentar variação maior que 0,5 logaritmo, entre os resultados de cada frasco testado, tanto na vacina acondicionada em 2°C a 8°C, como para a vacina acondicionada em termoestabilidade;
- Não apresentar uma diferença maior que 1 logaritmo entre a média do título da vacina acondicionado em 2°C a 8°C, e o título médio dos frascos da vacina acondicionada em termoestabilidade.

Para que um lote seja aprovado, todos os atributos de qualidade devem se encontrar na faixa preconizada pelo fabricante.

#### 1.8.8 Rendimento dos lotes de produção

O aperfeiçoamento dos processos produtivos faz-se necessário, atualmente, não é com o aumento dos preços que se atinge o lucro esperado; ao contrário, a oferta de produtos é alta e a vantagem competitiva dá-se no preço do produto final. Para não abrir mão dessa vantagem, as empresas devem trabalhar na redução dos custos e é nesse ponto que a produtividade elevada e a produção eficiente ganham importância (CORRÊA; CORRÊA, 2004).

---

<sup>1</sup> Log 10 PFU/DH - Unidade formadora de Placa (*Plaques Forming Unit*) em logaritmo na base 10 por dose humana.

<sup>2</sup> Em toxicologia **dose letal mediana** (DL<sub>50</sub> ou LD<sub>50</sub>, do inglês *Lethal Dose*) é a dose necessária de uma dada substância ou tipo de radiação para matar 50% de uma população em teste. A sua determinação é feita expondo cobaias a diferentes doses da substância a ser testada por um determinado período até se determinar aquela que mata apenas metade da população testada. O DL<sub>50</sub> é frequentemente usado como um indicador da toxicidade aguda de uma substância; quanto maior a dose que será letal, menos tóxica é considerada.

Porém, atingir níveis elevados de produtividade não é fácil, requer estudo e experiência. Faz-se necessário conhecer o processo em que se está atuando, saber suas limitações e atuar, preferencialmente, de forma preventiva. Após o estabelecimento de um processo realmente eficiente, ainda é preciso controlar, ou seja, verificar se os resultados esperados estão realmente sendo atingidos. Esse controle acaba acontecendo basicamente por meio de indicadores específicos, os quais devem buscar dados de alimentação em fontes confiáveis e, principalmente, refletir as necessidades da empresa (SLACK; CHAMBERS; JOHNSTON, 2009).

Para o estudo de caso pretendido nesse trabalho o indicador de eficiência operacional rendimento dos lotes será utilizado para se correlacionar as alterações pretendidas nos parâmetros críticos de processo da operação unitária de liofilização em relação a efeitos nos atributos críticos de qualidade da vacina.

Para tal, o indicador rendimento ou performance de lotes será definido como a relação entre a quantidade de frascos com produto enviada ao equipamento de liofilização na forma líquida (após a etapa de envase) e a quantidade de frascos efetivamente aprovada após a revisão de 100% dos frascos com o produto liofilizado.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho é de propor uma metodologia utilizando os conceitos da metodologia de QbD para a construção de um espaço de projeto da operação unitária de liofilização em uma indústria biofarmacêutica para um produto existente no mercado.

### 2.2 Objetivos específicos

- Reunir as informações do produto comercial de forma a declarar o seu perfil de qualidade do produto alvo e suas especificações farmacopeicas;
- Construir de um banco de dados sobre o produto com uma janela temporal de 8 anos (de 2011 até 2019), contendo informações de produção, controle de qualidade e não conformidades.
- Confirmar que a operação unitária mais crítica no processamento final do produto é a operação unitária de liofilização.
- Identificar os atributos críticos de qualidade do produto que podem ser influenciados pela etapa crítica através da ferramenta de análise de riscos Análise Preliminar de Perigos.
- Identificar as falhas e riscos do processo realizado na etapa crítica que possam influenciar os atributos críticos de qualidade através da ferramenta de análise de risco, Análise de Modo e Efeitos de Falha.
- Identificar as falhas potenciais no equipamento utilizado na etapa crítica que possam influenciar os atributos críticos de qualidade através da ferramenta de análise de risco Análise de Perigos de Operabilidade.

- Realizar uma análise estatística sobre os resultados de controle de qualidade e do rendimento dos lotes aprovados do banco de dados de forma a verificar a sua linearidade e ocorrência de valores extremos sobre a série histórica de resultados.
- Propor experimentos com novos valores para os parâmetros críticos de processo e realizar uma comparação estatística sobre os seus resultados de controle de qualidade e de rendimento, explorando a linearidade, a ocorrência de valores extremos e análise da significância estatísticas das alterações propostas.
- Estabelecer um espaço de projeto com os limites para a etapa crítica do processamento final do produto, de forma a se obter as faixas nos quais os parâmetros de processo possam variar sem afetar os atributos críticos de qualidade, mantendo-se a qualidade do produto.

### 3 METODOLOGIA

A proposta da metodologia de QbD reversa nesse trabalho está fundamentada nos conceitos para o desenvolvimento de produtos conforme descrito nos guias do ICH Q8(R1) (2005) e Q9 (2005) para um produto estabelecido no mercado através da utilização de informações prévias disponíveis pelo produtor para a criação de um espaço de design da etapa mais crítica do processamento final.

Com isso, realizou-se uma atualização das faixas operacionais para a etapa crítica a partir das variabilidades de lotes históricos produzidos objetivando uma maior flexibilidade para a etapa crítica de forma a não incorrer em não conformidades ou desvios de qualidade futuros. Diferentemente da metodologia de QbD clássica, não foram realizados investimentos adicionais para a realização de experimentos e análises de qualidade os quais demandariam recursos de tempo, infraestrutura e materiais, uma vez que os lotes são rotineiramente realizados. Mudanças consideradas críticas pela agência regulatória como modificações de insumos para a formulação, ou quantidade de produto envasado por frascos e diferentes dosagens também não são escopo desse trabalho devido à especificidade da regulação de produtos biológicos necessitarem de estudos de estabilidade que podem variar conforme o seu tempo de vida útil (geralmente de 2-3 anos).

Portanto, a metodologia descrita neste trabalho se propôs a empregar os conceitos do QbD de forma reversa, ou seja, de informações disponíveis dos lotes produzidos para um produto já comercializado, no qual seu processamento final e controle de qualidade são reproduzidos rotineiramente seguindo padrões estabelecidos pela indústria biofarmacêutica.

A abordagem utilizada foi de um estudo de caso, onde a vacina tríplice viral, que possui os componentes virais sarampo, caxumba e rubéola foi utilizada como objeto de estudo.

Como etapas preparatórias, um banco de dados foi criado de forma a suportar todo o tempo as análises sobre a etapa crítica, as análises de risco contendo as informações dos lotes durante a sua produção, os resultados dos atributos de qualidade, as não conformidades e desvios de qualidade quando da sua ocorrência e,

finalizando as etapas preparatórias, a confirmação que a operação unitária de liofilização era a etapa crítica do processamento final por apresentar a maior incidência de não conformidades em lotes produzidos de vacina tríplice viral.

Análises de risco foram conduzidas com o objetivo de definir os atributos críticos de qualidade, elencar os riscos da operação unitária crítica e suas falhas do processo ocorridas durante a etapa do processamento final. Posteriormente, foi realizada uma análise de experimentos utilizando-se hipóteses e ferramentas estatísticas nos resultados do histórico dos lotes frente aos seus parâmetros críticos de processo. Modificações nos parâmetros críticos de processo da etapa crítica foram sugeridas e implementadas segundo variabilidades dos lotes e consequente resultado nos atributos críticos de qualidade. Os resultados estatísticos foram comparados de forma a se verificar a significância das alterações propostas.

Ao seu término, o espaço de projeto foi proposto para a etapa crítica relativa à vacina escolhida para o estudo de caso, o que, futuramente, poderá evitar que variabilidades que ocorram durante a produção de lotes possam gerar não conformidades e, conseqüentemente, descarte de lotes produtivos.

### **3.1 Fluxograma da metodologia de análise**

A figura 12 apresenta a metodologia utilizada para atender os conceitos de QbD e atingir o objetivo de construção do espaço de projeto para o produto biológico escolhido.

Figura 12 – Passos da metodologia proposta



Fonte: Autor.

Para uma melhor compreensão dos passos da figura 12, as etapas se encontram divididas em dois grandes blocos, no primeiro (vermelho) os passos de 1 a 5 são aqueles que de suporte com as premissas fundamentais para o delineamento do segundo bloco (azul) de maior complexidade que compreende os passos de 6 a 10.

No Passo 1 foi definido o produto objeto de estudo com as seguintes premissas:

- O tempo do produto presente no mercado não deve ser inferior a cinco anos;
- A quantidade de lotes fabricados deve ser representativa para a realização de uma análise estatística;
- As informações sobre os lotes de produção devem estar disponíveis;
- As informações devem ser confiáveis e rastreáveis.

Adicionalmente a estas premissas levou-se em consideração também ser um produto liofilizado, pois abarca uma operação unitária a mais, que pode ser crítica nas etapas de processamento final de vacinas. Além de aspectos tecnológicos, abordou-se também aspectos comerciais, regulatórios, a relevância da vacina para a população brasileira e que culminasse num melhor entendimento do processo afim de se verificar possibilidades de melhoria.

As informações necessárias para a montagem do banco de dados se encontravam disponíveis no Departamento de Garantia da empresa como dossiês de

produção, resultados de análise de controle de qualidade, cartas gráficas do ciclo de liofilização, relatório anual do produto e dados finais para aprovação ou descarte de lotes.

No Passo 2, conforme os preceitos de QbD, as informações do produto comercial foram resgatadas para atender o segundo passo e montou-se o formulário Perfil de Qualidade Alvo do Produto (QTPP - *Quality Target Product Profile*), de forma a agregar as informações sobre aspectos técnicos, comerciais, clínicos, logísticos e de processo e, assim, mapeou-se as informações relevantes para o formulário QTPP reunindo-se todas as características de qualidade do produto.

No Passo 3, revisou-se os atributos de qualidade a partir de dados farmacopeicos e métodos analíticos de aprovação do produto comercial escolhido e montou-se uma tabela com as informações dos atributos de qualidade do produto e suas especificações.

De forma a se montar a metodologia de QbD reversa, onde tradicionalmente vários experimentos em escala laboratorial (bancada) precisariam ser realizados, optou-se por coletar informações disponíveis dos 576 lotes produzidos em uma janela temporal de 2011 a 2019 como rendimento, parâmetros de processo e seus resultados de análise de controle de qualidade.

Assim, no Passo 4 montou-se um banco de dados desta janela temporal de 8 anos, com as seguintes informações: rendimento dos lotes, não conformidades que possam ter ocorridas durante o processamento final e análise final do controle de qualidade de cada lote de vacina produzida.

Para finalizar o bloco 1 da metodologia, no Passo 5 a partir da análise de maior número de não conformidades, que podem ser reflexo de variabilidades do processo, de fatores externos, falta de controle ou da falta de conhecimento robusto do processo, confirmou-se a etapa crítica como sendo a operação unitária de liofilização.

Para tal, aplicou-se o Princípio de Pareto através da regra 80/20 (20% das causas são responsáveis por 80% dos efeitos) às etapas do processamento final (formulação, envase, liofilização, recravação e inspeção) onde diferentes falhas ocorreram durante a produção.

Com o objetivo de identificar os principais perigos que podem influenciar os ACQ, assim como as falhas de operabilidade do equipamento que realiza a operação unitária crítica e identificar os modos de falha dos parâmetros críticos de processo que podem impactar os ACQ, conduziu-se análises de risco, como descrito nos Passos 6, 7 e 8 a seguir.

A importância da realização das análises de riscos se converte no conhecimento pelo produtor das falhas na operação dos equipamentos que podem causar variações nos parâmetros críticos de processo e conseqüentemente resultar em valores fora das faixas aceitáveis dos atributos críticos de qualidade da vacina e, por fim, a qualidade do produto final produzido conforme figura 13.

Figura 13 - Mapeamento de falhas através de Ferramentas de Análise de Risco



Fonte: Autor.

Dessa forma, no Passo 6 aplicou-se a ferramenta de análise de riscos Análise Preliminar de Perigo (PHA - *Process Hazard Evaluation*) com o objetivo de se analisar o sistema existente e priorizar os perigos que a etapa crítica confirmada possa afetar os atributos de qualidade do produto.

A Análise Preliminar de Perigo é uma ferramenta de análise baseada na aplicação da experiência anterior ou conhecimento de um perigo ou falha em identificar futuros perigos, situações perigosas e eventos que podem causar danos, bem como estimar sua probabilidade de ocorrência para uma determinada atividade, instalação, produto ou sistema (Q9, 2005). A ferramenta consiste em: 1) a identificação das possibilidades que o evento de risco aconteça, 2) a avaliação qualitativa da extensão do possível lesão ou dano à saúde que poderia resultar e 3) uma classificação relativa do

perigo usando uma combinação de gravidade e probabilidade de ocorrência, e 4) a identificação de possíveis medidas corretivas (Q9, 2005).

Para auxílio no preenchimento da planilha de PHA foram utilizadas especificações do produto de propriedade do produtor, da literatura e de uma equipe multidisciplinar formada por especialistas sendo um da área de produção, um da área de qualidade, um da área de controle de qualidade e um da área de engenharia.

A planilha da tabela 2 demonstra o modelo seguido pela equipe multidisciplinar para preenchimento das informações.

Tabela 2 – Modelo de planilha de Análise Preliminar de Perigos

Atributo de Qualidade	Perigo	Causa	Deteção	Efeito	Probabilidade de ocorrência	Severidade	Risco Potencial
<b>Atributos de Qualidade do produto escolhido</b>	Todo evento com potencial de causar danos ao consumidor ou interferir na qualidade, segurança ou eficácia do produto.	Causas responsáveis pelo perigo, que podem envolver falhas de equipamentos ou humanas	Percepção do perigo	Efeitos dos perigos ao consumidor ou ao produto	Probabilidade (P) definida como a possibilidade de ocorrência de um evento ou resultado levando-se em consideração a avaliação da equipe multidisciplinar.	Severidade (S) definida conforme medida das possíveis consequências de um perigo, levando-se em consideração a avaliação da equipe multidisciplinar.	RP=PxS

Fonte: Adaptado de Mendonça, 2013.

Assim, para cada perigo identificado realizou-se uma análise da severidade do mesmo, conforme tabela 3.

Tabela 3 – Critérios para avaliação da severidade do Perigo

Descrição	Definição	Valor
<b>Inaceitável</b>	Afeta diretamente a qualidade do produto	5
<b>Preocupante</b>	Afeta indiretamente a qualidade do produto	4
<b>Perigoso</b>	Afeta o produto	3
<b>Aceitável</b>	Menor impacto no produto	2
<b>Insignificante</b>	Consequências leves ao produto	1

Fonte: Adaptado de Mendonça, 2013.

Associada a severidade considerou-se a probabilidade de ocorrência qualitativa do respectivo perigo conforme tabela 4.

Tabela 4 - Critérios para a avaliação da probabilidade de ocorrência do Perigo

Descrição	Definição	Valor
<b>Frequente</b>	Provavelmente ocorrerá muitas vezes	A
<b>Provável</b>	Provavelmente ocorrerá poucas vezes	B
<b>Possível</b>	Pode ocorrer	C
<b>Improvável</b>	Provavelmente não ocorrerá	D
<b>Raro</b>	Muito provavelmente não ocorrerá	E

Fonte: Mendonça, 2013.

A multiplicação dos índices de severidade e probabilidade de ocorrência indicará o risco potencial do perigo (RP). Definiu-se a classificação do RP como risco alto, médio ou baixo conforme tabela 5.

Tabela 5 – Matriz de Risco Potencial

Probabilidade do Perigo	Severidade do Perigo				
	Inaceitável	Preocupante	Perigoso	Aceitável	Insignificante
	5	4	3	2	1
A - Frequente	<b>5A</b>	<b>4A</b>	<b>3A</b>	<b>2A</b>	<b>1A</b>
B - Provável	<b>5B</b>	<b>4B</b>	<b>3B</b>	<b>2B</b>	<b>1B</b>
C – Possível	<b>5C</b>	<b>4C</b>	<b>3C</b>	<b>2C</b>	<b>1C</b>
D - Improvável	<b>5D</b>	<b>4D</b>	<b>3D</b>	<b>2D</b>	<b>1D</b>
E - Raro	<b>5E</b>	<b>4E</b>	<b>3E</b>	<b>2E</b>	<b>1E</b>

	RISCO ALTO
	RISCO MÉDIO
	RISCO BAIXO

Fonte: Mendonça, 2013.

Conforme classificação do risco potencial da tabela 5, os atributos de qualidade que apresentavam risco alto na matriz de risco potencial os quais a causa do perigo é resultante da etapa crítica foram definidos como os Atributos Críticos de Qualidade (ACQ).

Com a identificação dos ACQ, torna-se importante conhecer a origem das não conformidades relativas ao equipamento da etapa crítica que pudessem acarretar resultados de análises de controle de qualidade dos ACQ fora da especificação do produto e, assim, influenciar a qualidade do produto.

Dessa forma, no Passo 7 realizou-se uma avaliação das falhas que o equipamento da etapa crítica possa colocar em risco os ACQ utilizando-se a ferramenta de análise de risco Estudos de Perigo e Operabilidade (HAZOP – *HAZard and OPerability study*).

A escolha do HAZOP se deve as características da ferramenta em proporcionar um exame sistemático, que direciona o estudo pela aplicação de palavras-guias sobre os desvios da intenção de operação do equipamento, suas causas, consequências e identificação de controles. Além disso, a aplicação baseando-se nas documentações de projeto do equipamento, manual de operação, diagrama de processo e diagrama de

tubulação e instrumentação que se encontram disponíveis e podem ser subdivididos (nós) para uma melhor análise dos possíveis desvios.

Para a aplicação da ferramenta utilizou-se as recomendações dos guias da *International Electrotechnical Commission IEC 61882 (2016)*.

Para tal, utilizou-se informações dos manuais de especificação técnica, desenhos técnicos, P&IDs, testes de aceitação e manuais de operação do equipamento da operação unitária crítica. O liofilizador estudado modelo Lyomax 21 do fabricante IMA possui 9 prateleiras e capacidade de produção de 360.000 doses de vacina tríplice viral por lote. Na tabela 6 se encontram descritos os componentes da metodologia que a equipe multidisciplinar preencheu.

Tabela 6 - Modelo de planilha de Análise de Perigos e Operabilidade – HAZOP

Planilha de Perigos e Operabilidade (HAZOP)									
Sistema a ser estudado do equipamento									
Identificação do nó e sua descrição.									
Parâmetro	Palavra guia	Desvios	Causas	Consequências	Salvaguardas	Grau de Severidade	Frequência	Risco	Ações e recomendações
Propriedade física, química ou associada ao processo.	Palavra chave que guia a análise do parâmetro	Combinação do parâmetro e palavra guia	Motivo pelo qual o desvio do parâmetro ocorre	Resultado das causas	Proteções existentes para que não ocorra o desvio	Classificação qualitativa da gravidade do perigo	Classificação qualitativa da gravidade do perigo	Resultado da combinação de severidade e frequência	Medidas de ações recomendadas afim de minimizar os riscos dos perigos avaliados

Fonte: Adaptado de Herrera, 2015; IEC 61882, 2016.

Como parte da metodologia, a etapa crítica foi subdividida em subunidades, denominada “nós”. Este procedimento é empregado a fim de facilitar a aplicação do método HAZOP, sendo possível obter um detalhamento das funções desempenhadas por cada componente da operação unitária estudada.

Na fase de planejamento HAZOP, deve-se propor uma lista inicial de palavras-guia a serem usadas e testá-las contra o sistema e confirmar sua adequação. A escolha das palavras-guia deve ser considerada cuidadosamente, pois uma palavra-guia que é muito específica pode limitar ideias e discussões, e uma que é muito geral pode não focalizar o estudo HAZOP de forma eficiente (IEC 61882, 2016).

A classificação dos riscos foi realizada utilizando uma matriz, onde os riscos foram enquadrados qualitativamente pelo resultado do produto entre a severidade e a frequência.

Tomando-se como base a expertise de cada membro da equipe multidisciplinar, foi possível determinar o nível de severidade para cada um dos desvios. Para determinar a frequência de ocorrência de cada um dos riscos apontados, foi utilizado o banco de dados do Passo 6, onde a média de produção do produto escolhido na janela temporal de 8 anos foi de 72 lotes ao ano.

Assim, propôs-se classificar a matriz de riscos, em cinco níveis sendo, assim, possível qualificar os riscos quanto aos critérios para a severidade conforme o grau de severidade e critérios e ao grau de frequência, de acordo com a tabela 7 e 8, respectivamente.

Tabela 7– Critérios para o Grau de Severidade HAZOP

Severidade					
Grau de Severidade	Classificação	Critério			
		Equipamento	Produto	Processo	Regulatório
1	Muito Baixa	Sem dano / sem intervenção	Não afeta qualidade / Não acarreta perda	Breve parada	Não afeta critérios regulatórios
2	Baixa	Sem dano / intervenção pequena para ajustes	Não afeta qualidade / Não acarreta perda	Breve parada	Não afeta critérios regulatórios
3	Moderada	Sem dano / intervenção para troca de peças	Não afeta qualidade / perda insignificante	Parada moderada	Não afeta critérios regulatórios / desvio
4	Alta	Dano crítico / intervenção para troca de peças	Não afeta qualidade / perda significativa	Parada demanda tempo grande / retomada da produção	Não afeta critérios regulatórios / desvio
5	Crítica	Dano severo / intervenção para troca de peças	Afeta qualidade / lote perdido	Parada sem retomada da produção	Afeta critérios regulatórios / desvio

Fonte: Adaptado de Herrera, 2015; IEC 61882, 2016.

Tabela 8 - Níveis de frequência de ocorrência de desvios por produção de lotes HAZOP

Frequência		Critério
Ocorrência	Índice	
Remota	1	Ocorre uma vez a cada 72 lotes
Pequena	2	Ocorre uma vez a cada 36 lotes
Moderada	3	Ocorre uma vez a cada 18 lotes
Alta	4	Ocorre uma vez a cada 10 lotes
Muito Alta	5	Ocorre uma vez a cada 2 lotes

Fonte: Adaptado de Herrera, 2015; IEC 61882, 2016.

Ao final da utilização da ferramenta de risco mapeou-se os riscos inerentes da operação unitária com o nível de cada risco avaliado através da utilização de matriz de riscos, como mostrada na tabela 9. Nela cruzou-se as informações do grau de severidade do risco com o seu nível de frequência.

Tabela 9 - Matriz de risco HAZOP

MATRIZ DE RISCO						
Frequência		Remota	Pequena	Moderada	Alta	Muito alta
Severidade		1	2	3	4	5
Muito Baixa	1	Insignificante	Insignificante	Insignificante	Aceitável	Não desejável
Baixa	2	Insignificante	Insignificante	Aceitável	Não desejável	Não desejável
Moderada	3	Insignificante	Aceitável	Não desejável	Não desejável	Séria
Alta	4	Aceitável	Não desejável	Não desejável	Séria	Inaceitável
Crítica	5	Aceitável	Não desejável	Séria	Inaceitável	Inaceitável

Fonte: Adaptado de Herrera, 2015; IEC 61882, 2016.

Os riscos alocados na região branca indicam que o risco é insignificante, sendo a classificação quanto a criticidade aumentada à medida que sua classificação caminha em direção à região vermelha, a qual é vinculada a necessidade de parada de produção para correção do desvio.

Na sequência da metodologia, torna-se necessário compreender como a variação dos parâmetros críticos de processo (PCP) da etapa crítica do processamento final do produto impactava os atributos críticos de qualidade.

Para tal, no Passo 8 utilizou-se a ferramenta Análise de Modo e Efeito de Falha (FMEA - *Failure Mode and Effects Analysis*). A seleção por esta ferramenta se deu por sua aplicação poder ser aplicada em qualquer fase do processo, permitindo que sejam

identificadas e analisadas todas as possibilidades de falhas, além de identificar suas causas e seus efeitos sobre o sistema que possam influenciar a qualidade do produto.

A condução do estudo teve como base as orientações do guia da *International Electrotechnical Commission IEC 60812* (2018), onde inicialmente uma equipe multidisciplinar formada por especialistas de diversas áreas devem propor o componente ou etapa a ser analisada. A planilha proposta para a ferramenta FMEA e a descrição de seus itens se encontra na tabela 10.

Tabela 10 - Modelo de planilha de Análise e Modos de Falha – FMEA

Planilha de Análise e Modos de Falha (FMEA)									
Sistema a ser estudado									
Componente	Modo de Falha	Efeito Potencial	Causa	Medida de Controle de Detecção	Severidade	Ocorrência	Detecção	NPR	Ação
Unidade avaliada do sistema	Identificado pela análise de qual característica ou função deixou de ser desenvolvida pelo sistema.	Forma pela qual o modo de falha se manifesta.	Fatores que conduziram a uma situação ou condição ocasionando um modo de falha.	Medidas preventivas com a finalidade de detecção dos modos de falha pelo próprio sistema.	Classificação qualitativa do efeito do modo de falha sobre o sistema.	Classificação qualitativa da probabilidade de ocorrência de falha.	Classificação qualitativa da capacidade de detectar um modo de falha	Resultado da combinação de severidade, ocorrência e detecção.	Medidas de ações recomendadas afim de mitigar o modo de falha.

Fonte: Adaptado de HERRERA, 2018

Em seguida, identificou-se o modo de falha, o efeito potencial, a causa potencial e a medida para controle de detecção.

Para o FMEA a severidade pode ser mensurada tendo em mente as diferentes características que podem caracterizar um nível de severidade, tais como o tempo de parada de processo, dano à infraestrutura, quesitos regulatórios, dentre outros (HERRERA, 2018).

A Severidade pode ser considerada como a intensidade do resultado de uma falha (HERRERA, 2018).

Os critérios de grau de severidade adaptado para o caso da indústria biofarmacêutica (GUPTA; SHENDE; SHAIKH, 2013) se encontram na tabela 11.

Tabela 11- Critérios para o Grau de Severidade FMEA

Planilha de Severidade FMEA		
Classificação	Índice	Definição
Catastrófico	10	Danos elevados na infraestrutura, equipamentos, processos e pessoal. O modo de falha potencial afeta a segurança da operação e/ou gera não-conformidades regulatórias. O processo deve ser interrompido até tomar ações para eliminar os perigos. Perda total do produto
Crítico	9	Danos na infraestrutura, equipamentos, processos e pessoal. O modo de falha potencial afeta a segurança da operação e/ou gera não-conformidades regulatórias. É necessário parar a operação até que os desvios sejam reduzidos
Muito Alto	8	Interrupção prolongada do processo. Grande possibilidade de afetar infraestrutura, equipamentos, processos e pessoal. Podem existir não-conformidades regulatórias
Alto	7	Possível interrupção prolongada do processo. Os danos podem afetar os processos e equipamento. Existem grandes perdas do produto
Moderado	6	Interrupção do processo. Danos moderados nos processos e/ou equipamento. Existem perdas moderadas do produto
Baixo	5	Pequena interrupção do processo, existe a possibilidade de descartar o produto. Os insumos não podem ser retrabalhados
Muito Baixo	4	Pequena interrupção do processo, uma parte dos produtos pode ser descartada. A falha pode ser detectada pelos controles
Menor	3	Pequena interrupção do processo, uma parte dos produtos pode ser reprocessada ou descartada. A falha é detectada facilmente pelos controles
Muito menor	2	Corta interrupção da produção. Uma pequena parte dos insumos ou produtos deve ser retrabalhada (quando possível), dentro da área do processo. A falha na operação é identificada por controles em processo
Nenhum	1	A falha na operação unitária não afeta a performance do processo e não prejudica o produto

Fonte: GUPTA; SHENDE; SHAIKH, 2013

A frequência ou probabilidade de eventos é a oportunidade ou probabilidade de um evento acontecer (HERRERA, 2018).

Segundo o procedimento da ferramenta FMEA sinalizado por Gupta, Shende e Shaikh (2013), a ponderação de frequência possui faixa de variação entre 1 e 1.500.000.

No entanto, para este trabalho se encontrava mapeado no banco de dados as não conformidades relativas a cada lote de produção, o número total de eventos e a frequência em que o evento ocorre. Uma vez que a quantidade de lotes produzidos no

intervalo de tempo para o estudo de caso é inferior a 1.000 lotes, a tabela 12 foi sugerida para os níveis de frequência de ocorrência com uma escala mais adequada a ser utilizada na análise FMEA desse trabalho.

Tabela 12 - Índices de frequência de ocorrência de não conformidades por produção de lotes durante avaliação do nível de risco

Níveis de Frequência de Ocorrência		
Classificação	Índice	Ocorrência
Constante	10	Ocorre a cada lote
Quase contínuo	9	Ocorre a cada 2 lotes
Muito Alta	8	Ocorre a cada 5 lotes
Alta	7	Ocorre a cada 10 lotes
Moderada Alta	6	Ocorre a cada 14 lotes
Moderada	5	Ocorre a cada 16 lotes
Moderada Baixa	4	Ocorre a cada 18 lotes
Incomum	3	Ocorre a cada 25 lotes
Remoto	2	Ocorre a cada 36 lotes
Improvável	1	Ocorre a cada 72 lotes

Fonte: Adaptado de GUPTA; SHENDE; SHAIKH, 2013

Após as análises de severidade e frequência, o Nível de Risco (NR) pode ser calculado. FITCH (2013) representou a matriz de risco considerando o produto da severidade e a frequência (S x F) conforme figura 14.

Figura 14 – Matriz de nível de risco

NR	SEVERIDADE									
FREQUÊNCIA	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30
	4	8	12	16	20	24	28	32	36	40
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
	6	12	18	24	30	36	42	48	54	60
	7	14	21	28	35	42	49	56	63	70
	8	16	24	32	40	48	56	64	72	80
	9	18	27	36	45	54	63	72	81	90
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100

	Risco Aceitável
	Risco Não Desejável
	Risco Inaceitável

Fonte: FITCH, 2013

Para riscos aceitáveis, ações podem ser consideradas após uma avaliação de custo-benefício. No caso dos riscos não desejáveis, é recomendável aplicar medidas que permitam reduzir o nível de risco até o nível aceitável. Finalmente, para os riscos inaceitáveis, medidas tem que ser tomadas imediatamente e a operação tem que ser interrompida até o tratamento das falhas (HERRERA, 2018).

A detectabilidade é a capacidade do sistema para a identificação ou controle da falha permitindo, assim uma melhor definição do nível de risco (HERRERA, 2018) e é uma característica única da ferramenta FMEA (BAHRAMI; BAZZAZ; SAJJADI, 2012).

Na tabela 13 se encontra os critérios de detectabilidade adaptado para o caso da indústria biofarmacêutica (BAHRAMI; BAZZAZ; SAJJADI, 2012) para cada modo de falha de acordo com os 10 níveis de frequência e severidade considerados neste trabalho para os níveis de frequência utilizados na análise FMEA.

Tabela 13 - Critérios para classificação quanto à detecção e índices para cada modo de falha

Planilha de Detectabilidade FMEA		
Classificação	Índice	Definição
Não é possível detectar	10	Não existe procedimento ou dispositivo para detecção da falha
Detecção muito remota	9	Modo de falha não é facilmente detectável e somente após os testes de qualidade finais no produto.
Remota	8	Detecção do modo de falha imediatamente após o término do processo.
Muito Baixa	7	Detecção do modo de falha pós processo, somente após verificação manual dos componentes do sistema imediatamente após o término do processo.
Baixa	6	Baixa possibilidade de detecção. Detecção do modo de falha pelo operador pós processo através da sua experiência e uso de instrumentos secundários.
Moderadamente Elevada	5	Moderada possibilidade de detecção durante o processo na etapa seguinte - Detecção automática (online)
Moderadamente Elevada	4	Moderadamente alta a possibilidade de detecção. Detecção do modo de falha pelo operador na estação através da sua experiência e uso de instrumentos secundários.
Elevada	3	Alta possibilidade de detecção. Detecção do modo de falha pelo operador na estação por equipamentos (controle em processo).
Muito Elevada	2	Muito alta possibilidade de detecção. Detecção do modo de falha na estação por controles automáticos com emissão de alerta.
Com certeza será detectado	1	Detecção imediata realizada pelo próprio sistema, na origem do modo de falha. Sistema de prevenção de modo de falha.

Fonte: BAHRAMI; BAZZAZ; SAJJADI, 2012.

Para todas as análises de modo de falha seguiu-se a orientação do IEC (2006), onde é sugerido que quando se está avaliando um índice, este não deverá levar em conta os demais a serem analisados, ou seja, a avaliação que determina cada índice deve ser independente do outro.

A partir da multiplicação dos índices atribuídos para a severidade (S), ocorrência (O) e detectabilidade (D) foi possível calcular e classificar o modo de falha segundo o índice de Número de Prioridade de Risco (NPR). Ações corretivas devem ser sugeridas prioritariamente para valores mais altos de NPR.

Assim, Naik (2015) propõe a escala para priorização do tratamento dos riscos levando em consideração NPR, apresentado na tabela 14.

Tabela 14 – Escala de priorização de ações para redução do NPR resultante do FMEA

Número de Prioridade de Risco (NPR)		
Intervalo de Classificação	Classificação	Ação
>300	Intolerável	Suspensão das atividades de produção. Necessárias medidas de intervenção física ou alteração na concepção do sistema.
150-300	Moderado	Medidas de ação devem ser tomadas para a redução do risco. Realização de testes adicionais para a verificação do sistema.
<150	Tolerável	Necessário ajuste de rotina das atividades ou elaboração de novos procedimentos.

Fonte: Adaptado de NAIK, 2015.

Após identificar a classificação do NPR, medidas de ações foram recomendadas a fim de mitigar o modo de falha e minimizar os riscos apontados iniciando-se pelo NPR com maior valor.

Ao final da classificação dos riscos ações ou recomendações foram propostas como forma de mitigação, baseando-se na experiência dos especialistas envolvidos e dos procedimentos realizados pela empresa para a produção e manutenção do equipamento.

Após as análises de risco, se encontravam identificados os atributos críticos de qualidade e os parâmetros críticos de processo da operação unitária mais crítica, os modos de falha no processo e as falhas no equipamento as quais pudessem influenciar a qualidade do produto.

De modo a se realizar uma análise de experimentos no Passo 9 utilizando-se o banco de dados. Primeiramente, realizou-se as correlações estatísticas entre os parâmetros críticos de processo e os atributos críticos de qualidade do histórico de produção dos lotes sem que houvesse não conformidades. Para tal, aplicou-se a

análise estatística descritiva nos atributos críticos de qualidade umidade residual, potência e termoestabilidade e para o rendimento objetivando uma avaliação do comportamento dos resultados de análise de qualidade quanto a aderência à normalidade e a presença de resultados extremos.

Em seguida, utilizando-se as recomendações para as medidas de ação para a redução do risco ou testes adicionais para a verificação do sistema advindos da análise de risco FMEA e dos resultados estatísticos do histórico dos lotes, experimentos baseados em hipóteses foram propostos para uma comparação estatística.

A primeira hipótese se baseava em um congelamento não homogêneo do produto durante a etapa de congelamento. Nesse experimento dois parâmetros críticos de processo foram alterados. A segunda e terceira hipóteses se baseavam no comportamento da pressão da câmara do liofilizador durante as etapas do ciclo de liofilização de secagem primária e secundária, respectivamente.

Uma vez que cada lote produzido possuía seus respectivos resultados analíticos e de rendimento, cada fator (ou parâmetro crítico de processo) pôde ser comparado ao seu histórico de operação com um novo nível de operação proposto, de forma a se verificar se os novos parâmetros críticos de processo pretendidos proporcionam alteração nos atributos críticos de qualidade e, se a alteração realizada, possuía significância estatística.

Com as relações estabelecidas e a significância dos experimentos realizados, a metodologia finalizou no Passo 10 com a proposta de um espaço de projeto do produto (DS - *Design Space*) para a etapa crítica.

Assim, utilizou-se o Software Statistica 10.0 (Statsoft, Kraków, Polska) de forma a se estabelecer os limites dos parâmetros críticos de processo da etapa crítica em relação aos atributos críticos de qualidade para a vacina com o respectivo rendimento.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos/Fiocruz), possui autossuficiência na produção de vacinas essenciais para o calendário básico de imunizações do Ministério da Saúde, inclusive com reconhecimento internacional como fabricante da vacina antiamarílica. Seu portfólio é composto de 10 produtos entre as vacinas virais e bacterianas.

Para a escolha do produto alvo deste estudo, foram utilizadas as premissas que o produto em sua forma final ao consumidor deveria estar liofilizado, sua introdução no mercado tivesse ocorrido a mais de cinco anos, que houvesse uma representatividade de lotes fabricados para uma análise estatística, que possuísse rendimentos de lote abaixo do esperado pelo fabricante e a relevância para a população através da vacinação preventiva.

Assim, escolheu-se como estudo de caso a vacina tríplice viral composta dos ingredientes ativos farmacêuticos vírus de sarampo, de caxumba e rubéola atenuados e veiculados em um meio estéril, destinado à aplicação por via intramuscular ou subcutânea.

O sarampo é uma doença infecciosa exantemática aguda, transmissível e extremamente contagiosa, podendo evoluir com complicações e óbitos, particularmente em crianças desnutridas e menores de um ano de idade. Em 2016, o Brasil recebeu o certificado de eliminação da circulação do vírus do sarampo pela OMS, declarando a região das Américas livre do sarampo. No entanto, devido à atual situação sociopolítica econômica enfrentada pela Venezuela desde julho de 2017 um surto de sarampo devido ao intenso movimento migratório que contribuiu para a propagação do vírus para outras áreas geográficas do Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2018).

A rubéola é uma doença exantemática aguda, de etiologia viral, que apresenta alta contagiosidade. A doença é de curso benigno e sua importância epidemiológica está relacionada ao risco de abortos, natimortos e à síndrome da rubéola congênita (SRC). Esta síndrome é caracterizada pela malformação congênita de grandes órgãos e sistemas, de forma isolada ou conjunta (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

A caxumba é uma infecção viral aguda e contagiosa. Pode atingir qualquer tecido glandular e nervoso do corpo humano, mas é mais comum afetar as glândulas parótidas, que produzem a saliva, ou as submandibulares e sublinguais, próximas ao ouvido. A caxumba, também conhecida como Papeira, é uma doença de distribuição universal, de alta morbidade e baixa letalidade, aparecendo sob a forma endêmica ou surtos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

A administração simultânea dos três componentes virais da vacina é tão eficaz (>95%) quanto o uso de cada um isoladamente com a vantagem de reduzir o número de aplicações.

Os concentrados virais monovalentes de rubéola, sarampo e caxumba são misturados juntamente com volumes apropriados de excipientes e estabilizadores. A vacina trivalente formulada é, então, envasada e liofilizada. Seus frascos são selados e 100% inspecionados quanto as suas características cosméticas e análises físico-químicas e biológicas são realizadas pelo Controle de Qualidade atestando a qualidade final da vacina.

A apresentação da vacina em cada frasco é de 10 doses e possui imunizante para ser reconstituído com diluente específico para a imunização de 10 pessoas.

Adicionalmente as premissas apresentadas, vale ressaltar que a vacina se encontra em produção e comercialização no Brasil a mais de 10 anos, portanto, possui uma quantidade de lotes representativa para a formação de um banco de dados e com informações disponíveis e rastreáveis.

O processamento final dessa vacina possui capacidade de realizar o envase de 360.000 doses de vacina por lote de acordo com tamanho dos frascos e a capacidade do equipamento de liofilização.

Este trabalho, então, se propôs a realizar um estudo de caso, utilizando a vacina tríplice viral para a aplicação de uma metodologia de QbD reversa onde seus resultados serão apresentados em seguida.

#### 4.1 Resultados das etapas de suporte

Para o Perfil de Qualidade Alvo do Produto (QTPP) do Passo 2, as informações foram resgatadas do memento terapêutico do produto que é enviado junto à sua distribuição para o mercado público nacional assim como o mapeamento das informações de logística, aspectos técnicos, comerciais, clínicos, e de processo que se encontram disponíveis pelo produtor e reunidas conforme o modelo de documento da tabela 15.

Tabela 15- Modelo de Perfil do Produto

Perfil de Qualidade Alvo do Produto	
Nome do Produto	Vacina Liofilizada com três vírus atenuados
Tipo de Dosagem	0,5 ml / dose
Apresentação	Frasco-Ampola de vidro âmbar com 10 doses + Ampola de vidro de 5,0mL de diluente em cartuchos com 10 e 20 frascos
Via de administração	Uso Subcutâneo
Forma Farmacêutica	Pó liofilizado injetável
Composição	Cada dose de 0,5mL da vacina reconstituída contém: - No mínimo 1.000CCID50 do vírus 1 - No mínimo 5.000CCID50 do vírus 2 e no mínimo 1.000CCID50 do vírus 3. Excipientes: Albumina humana, lactose, sorbitol, manitol, sulfato de neomicina e aminoácidos. Diluente: Água para injeção.
Características Farmacológicas	A vacina é uma preparação mista liofilizada das cepas de vírus atenuados e, separadamente obtidas por propagação em células diplóides humanas MRC5 ou em culturas de tecido de embrião de galinha. É indicada para imunização contra três tipos de vírus bem como para a prevenção de suas complicações para todas as crianças a partir de 12 meses de idade. Não há registro de eventos adversos em indivíduos que já apresentam imunidade contra as doenças causadas pelos vírus que a compõem.
Tecnologia	Banco de Células / Processamento Final
Embalagem Primária	Frasco
Transporte	Caminhões refrigerados
Estocagem	<b>Antes da Reconstituição:</b> Armazenar entre 2°C e 8°C e protegida da luz. A vacina liofilizada não é afetada pelo congelamento. <b>Após Reconstituição:</b> A vacina reconstituída deve ser armazenada ao abrigo da luz e em temperaturas comprovadamente entre 2°C e 8°C. Prazo de Validade desde que mantida sob refrigeração é de 24 meses, a partir da data de fabricação. Após reconstituição a vacina terá validade de 8 horas.
Manuseio	Profissional de Saúde
Diluente	Água para injeção
Mercado	Nacional

Fonte: Adaptado de Bio-Manguinhos, 2014.

Conforme a tabela 15, as informações do produto comercial foram resgatadas de forma a se reunir as características de qualidade do produto conforme preconizado pelo ICH Q8 (R2).

Uma vez que o produto já existe no mercado, os atributos de qualidade e as especificações que devem ser atingidas no produto final se encontram estabelecidos pelo fabricante desde 2004 e são testados a cada lote pelo Controle de Qualidade da empresa. Na tabela 16 os atributos de qualidade do produto em pauta são listados, assim como suas especificações.

Tabela 16 – Atributos de Qualidade do produto de estudo

Atributo de Qualidade	Especificação	Referência
Deteção de Sulfato	< 25 µg/dose	Farmacopéia Brasileira
Umidade Residual	≤ 2,5%	Farmacopéia Brasileira
Aspecto	Pastilha móvel inteiriça de coloração alaranjada.	Farmacopéia Brasileira
pH	6,5 a 7,5	Farmacopéia Brasileira
Esterilidade	Ausência de crescimento bacteriano ou fúngico	Farmacopéia Brasileira
Identidade – Ingrediente Farmacêutico Ativo 1	Positivo	Farmacopéia Brasileira
Identidade – Ingrediente Farmacêutico Ativo 2	Positivo	Farmacopéia Brasileira
Identidade – Ingrediente Farmacêutico Ativo 3	Positivo	Farmacopéia Brasileira
Potência – Ingrediente Farmacêutico Ativo 1	≥ 3,7 Log 10CCID50/DH	Farmacopéia Brasileira
Potência - Ingrediente Farmacêutico Ativo 2	≥ 3,0 Log 10CCID50/DH	Farmacopéia Brasileira
Potência - Ingrediente Farmacêutico Ativo 3	≥ 3,0 Log 10CCID50/DH	Farmacopéia Brasileira
Termoestabilidade - Ingrediente Farmacêutico Ativo 1	≥ 3,7 Log 10CCID50/DH	Farmacopéia Brasileira
Termoestabilidade - Ingrediente Farmacêutico Ativo 2	≥ 3,0 Log 10CCID50/DH	Farmacopéia Brasileira
Termoestabilidade - Ingrediente Farmacêutico Ativo 3	≥ 3,0 Log 10CCID50/DH	Farmacopéia Brasileira
Toxicidade Inespecífica	Satisfatório se os animais permanecerem sadios e tiverem ganho de peso	Farmacopéia Brasileira

Fonte: Especificação de análises do produto final do produtor.

Verifica-se na tabela 16, nove atributos de qualidade farmacopeicos para a liberação do produto ao mercado e, como consequência da sua origem biológica, grande parte estão relacionados a identificação e valores mínimos a serem atingidos para a qualidade e eficácia de utilização.

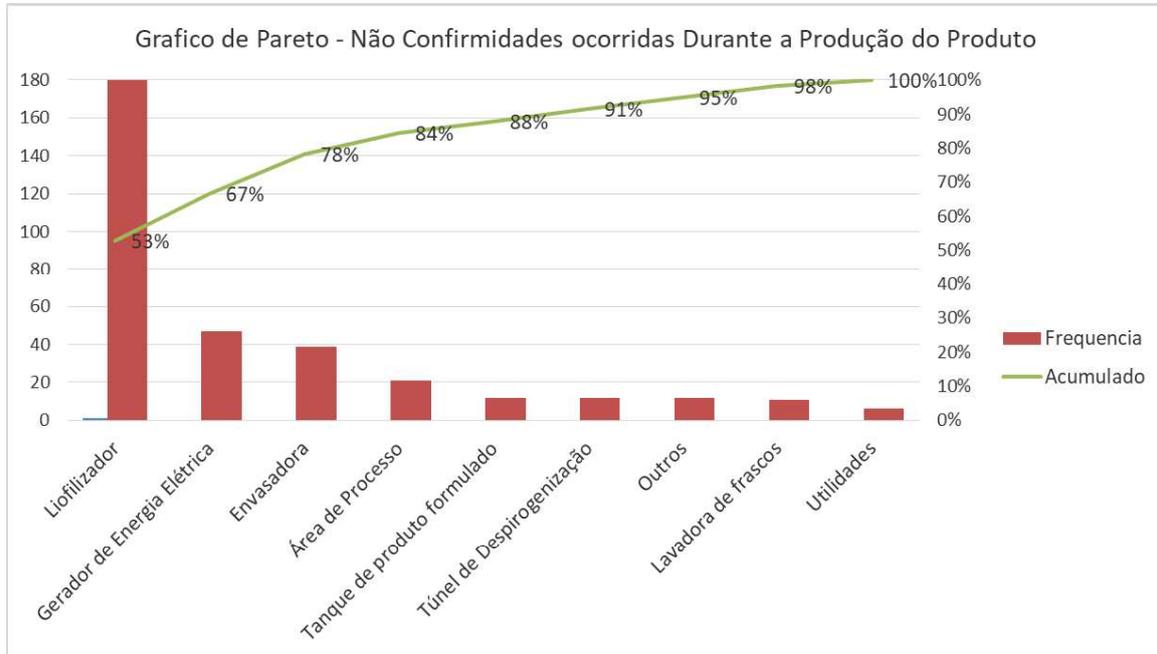
Os resultados dos atributos de qualidade de cada lote foram base para montar o banco de dados e, posteriormente através de análise de risco, definir os atributos críticos de qualidade para o produto que possam ser influenciados pela etapa mais crítica dentro do processamento final de produção.

Para a formação do banco de dados, realizou-se o levantamento das informações em dossiês de produção da vacina tríplice viral no período de 2011 a 2019. Nesse período, 576 lotes foram produzidos.

Organizou-se as informações conforme o número do lote, o respectivo rendimento global, isto é, a quantidade de vacina envasada e efetivamente aprovada para comercialização, e as observações pertinentes a não conformidades ocorridas durante as etapas de produção. Adicionalmente, coletou-se os resultados de controle de qualidade por lote (atributos de qualidade) utilizando-se como o sistema interno da empresa onde os laudos das análises são disponibilizados.

Uma vez que a metodologia de QbD reversa aqui proposta irá se basear em conhecer novos limites de operação da operação unitária de liofilização e de forma a se assegurar que essa operação é a mais crítica para o produto em estudo realizou-se, então, a análise de Pareto com as etapas de processamento final e suas respectivas não conformidades durante a produção dos lotes na janela temporal proposta (Figura 15).

Figura 15 - Gráfico de Pareto com as causas de não conformidades



Fonte: Autor.

A análise dos dados compilados na figura 15, demonstram que a etapa de liofilização realmente foi responsável por mais da metade das não conformidades (53%) durante o processamento final do produto escolhido.

#### 4.2 Atributos críticos de qualidade

De forma a elencar os atributos críticos de qualidade os quais possam ser influenciados pela operação de liofilização, utilizou-se a ferramenta de risco Análise Preliminar de Riscos (PHA). A ferramenta possibilita indicar potenciais perigos, suas prováveis causas, seus efeitos e a forma de detecção do perigo. Assim, os atributos de qualidade da vacina foram discutidos em diferentes reuniões com uma equipe multidisciplinar para elencar os potenciais perigos e efeitos nos atributos de qualidade do produto em função da operação unitária de liofilização.

Na tabela 17, os resultados da avaliação de risco PHA são demonstrados com foco na operação de liofilização, que a partir da análise de Pareto foi confirmada como a etapa mais crítica.

Tabela 17 - Planilha de Riscos PHA

Atributo de Qualidade		Perigo	Causa	Detecção	Efeito	Sev.	Probab.	RP
1	Detecção de Sulfato	Quantidade de sulfato fora da faixa preconizada.	Falha no processo de formulação	Teste final do produto	Reações adversas (vermelhidão, "rash" cutâneo, coceira e inchaço).	3	E	3E
		Utilização de matéria-prima expirada	Falha no gerenciamento de matéria-prima			3	E	3E
2	Determinação da Umidade Residual	<b>Desvio na liofilização</b> , formulação, envase ou inspeção.	Falha no processamento final		Favorece a ação enzimática de degradação do produto diminuído o seu tempo de prateleira.	5	C	5C
		Falha da câmara fria de armazenagem	Falha na cadeia de frio		Pode indicar degradação ou deterioração do IFA ou presença de partículas.	3	C	3C
3	Determinação do Aspecto	<b>Desvio na liofilização</b> , formulação, envase ou inspeção.	Falha no processamento final					
		Falha da câmara fria de armazenagem	Falha na cadeia de frio					
4	Determinação do pH	Desvio na etapa de formulação, envase ou inspeção.	Falha no processamento final		Presença de crescimento bacteriano ou fúngico	5	E	5E
		Falha da câmara fria de armazenagem	Falha na cadeia de frio					
5	Esterilidade	Desvio na etapa de formulação, envase, recravação ou inspeção.	Falha no processamento final		Não confirmação da presença do IFA no produto	5	E	5E
6	Identidade IFA 1	Erro humano na utilização de matéria-prima	Falha na formulação		Não confirmação da presença do IFA no produto	5	E	5E
7	Identidade IFA 2	Erro humano na utilização de matéria-prima	Falha na formulação		Não confirmação da presença do IFA no produto	5	E	5E
8	Identidade IFA 3	Erro humano na utilização de matéria-prima	Falha na formulação		Não confirmação da presença do IFA no produto	5	E	5E
9	Potência IFA 1	<b>Desvio na liofilização</b> , formulação, envase ou inspeção.	Falha no processamento final		Ineficácia do produto	5	C	5C
		Falha da câmara fria de armazenagem	Falha na cadeia de frio					
10	Termoestabilidade IFA 1	<b>Desvio na liofilização</b> , formulação, envase ou inspeção.	Falha no processamento final		Ineficácia do produto	5	C	5C
		Falha da câmara fria de armazenagem	Falha na cadeia de frio					
11	Potência IFA 2	<b>Desvio na liofilização</b> , formulação, envase ou inspeção.	Falha no processamento final	Ineficácia do produto	5	C	5C	
		Falha da câmara fria de armazenagem	Falha na cadeia de frio					
12	Termoestabilidade IFA 2	<b>Desvio na liofilização</b> , formulação, envase ou inspeção.	Falha no processamento final	Ineficácia do produto	5	C	5C	
		Falha da câmara fria de armazenagem	Falha na cadeia de frio					
13	Potência - IFA 3	<b>Desvio na liofilização</b> , formulação, envase ou inspeção.	Falha no processamento final	Ineficácia do produto.	5	C	5C	
		Falha da câmara fria de armazenagem	Falha na cadeia de frio					
14	Termoestabilidade IFA 3	<b>Desvio na liofilização</b> , formulação, envase ou inspeção.	Falha no processamento final	Ineficácia do produto	5	C	5C	
		Falha da câmara fria de armazenagem	Falha na cadeia de frio					
15	Toxicidade Inespecífica	Desvio na formulação, envase ou inspeção.	Falha na formulação	Produto tóxico	5	E	5E	

RP – Risco Potencial

Fonte: Autor.

O racional da tabela 17 leva em consideração o perigo potencial de que um evento indesejável possa ocorrer para cada atributo de qualidade, a causa raiz deste perigo, a(s) maneira(s) de detecção se o perigo ocorrer e o efeito que pode ser ocasionado ao produto.

De forma mensurar a severidade e probabilidade do potencial perigo foram realizadas reuniões com equipe multidisciplinar onde a experiência dos membros é fundamental para este tipo de análise preliminar.

A equipe multidisciplinar foi formada por representantes da produção, engenharia, qualidade e controle de qualidade com experiência comprovada neste tipo de produto e processo.

Os atributos de qualidade com o mesmo Risco Potencial então foram agrupados e o seu resultado indicado na planilha de risco conforme tabela 18.

Tabela 18- Resultados da análise de PHA

Probabilidade do Perigo	Severidade do Perigo				
	Inaceitável 5	Preocupante 4	Perigoso 3	Aceitável 2	Insignificante 1
A - Frequente	5A	4A	3A	2A	1A
B - Provável	5B	4B	3B	2B	1B
C - Possível	2 5C 9-14	4C	3C 3 4	2C	1C
D - Improvável	5D	4D	3D	2D	1D
E - Raro	5 15 5E 6-8	4E	3E 1	2E	1E

	RISCO ALTO
	RISCO MÉDIO
	RISCO BAIXO

Fonte: Autor.

Verifica-se na tabela 18 a existência de atributos de qualidade com risco baixo, médio e alto. Alguns atributos de qualidade não são afetados pela operação unitária de liofilização e outros possuem uma probabilidade rara de ocorrer, isto é, apresentam um risco baixo. Os atributos de qualidade os quais são afetados pela operação de liofilização com riscos médio e alto estão fora do apetite de risco

declarado pela empresa e devem, portanto, serem tratados para não se tornarem recorrentes. Estes atributos serão considerados como os atributos críticos de qualidade e se encontram identificados na tabela 19.

Tabela 19 - Atributos de Qualidade que podem ser influenciados pela operação de liofilização

Atributo de Qualidade	Afetado Pela Operação de Liofilização?	Risco Potencial (RP)	Atributo Crítico de Qualidade?
Sulfato	Não	3E	Não
<b>Umidade Residual</b>	<b>Sim</b>	<b>5C</b>	<b>Sim</b>
<b>Aspecto</b>	<b>Sim</b>	<b>3C</b>	<b>Sim</b>
pH	Não	3C	Não
Esterilidade	Não	5E	Não
Identidade – IFA 1	Não	5E	Não
Identidade – IFA 2	Não	5E	Não
Identidade – IFA 3	Não	5E	Não
<b>Potência – IFA 1</b>	<b>Sim</b>	<b>5C</b>	<b>Sim</b>
<b>Potência - IFA 2</b>	<b>Sim</b>	<b>5C</b>	<b>Sim</b>
<b>Potência - IFA 3</b>	<b>Sim</b>	<b>5C</b>	<b>Sim</b>
<b>Termoestabilidade - IFA 1</b>	<b>Sim</b>	<b>5C</b>	<b>Sim</b>
<b>Termoestabilidade - IFA 2</b>	<b>Sim</b>	<b>5C</b>	<b>Sim</b>
<b>Termoestabilidade - IFA 3</b>	<b>Sim</b>	<b>5C</b>	<b>Sim</b>
Toxicidade Inespecífica	Não	5E	Não

Fonte: Autor.

Como resultado da análise de PHA, identificou-se na tabela 19 que dos quinze atributos de qualidade para a vacina, 53% podem ser influenciados por variabilidades da operação de liofilização.

Assim, os atributos de qualidade que resultaram em um risco potencial médio ou alto foram considerados como atributo crítico de qualidade para a vacina.

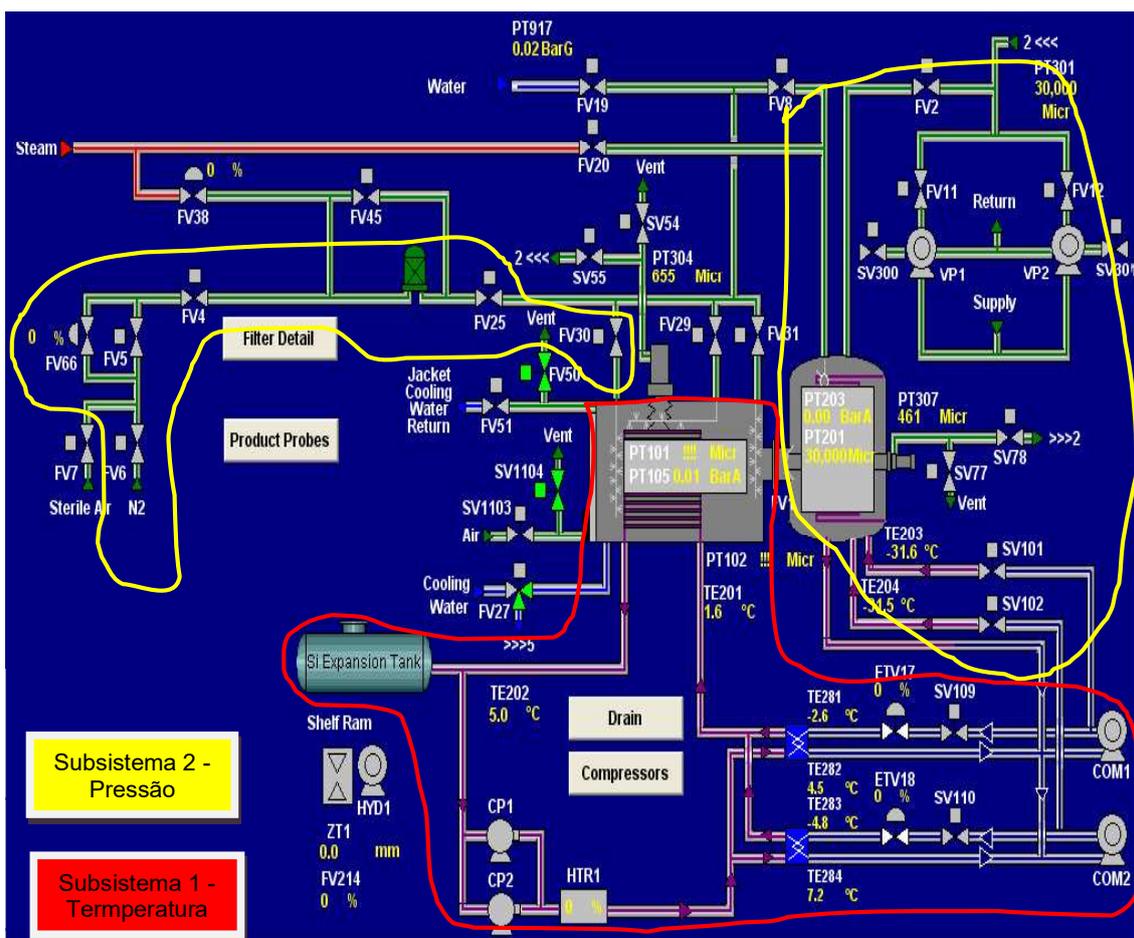
Com a identificação dos ACQ, torna-se importante compreender quais os riscos de não se obter as faixas preconizadas em cada ACQ. A causa raiz são falhas no equipamento de liofilização que causam variação dos parâmetros críticos do processo e conseqüentemente na qualidade final da vacina.

De forma a se conhecer as causas e conseqüências da falha do equipamento de liofilização foi empregada a metodologia Estudos de Perigo e Operabilidade (*HAZard and OPerability study* – HAZOP) a seguir.

#### 4.4 Análise de risco HAZOP da operação unitária crítica

De forma a se conhecer as causas e consequências da falha do equipamento de liofilização foi empregada a metodologia Estudos de Perigo e Operabilidade (*HAZard and OPerability study* – HAZOP). Para aplicar a metodologia HAZOP é importante salientar as diferentes partes do equipamento, assim sendo, o liofilizador foi dividido em dois subsistemas, o primeiro relativo à transferência térmica das prateleiras do equipamento e o segundo ao controle de pressão da câmara do equipamento de liofilização. Cada subsistema foi subdividido em funções, denominadas “nós” de modo a facilitar a análise dos componentes que constituem cada circuito (Figura 16).

Figura 16 - Subsistemas no diagrama de operação do liofilizador industrial



Fonte: Adaptado de *Operating Manual Lyomax 21 Industrial Freeze Drying System*, 2008.

O subsistema 1 é composto pelos trocadores HX-1 e HX-2, compressores COM1 e COM2, válvulas proporcionais ETV17 e ETV18, bombas CP1 ou CP2, aquecedor elétrico HTR1, tanque de silicone SI EXPANSION TANK e sensor de temperatura TE201 localizado na entrada do fluido de silicone para a câmara do liofilizador.

Os trocadores HX-1 e HX-2 são responsáveis pela troca térmica entre o fluido de silicone que circula nas prateleiras para troca energética entre a prateleira do equipamento e o produto e o gás resultante da expansão térmica oriundo dos compressores COM1 e COM2.

O gás após expansão pelas válvulas proporcionais ETV17 e ETV18 circulam pelos trocadores de calor HX-1 e HX-2 de modo a resfriar o fluido de silicone. O fluido de silicone se encontra em um circuito fechado onde é bombeado por uma das bombas CP1 ou CP2, atravessa um aquecedor elétrico, percorre os trocadores de calor e é admitido nas prateleiras do equipamento que se encontra carregado com o produto a ser liofilizado retornando para as bombas novamente. Um tanque de silicone é conectado a linha de silicone de forma a manter a quantidade de fluido na tubulação devido à expansão ou retração no silicone ocasionado pela temperatura. O gás utilizado para a troca térmica retorna aos compressores de origem. O fluido de silicone e o gás de expansão utilizado para a troca térmica no trocador de calor possuem circuitos fechados e independentes. A temperatura de entrada do fluido nas prateleiras é medida pelo sensor TE201 que envia a informação para o Controle Lógico Programável (CLP) do liofilizador que, ao comparar com o set-point de temperatura no ciclo de liofilização, altera a abertura das válvulas de expansão e liga ou desliga o aquecedor de modo a se obter uma variação de  $\pm 1,5^{\circ}\text{C}$  no sensor TE201.

O subsistema 2 é composto pelas válvulas FV4, FV5, FV6, FV25, FV29, FV66 e filtro para a admissão do nitrogênio, de um grupo de vácuo formado por duas bombas de vácuo VP1 e VP2 e as válvulas SV300, SV 301, FV1, FV2, FV11 e FV12, sensor de pressão PT101 localizado na câmara do liofilizador e o condensador do equipamento e respectivas válvulas de expansão SV101 e SV102.

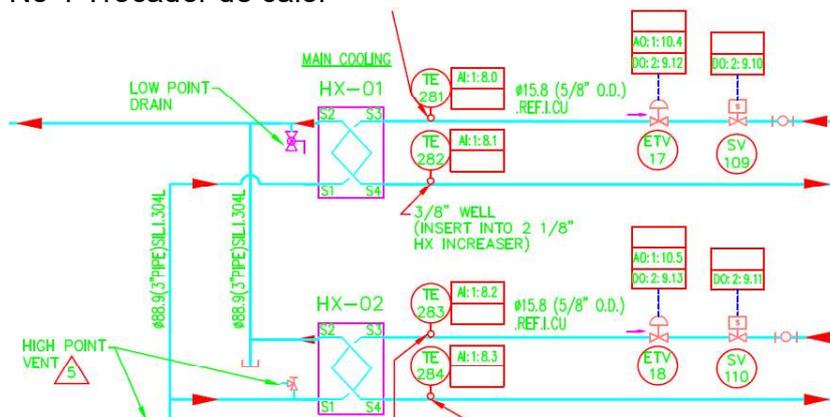
A partir da medição da pressão na câmara do liofilizador pelo sensor PT101, o CLP compara com o valor de *setpoint* do ciclo de liofilização e atua na válvula proporcional FV66 de modo a permitir uma maior ou menor entrada de gás inerte na câmara. O controle segue pelas fases de secagem com variação de +/- 5µHg.

#### 4.4.1 Seleção de nós do sistema 1

##### 4.4.1.1 Nó 1 – Trocadores de Calor

O primeiro nó de estudo para análise HAZOP do liofilizador serão os trocadores de calor HX-1 e HX-2 constituídos por duas válvulas proporcionais derivativas ETV 17 e ETV 18 além de monitores de temperatura TE 281, TE 282, TE 283 e TE284, conforme figura 17. Os trocadores são responsáveis pela troca térmica entre o fluido de silicone que circula nas prateleiras para troca energética entre a prateleira do equipamento e o produto e o gás resultante da expansão térmica oriundo dos compressores COM1 e COM2.

Figura 17 - Nó 1 Trocador de calor



Fonte: *Operating Manual Lyomax 21 Industrial Freeze Drying System*, 2008.

Os parâmetros escolhidos para análise HAZOP do Nó 1 foram a pressão, vazão e temperatura. Variações nesses parâmetros podem afetar a temperatura das prateleiras do liofilizador e conseqüentemente modificar a temperatura do produto durante o ciclo de liofilização.

A tabela 20 demonstra os resultados da análise HAZOP dos três parâmetros avaliados para o nó 1.

Tabela 20 - Resultados da análise HAZOP do sistema 1 - Nó 1

Subsistema 1 - Circuito Térmico								
Nó 1- Trocadores de calor HX-1 e HX-02: Os trocadores de calor são utilizados para a troca térmica entre o circuito fechado do fluido de silicone e o circuito fechado de gás de refrigeração proveniente dos compressores COM1 e COM2.								
Parâmetro	Palavra guia	Causas	Consequência	Salvaguardas	Sev.	Freq.	Risco	Ações e recomendações
Pressão	Maior	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Avarias na tubulação de líquido ou gás dos circuitos fechados</li> <li>- Falta de líquido circuito de silicone</li> <li>- Falta de gás circuito de refrigeração</li> <li>- Falhas nas bombas CP1 ou CP2</li> <li>- Baixo rendimento COM 1 e COM 2</li> <li>- Falha nas válvulas de expansão</li> </ul>	Troca térmica entre fluidos insuficiente no HX-01 ou HX-02	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sensores de temperatura TE281, TE282, TE283, TE 284.</li> <li>- Funcionamento da segunda bomba de circulação</li> <li>- Visualização no painel sinótico.</li> <li>- Alarme sonoro e visual.</li> </ul>	5	2	10	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Inspeção visual do nível de silicone rotineiramente</li> <li>- Verificação de componentes e inspeção visual do nível de gás nos compressores COM 1 e COM 2 no Plano Mestre de Manutenção</li> <li>- Verificação do tempo de vida útil das bombas e válvulas de expansão e manutenção preventiva</li> <li>- Procedimento de verificação de abertura de válvulas</li> </ul>
	Menor	Falha nos sensores de temperatura TE281, TE282, TE283, TE 284 do circuito de refrigeração		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Visualização no painel sinótico.</li> <li>- Alarme sonoro e visual.</li> </ul>	5	1	5	Qualificação de sensores e verificação do tempo de vida útil a ser considerado no Plano Mestre de Manutenção
Vazão	Menor	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Avarias na tubulação de líquido ou gás</li> <li>- Falta de líquido circuito de silicone</li> <li>- Falta de gás circuito de refrigeração</li> <li>- Falha nos sensores de temperatura TE281, TE282, TE283, TE 284 do circuito de refrigeração</li> <li>- Falhas nas bombas CP1 e CP2</li> <li>- Baixo rendimento COM 1 e COM 2</li> <li>- Falha nas válvulas de expansão</li> </ul>	Troca térmica entre fluidos insuficiente no HX-01 ou HX-02	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sensores de temperatura TE281, TE282, TE283, TE 284.</li> <li>- Funcionamento da segunda bomba de circulação</li> <li>- Visualização no painel sinótico.</li> <li>- Alarme sonoro e visual.</li> </ul>	5	2	10	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Inspeção visual do nível de silicone rotineiramente</li> <li>- Verificação de componentes e inspeção visual do nível de gás nos compressores COM 1 e COM 2 no Plano Mestre de Manutenção</li> <li>- Verificação do tempo de vida útil das bombas e manutenção preventiva a ser considerado no Plano Mestre de Manutenção</li> <li>- Verificação do tempo de vida útil das válvulas de expansão</li> <li>- Procedimento de verificação de abertura de válvulas</li> <li>- Qualificação de sensores e verificação do tempo de vida útil</li> </ul>
Temperatura	Maior	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Avarias na tubulação de líquido ou gás dos circuitos fechados</li> <li>- Falta de líquido circuito de silicone</li> <li>- Falhas nas bombas CP1 e CP2</li> <li>- Falha nos sensores de temperatura TE281, TE282, TE283, TE 284 do circuito de refrigeração</li> </ul>	Troca térmica insuficiente no HX-01 ou HX-02	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sensores de temperatura TE281, TE282, TE283, TE 284.</li> <li>- Funcionamento da segunda bomba de circulação</li> <li>- Visualização no painel sinótico.</li> <li>- Alarme sonoro e visual.</li> </ul>	5	2	10	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Inspeção visual do equipamento a ser considerado no Plano Mestre de Manutenção</li> <li>- Inspeção visual do nível de silicone no tanque de silicone a ser considerado no Plano Mestre de Manutenção</li> </ul>
	Menor	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Falta de gás circuito de refrigeração</li> <li>- Falha nas válvulas de expansão do gás do circuito de refrigeração</li> <li>- Baixo rendimento COM 1 e COM 2</li> <li>- Falta de líquido circuito de silicone</li> <li>- Avarias na tubulação de líquido ou gás dos circuitos fechados</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sensores de temperatura TE281, TE282, TE283, TE 284.</li> <li>- Funcionamento da segunda bomba de circulação</li> <li>- Visualização no painel sinótico.</li> <li>- Funcionamento da segunda bomba de circulação.</li> <li>- Alarme sonoro e visual.</li> </ul>	5	2	10	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Inspeção visual do nível de gás e componentes nos compressores COM 1 e COM 2 a no Plano Mestre de Manutenção</li> <li>- Qualificação de sensores e verificação do tempo de vida útil no Plano Mestre de Manutenção</li> </ul>

Fonte: Autor

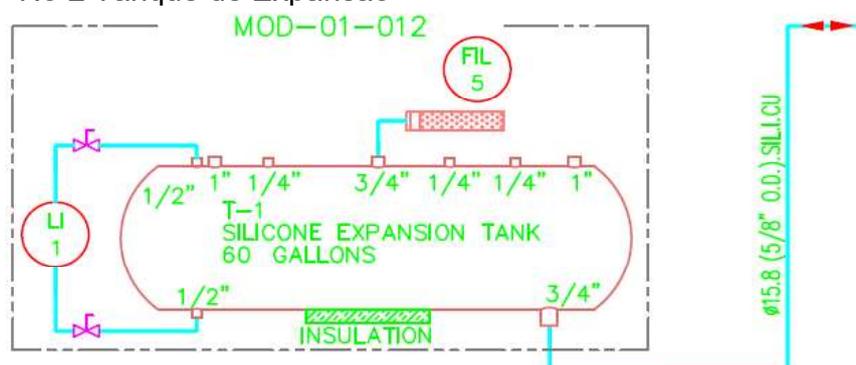
A tabela 20 demonstra um número de risco 10 para os desvios de temperatura e pressão quando esses parâmetros se encontram acima do *setpoint* (palavra-guia Maior). Para desvios abaixo do *setpoint* (palavra-guia Menor), os resultados para os parâmetros temperatura e vazão apresentou número de risco 10 e para a pressão número de risco 5.

#### 4.4.1.2 Nó 2 – Tanque de Expansão

O segundo nó de estudo será o tanque de expansão da figura 18. O tanque é utilizado para armazenar e manter o nível de silicone que passará por dentro das prateleiras localizada na câmara do liofilizador com a função de troca térmica com produto, mantendo as condições estipuladas no ciclo de liofilização.

O tanque de expansão de silicone é composto por um visor L1 para verificação visual do nível de silicone e de um filtro de sílica FIL5 para impedir a entrada de umidade no tanque.

Figura 18 - Nó 2 Tanque de Expansão



Fonte: *Operating Manual Lyomax 21 Industrial Freeze Drying System*, 2008

O parâmetro escolhido para análise HAZOP do Nó 2 foi o nível do tanque. Variações nesse parâmetro pode afetar a temperatura das prateleiras do liofilizador e conseqüentemente modificar a temperatura do produto durante o ciclo de liofilização.

A tabela 21 demonstra os resultados da análise HAZOP do parâmetro avaliado para o nó 2.

Tabela 21 - Resultados da análise HAZOP do sistema 1 - Nó 2

Subsistema 1 - Circuito Térmico								
Nó 2 - Tanque de expansão de silicone: O tanque é utilizado para armazenar o silicone que passará por dentro das prateleiras localizada na câmara do liofilizador com a função de troca térmica com produto, mantendo as condições estipuladas no ciclo de liofilização. Ele também é necessário para manter o nível de silicone dentro do sistema térmico do liofilizador.								
Parâmetro	Palavra guia	Causas	Consequência	Salvaguardas	Sev.	Freq.	Risco	Ações e recomendações
Nível	Maior	Quantidade de silicone superior a permitida no tanque	- Transbordamento de silicone do tanque	- Indicador de nível de silicone no tanque	4	1	4	Inspeção visual do nível de silicone no tanque
		Entrada de umidade no tanque	- Contaminação do fluido de silicone	- Alarme sonoro e visual.				
	Menor	Quantidade de silicone inferior a mínima no tanque	Troca térmica insuficiente	- Indicador de nível de silicone no tanque	4	1	4	Inspeção visual do nível de silicone no tanque

Fonte: Autor.

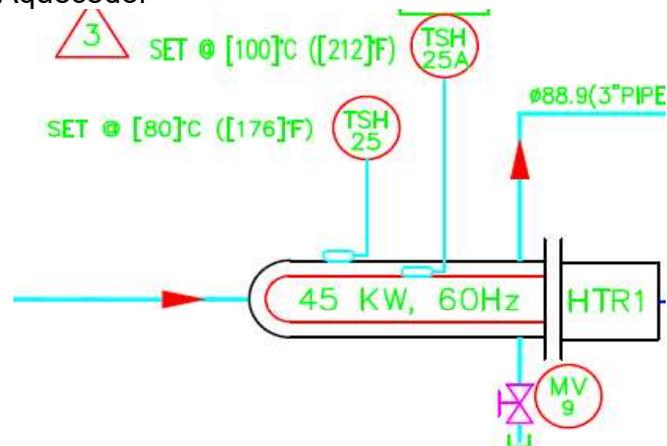
A tabela 21 demonstra um número de risco 4 para os desvios do nível do tanque quando esse parâmetro se encontra acima ou abaixo do *setpoint*.

Como o nó 2 faz parte de um conjunto integrado do equipamento algumas salvaguardas são medidas indiretamente como sensores de temperatura TE281, TE282, TE283, TE 284, iniciação automática da segunda bomba de circulação que auxiliam a tomada de decisão em caso de desvio no parâmetro.

#### 4.4.1.3 Nó 3 – Aquecedor

O aquecedor do fluido de silicone possui forma cilíndrica o qual em seu interior percorre o fluido de silicone e na sua parte externa possui diversos elementos de aquecimento elétricos controlado por um módulo de aquecimento (figura 19). Dois switches térmicos de segurança estão presentes de forma a evitar o superaquecimento do fluido de silicone.

Figura 19 - Nó 3 Aquecedor



Fonte: *Operating Manual Lyomax 21 Industrial Freeze Drying System*, 2008

O parâmetro escolhido para análise HAZOP do Nó 3 foi a temperatura. Variações nesse parâmetro pode afetar a temperatura das prateleiras do liofilizador e consequentemente modificar a temperatura do produto durante o ciclo de liofilização. A tabela 22 demonstra os resultados da análise HAZOP do parâmetro avaliado para o nó 3.

Tabela 22- Resultados da análise HAZOP do sistema 1 - Nó 3

Subsistema 1 - Circuito Térmico								
Nó 3 - Aquecedor (HTR): Aquecedor utilizado para aquecer o silicone que passará por dentro das prateleiras da câmara do liofilizador.								
Parâmetro	Palavra guia	Causas	Consequencia	Salvaguardas	Severidade	Frequencia	Risco	Ações e recomendações
Temperatura	Maior	- Módulo de frequência do aquecedor com mau funcionamento	Temperatura da prateleira acima do setpoint do ciclo de liofilização	- Visualização no painel sinótico. - Alarme sonoro e visual.	5	1	5	Verificação do tempo de vida útil do módulo de aquecimento
	Menor	Módulo de frequência do aquecedor com mau funcionamento	Temperatura da prateleira abaixo do setpoint do ciclo de liofilização	- Visualização no painel sinótico. - Alarme sonoro e visual.	5	1	5	Verificação do tempo de vida útil do módulo de aquecimento

Fonte: Autor.

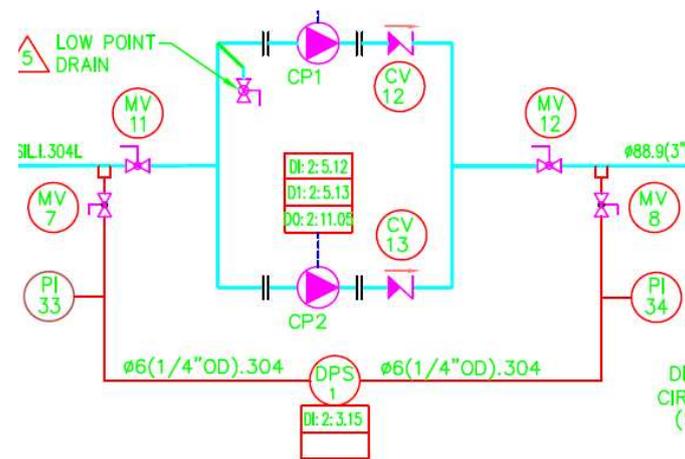
A tabela 22 demonstra um número de risco 5 para os desvios da temperatura no aquecedor quando esse parâmetro se encontra acima ou abaixo do *setpoint*.

O nó 3 faz parte de um conjunto integrado do equipamento algumas salvaguardas são medidas indiretamente como sensores de temperatura TE281, TE282, TE283, TE 284 que auxiliam a tomada de decisão em caso de desvio no parâmetro.

#### 4.4.1.4 Nó 4 – Bomba de Circulação

As bombas de circulação são do tipo centrífuga e provem uma alta taxa de vazão através do sistema de forma a assegurar um alto grau de uniformidade da temperatura nas prateleiras do equipamento (figura 20). Um *switch* de pressão envia as informações para o CLP sinalizando que a bomba está em operação.

Figura 20 - Nó 4 Bomba de circulação



Fonte: *Operating Manual Lyomax 21 Industrial Freeze Drying System*, 2008

O parâmetro escolhido para análise HAZOP do Nó 4 foi a vazão da bomba de circulação. Variações nesse parâmetro pode afetar a temperatura das

prateleiras do liofilizador e conseqüentemente modificar a temperatura do produto durante o ciclo de liofilização.

A tabela 23 demonstra os resultados da análise HAZOP do parâmetro avaliado para o nó 4.

Tabela 23 - Resultados da análise HAZOP do sistema 1 - Nó 4

Subsistema 1 - Circuito Térmico								
Nó 4 - Bombas de circulação: as bombas de circulação possuem a função de circular o fluido pelo circuito térmico oferecendo uma alta taxa de fluxo de forma a prover uma alta homogeneidade de temperatura nas prateleiras do liofilizador.								
Parâmetro	Palavra guia	Causas	Consequencia	Salvaguardas	Severidade	Frequencia	Risco	Ações e recomendações
Vazão	Maior	- Performance baixa da bomba de circulação - Válvula manual MV1 ou MV2 fechada	Temperatura da prateleira fora da faixa preconizada para o ciclo de liofilização	- Visualização no painel sinótico. - Alarme sonoro e visual. - Troca da bomba de circulação automaticamente.	5	1	5	- Verificação do tempo de vida útil da bomba - Procedimento de Inspeção visual das válvulas
	Menor	- Performance baixa da bomba de circulação - Válvula manual MV1 ou MV2 fechada <sup>3</sup>		- Visualização no painel sinótico. - Alarme sonoro e visual. - Troca da bomba de circulação automaticamente.	5	1	5	- Verificação do tempo de vida útil da bomba - Procedimento de Inspeção visual das válvulas

Fonte: Autor.

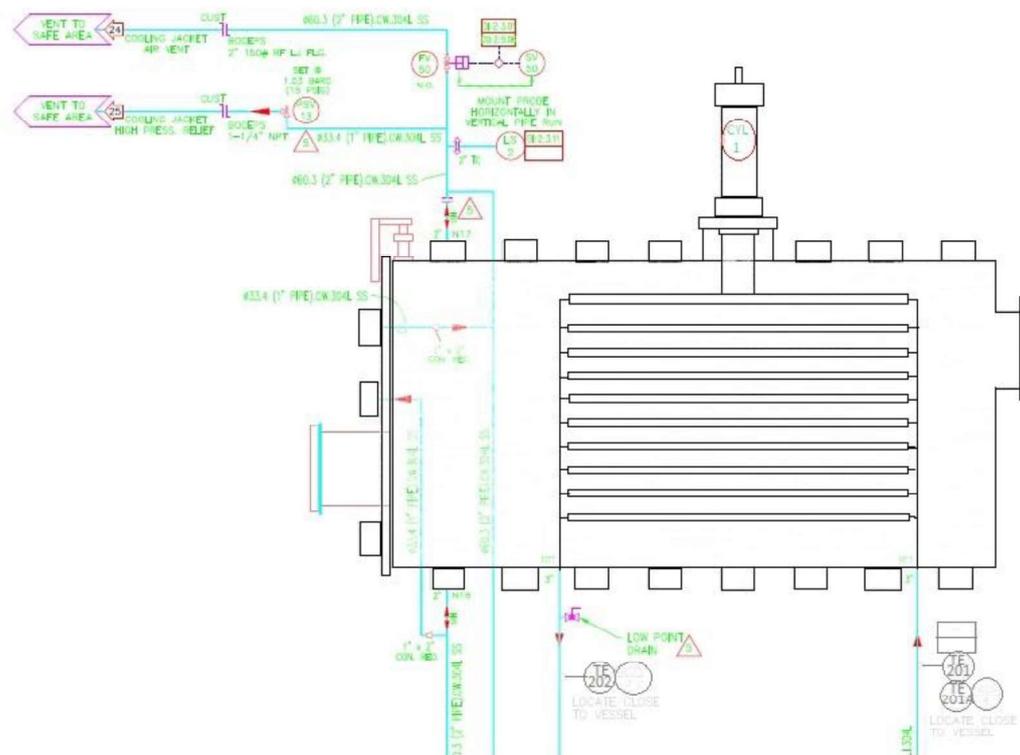
A tabela 23 demonstra um número de risco 5 para os desvios da temperatura no aquecedor quando esse parâmetro se encontra acima ou abaixo do *setpoint*.

O nó 4 faz parte de um conjunto integrado do equipamento algumas salvaguardas são medidas indiretamente como sensores de temperatura TE281, TE282, TE283, TE 284 que auxiliam a tomada de decisão em caso de desvio no parâmetro.

#### 4.4.1.6 Nó 5 – Prateleiras

As prateleiras do equipamento são ocas e possuem chicanas para uma melhor homogeneização da temperatura. Conforme figura 21, o liofilizador é composto de nove prateleiras e uma prateleira de compensação de mesma dimensão das demais de forma a evitar os efeitos de radiação e garantir que o produto na prateleira superior seja exposto as mesmas condições térmicas das prateleiras inferiores.

Figura 21- Nó 5 Prateleiras



Fonte: *Operating Manual Lyomax 21 Industrial Freeze Drying System*, 2008

O parâmetro escolhido para análise HAZOP do Nó 5 foi a temperatura das prateleiras. Variações nesse parâmetro pode afetar a temperatura das prateleiras do liofilizador e conseqüentemente modificar a temperatura do produto durante o ciclo de liofilização.

A tabela 24 demonstra os resultados da análise HAZOP do parâmetro avaliado para o nó 5.

Tabela 24 - Resultados da análise HAZOP do sistema 1 - Nó 5

Subsistema 1 - Circuito Térmico								
Nó 5 - Prateleiras: consiste em 10 prateleiras ocas onde o fluido de silicone circula com a função de homogeneizar a temperatura dos frascos com produto. Na entrada do fluido de circulação para a prateleira um sensor de temperatura (TE201) se encontra presente que é ligado ao PLC do liofilizador.								
Parametro	Palavra guia	Causas	Consequencia	Salvaguardas	Severidade	Frequencia	Risco	Ações e recomendações
Temperatura	Maior	Falha no sensor TE201	Temperatura da prateleira fora da faixa preconizada para o ciclo de liofilização	- Visualização no painel sinótico. - Alarme sonoro e visual.	5	1	5	Calibração do sensor TE201
	Menor	Falha no sensor TE201		- Visualização no painel sinótico. - Alarme sonoro e visual.	5	1	5	Calibração do sensor TE201

Fonte: Autor.

A tabela 24 demonstra um número de risco 5 para os desvios da temperatura nas prateleiras quando esse parâmetro se encontra acima ou abaixo do *setpoint*.

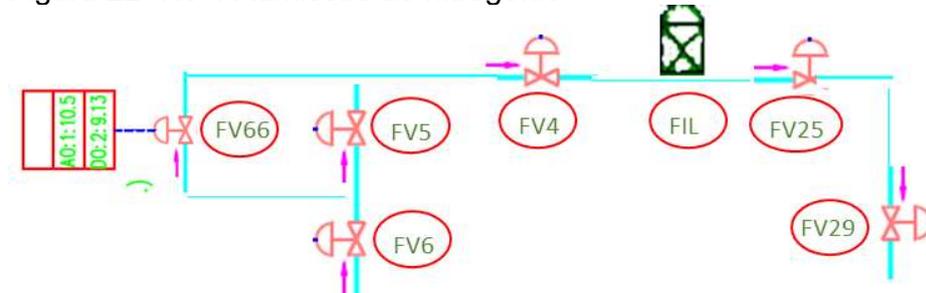
#### 4.4.2. Seleção de Nós do Sistema 2

##### 4.4.2.1 Nó 1 – Admissão de nitrogênio

O controle automático de vácuo na câmara é realizado pelo CLP através da abertura de válvulas específicas e de uma válvula agulha. Durante os passos automáticos de secagem do ciclo de liofilização, um manômetro capacitivo na câmara do liofilizador envia a informação da pressão da câmara ao CLP. O CLP abre a válvula agulha a qual é controlada por um loop Proporcional Integrativo

Derivativo (PID). O nitrogênio admitido contrabalança o vácuo realizado pelo grupo de bombas de vácuo conforme figura 22.

Figura 22- Nó 1 Admissão de nitrogênio



Fonte: *Operating Manual Lyomax 21 Industrial Freeze Drying System*, 2008

Os parâmetros escolhidos para análise HAZOP do Nó 1 foram a pressão e vazão de nitrogênio para a câmara de liofilização. Variações nesses parâmetros podem afetar a pressão da câmara e conseqüentemente modificar a taxa de sublimação do produto durante o ciclo de liofilização.

A tabela 25 demonstra os resultados da análise HAZOP dos dois parâmetros avaliados para o nó 1.

Tabela 25- Resultados da análise HAZOP do sistema 2 - Nó 1

Subsistema 2 - Circuito de Pressão na câmara								
Nó 1 - Admissão de Nitrogênio: Consiste de válvulas de admissão de gás nitrogênio. A taxa de admissão de nitrogênio na câmara do liofilizador é controlada através de uma válvula reguladora automática. A pressão da câmara é medida através de sensor de pressão localizada na câmara do liofilizador. Ambos ligados ao PLC do liofilizador.								
Parâmetro	Palavra guia	Causas	Consequência	Salvaguardas	Severidade	Frequência	Risco	Ações e recomendações
Pressão	Maior	<ul style="list-style-type: none"> <li>- FV66 desregulada</li> <li>- Avaria na tubulação da câmara</li> <li>- Alta quantidade de gelo no condensador</li> <li>- Performance do nó 2</li> </ul>	Pressão da câmara fora da faixa preconizada para o ciclo de liofilização	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Medidor de pressão.</li> <li>- Visualização no painel sinótico.</li> <li>- Alarme sonoro e visual.</li> </ul>	5	2	10	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Verificação do tempo de vida útil da válvula</li> <li>- Realização de teste de integridade da câmara antes da utilização do liofilizador</li> <li>- Realização de degelo do condensador do liofilizador antes da utilização</li> <li>- Verificar ações e recomendações no Nó 2.</li> </ul>
	Menor	<ul style="list-style-type: none"> <li>- FV66 desregulada</li> <li>- Avaria na tubulação da câmara</li> <li>- Falha na abertura de uma ou mais válvulas</li> <li>- Falta de nitrogênio</li> <li>- Obstrução do filtro na linha de admissão de gás</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Medidor de pressão.</li> <li>- Visualização no painel sinótico.</li> <li>- Alarme sonoro e visual.</li> </ul>	5	2	10	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Verificação do tempo de vida útil da bomba</li> <li>- Validação do tempo de secagem dos filtros após esterilização</li> </ul>
Vazão	Maior	<ul style="list-style-type: none"> <li>- FV66 desregulada</li> <li>- Avaria na tubulação da câmara</li> <li>- Alta quantidade de gelo no condensador</li> <li>- Performance do nó 2</li> </ul>	Pressão da câmara fora da faixa preconizada para o ciclo de liofilização	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Medidor de pressão.</li> <li>- Visualização no painel sinótico.</li> <li>- Alarme sonoro e visual.</li> </ul>	5	2	10	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Verificação do tempo de vida útil da válvula</li> <li>- Realização de teste de integridade da câmara antes da utilização do liofilizador</li> <li>- Realização de degelo do condensador do liofilizador antes da utilização</li> <li>- Verificar ações e recomendações no Nó 2.</li> </ul>
	Menor	<ul style="list-style-type: none"> <li>- FV66 desregulada</li> <li>- Avaria na tubulação da câmara</li> <li>- Falha na abertura de uma ou mais válvulas</li> <li>- Falta de nitrogênio</li> <li>- Obstrução do filtro na linha de admissão de gás</li> </ul>		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Medidor de pressão.</li> <li>- Visualização no painel sinótico.</li> <li>- Alarme sonoro e visual.</li> </ul>	5	2	10	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Verificação do tempo de vida útil da bomba</li> <li>- Validação do tempo de secagem dos filtros após esterilização</li> </ul>

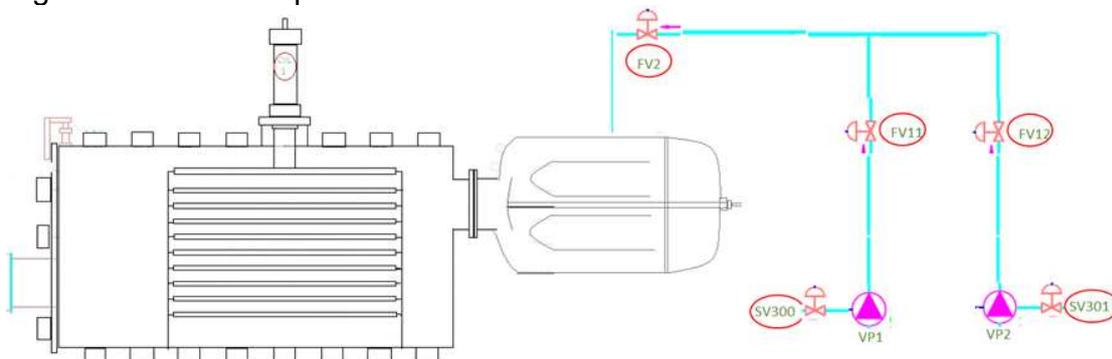
Fonte: Autor.

A tabela 25 demonstra um número de risco 10 para os desvios da pressão e vazão quando esses parâmetros se encontram acima ou abaixo do *setpoint*.

#### 4.4.2.2 Nó 2 – Grupo de Vácuo

O vácuo necessário para o processo de liofilização é atingido utilizando duas bombas de vácuo rotatórias de dois estágios com gás balastro. As bombas de vácuo se conectam ao condensador através de uma válvula do tipo borboleta. No caso de falta de energia a válvula se fecha automaticamente de forma a prevenir a contaminação do condensador pelo sistema de vácuo. As duas bombas de vácuo possuem uma válvula de isolamento instalada na tubulação de cada bomba, permitindo que cada bomba possa ser utilizada isoladamente conforme figura 23.

Figura 23 - Nó 2 Grupo de vácuo



Fonte: *Operating Manual Lyomax 21 Industrial Freeze Drying System*, 2008

O parâmetro escolhido para análise HAZOP do Nó 2 foi o rendimento da bomba de vácuo. Variações nesse parâmetro podem afetar a pressão da câmara e consequentemente modificar a taxa de sublimação do produto durante o ciclo de liofilização.

A tabela 26 demonstra os resultados da análise HAZOP do parâmetro avaliado para o nó 2.

Tabela 26 - Resultados da análise HAZOP do sistema 2 - Nó 2

Subsistema 2 - Circuito de Pressão na Câmara								
Nó 2 - Grupo de vácuo: Consiste em duas bombas de vácuo cada uma com seu respectivo gas ballast ligadas ao condensador do liofilizador. Possuem a função de realizar vácuo na câmara do liofilizador. Cada bomba de vácuo possui uma válvula borboleta para isolamento do sistema de vácuo e um sensor de pressão. O grupo de vácuo é isolado do condensador através de uma válvula.								
Parâmetro	Palavra guia	Causas	Consequência	Salvaguardas	Severidade	Frequência	Risco	Ações e recomendações
Pressão	Maior	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Válvula SV300 desregulada</li> <li>- Falha na bomba de vácuo</li> <li>- Alta quantidade de gelo no condensador</li> <li>- Falha abertura válvula FV1, FV2, FV11 ou FV12</li> </ul>	Pressão da câmara fora da faixa preconizada para o ciclo de liofilização	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Medidor de pressão</li> <li>- Visualização no painel sinótico.</li> <li>- Alarme sonoro e visual.</li> <li>- Início do funcionamento da segunda bomba de vácuo automaticamente.</li> </ul>	5	2	10	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Verificação do tempo de vida útil da válvula</li> <li>- Realização de degelo do condensador do liofilizador antes da utilização</li> <li>- Verificar ações e recomendações no No 1.</li> </ul>
	Menor	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Válvula SV300 desregulada</li> </ul>	Pressão da câmara fora da faixa preconizada para o ciclo de liofilização	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Medidor de pressão</li> <li>- Visualização no painel sinótico.</li> <li>- Alarme sonoro e visual.</li> <li>- Troca de bomba de vácuo automaticamente.</li> </ul>	5	2	10	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Verificação do tempo de vida útil da válvula</li> <li>- Realização de degelo do condensador do liofilizador antes da utilização</li> <li>- Verificar ações e recomendações no No 1.</li> </ul>

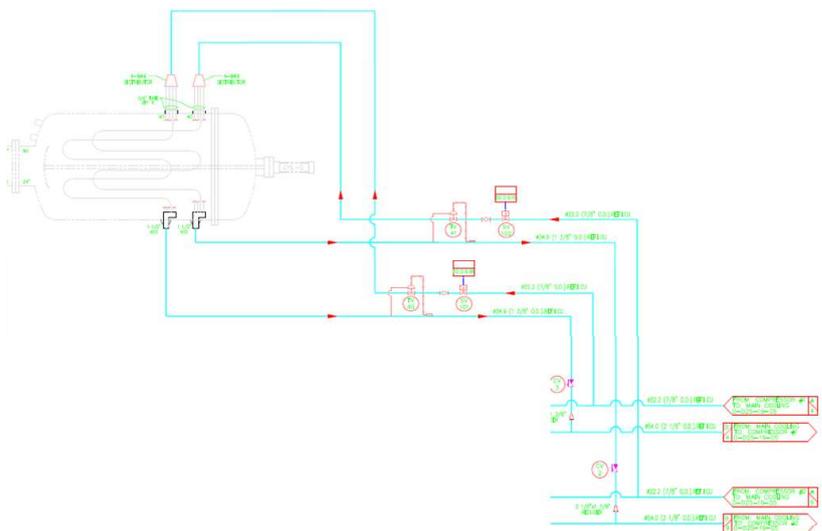
Fonte: Autor.

A tabela 26 demonstra um número de risco 10 para o desvio do rendimento da bomba de vácuo quando esse parâmetro se encontra abaixo do *setpoint*.

#### 4.4.2.3 Nó 3 – Condensador

O Condensador consiste em um vaso que se encontra entre a câmara do liofilizador e o grupo de vácuo isolado através de válvulas conforme figura 24. Dentro encontram-se dois conjuntos de serpentinas independentes e ligadas a válvulas de expansão e respectivos compressores. O condensador possui a função de reter o vapor de água durante a sublimação dos frascos e força motriz para o processo de liofilização através da diferença de temperatura.

Figura 24 - Nó 3 Condensador



Fonte: *Operating Manual Lyomax 21 Industrial Freeze Drying System*, 2008

Os parâmetros escolhidos para análise HAZOP do Nó 3 foram a temperatura e pressão do condensador. Variações nesse parâmetro podem afetar

a velocidade de sublimação e a pressão da câmara e conseqüentemente modificar a taxa de sublimação do produto durante o ciclo de liofilização.

A tabela 27 demonstra os resultados da análise HAZOP do parâmetro avaliado para o nó 3.

Tabela 27 - Resultados da análise HAZOP do sistema 2 - Nó 3

Subsistema 2 - Condensador								
Nó 3 - Condensador: Consiste em um vaso que se encontra entre a câmara do liofilizador e o grupo de vácuo isolados através de válvulas. Dentro encontram-se dois conjuntos de serpentinhas independentes e ligadas a válvulas de expansão e respectivos compressores. Possui a função de reter o vapor de água durante a sublimação dos frascos e força motriz para o processo de liofilização através da diferença de temperatura.								
Parâmetro	Palavra guia	Causas	Consequência	Salvaguardas	Severidade	Frequência	Risco	Ações e recomendações
Temperatura	Maior	- Falha na válvula de expansão SV101 - Falha na válvula de expansão SV102 - Falha com compressor COM1 - Falha com compressor COM2	Diminuição da força motriz para a liofilização, alterações de pressão na câmara ao longo da secagem.	- Medidor de temperatura - Visualização no painel sinótico. - Alarme sonoro e visual. - Início do funcionamento da segunda bomba de vácuo automaticamente. - Sistema de refrigeração projetado para ser utilizado com apenas um compressor para atingir temperatura do condensador.	5	2	10	- Verificação do tempo de vida útil das válvulas - Verificação constante das condições dos compressores - Realização de degelo do condensador do liofilizador antes da utilização
		- Válvula SV300 desregulada - Falha na bomba de vácuo - Alta quantidade de gelo no condensador - Falha na válvula de expansão SV101 - Falha na válvula de expansão SV102 - Falha com compressor COM1 - Falha com compressor COM2 - Falha abertura válvula FV1, FV2, FV11 ou FV12	Pressão da câmara fora da faixa preconizada para o ciclo de liofilização	- Medidor de pressão - Visualização no painel sinótico. - Alarme sonoro e visual. - Início do funcionamento da segunda bomba de vácuo automaticamente.	5	2	10	- Verificação do tempo de vida útil da válvula - Realização de degelo do condensador do liofilizador antes da utilização - Verificar ações e recomendações no No 1.
Pressão	Menor	- Falha abertura válvula FV1, FV2, FV11 ou FV12	Pressão da câmara fora da faixa preconizada para o ciclo de liofilização	- Medidor de pressão - Visualização no painel sinótico. - Alarme sonoro e visual. - Troca de bomba de vácuo automaticamente.	5	2	10	- Verificação do tempo de vida útil da válvula - Realização de degelo do condensador do liofilizador antes da utilização - Verificar ações e recomendações no No 1.

Fonte: Autor.

A tabela 27 demonstra um número de risco 10 para o desvio do rendimento da bomba de vácuo quando esse parâmetro se encontra abaixo do *setpoint*.

Os nós dos subsistemas térmico e de pressão estudados foram classificados com grau de severidade dos desvios como alta (4) ou crítica (5) devido à possibilidade de afetar os parâmetros críticos de processo o que pode resultar em uma elevada perda do produto ou perda do lote produtivo.

No entanto, a frequência de ocorrência de desvios que é baseada em dados históricos do banco de dados criado, variou de remota (1) a pequena (2). A tabela 28 demonstra a matriz de risco para ambos os subsistemas.

Tabela 28 - Resultado da análise de risco HAZOP para a operação unitária de liofilização

MATRIZ DE RISCO						
Frequência		Remota	Pequena	Moderada	Alta	Muito alta
Severidade		1	2	3	4	5
Muito Baixa	1	Insignificante	Insignificante	Insignificante	Aceitável	Não desejável
Baixa	2	Insignificante	Insignificante	Aceitável	Não desejável	Não desejável
Moderada	3	Insignificante	Aceitável	Não desejável	Não desejável	Séria
Alta	4	Aceitável	Não desejável	Não desejável	Séria	Inaceitável
Crítica	5	Aceitável	Não desejável	Séria	Inaceitável	Inaceitável

Fonte: Autor.

A matriz de risco HAZOP da tabela 28 é dividida em cinco níveis de risco – Insignificante, Aceitável, Não desejável, Séria e Inaceitável. A partir da análise de risco os nós do subsistema 1 (em azul) e do subsistema 2 (em cinza) foram inseridos na matriz de risco.

Os nós 2, 3, 4 e 5 do subsistema 1 apresentaram risco Aceitável.

O nó 1 do subsistema 1 (trocador de calor) e 1 e 2 do subsistema de pressão possuem a maior risco de causar impactos no ACQ do produto e são Não desejáveis que ocorram. Variações do nó 1 do subsistema 1 causam variações no parâmetro crítico temperatura da prateleira do liofilizador onde o produto se

encontra podendo afetar os ACQ. Da mesma forma, variações do nó 1 e 2 do subsistema 2 causam variações no parâmetro crítico de processo pressão da câmara onde o produto se encontra.

Embora a criticidade seja alta ou crítica para o desvio nos parâmetros dos nós analisados, a frequência dos desvios é remota ou pequena, demonstrando a robustez do equipamento de liofilização. A frequência baixa está relacionada às salvaguardas durante a produção dos lotes, sejam através de mecanismos automáticos do próprio liofilizador ou através de procedimentos existentes realizados pela equipe de produção e manutenção fazendo com que os parâmetros críticos de processo não sejam influenciados e, mantendo assim, as faixas dos ACQ sob controle.

Para tal, as ações de recomendações devem ser seguidas para a mitigação do risco que os nós poderiam causar nos atributos críticos de qualidade do produto.

Uma vez identificado os ACQ e as falhas que podem ocorrer no equipamento de liofilização, entender melhor como os ACQ sofrem influência durante o processo de liofilização é uma premissa fundamental para evoluir nas análises. Assim, analisou-se, então, a relação entre os possíveis modos de falha que possam ocorrer durante a etapa de liofilização e que possam afetar os parâmetros críticos de processo. Para esta análise empregou-se a ferramenta Análise de Modo e Efeito de Falha (FMEA - *Failure Mode and Effects Analysis*).

#### **4.5 Análise FMEA e parâmetros críticos de processo**

De modo a identificar e analisar as possibilidades de falhas, suas causas e seus efeitos sobre o sistema de liofilização e que de alguma forma possam influenciar a qualidade do produto, a análise FMEA foi realizada em cada uma das etapas do ciclo de liofilização – etapa de congelamento, secagem primária e secagem secundária.

O grau de severidade da falha está diretamente relacionado aos desvios que sua ocorrência pode causar nos parâmetros críticos de processo tempo, temperatura e pressão das etapas do processo de liofilização.

Para ponderar a ocorrência das falhas, utilizou-se os dados computados para montar o banco de dados (já demonstrado) de forma a diminuir a incerteza do método, já para a detecção da falha foi utilizado o modo de operação do equipamento atual que é em modo automático e suas redundâncias, assim como o monitoramento constante da operação.

Em alguns modos de falha descreveu-se seu modo de falha potencial (Falha completa, Falha parcial, Falha intermitente, Falha devido ao excesso da função ou Função indesejada). Durante a operação de liofilização falhas parciais ou intermitentes podem não representar uma severidade alta uma vez que a função do processo não se altera devido a termodinâmica de transferência de energia do conjunto prateleiras do liofilizador frasco e produto.

Na tabela 29 é demonstrado o resultado da análise de risco de cada etapa do ciclo de liofilização.

Tabela 29– Planilha de riscos FMEA das etapas da liofilização

Etapa da Liofilização	Função do Processo	Modo de Falha	Efeito da Falha nos atributos críticos de qualidade	Causa da Falha	Controles Atuais	Índices			
						S	O	D	NPR
Congelamento	Estabilização da temperatura do produto para o congelamento	Variabilidade curta da temperatura durante o congelamento	Perda de Potência / Umidade residual acima da especificação / Termoestabilidade abaixo da especificação / Aspecto fora da faixa de aceitação / Performance baixa do lote (elevadas perdas)	- Falta de energia elétrica - Falta ou alteração nos parâmetros da utilidade para o equipamento.	- Correção automática do parâmetro crítico pelo equipamento - Alarmes visuais e sonoros - Monitoramento por operador 24h	9	1	8	72
		Variabilidade extensa da temperatura durante o congelamento	Aspecto fora da faixa de aceitação Performance abaixo do esperado para o lote (Médio nível de perdas)	- Falha em um dos nós do subsistema 1 (HAZOP)		9	4	8	288
		Tempo para estabilização acima do preconizado para a etapa	Não há.	- Falha na etapa de evacuação		1	5	9	45
		Tempo abaixo do preconizado para a etapa	Aspecto fora da faixa de aceitação Performance abaixo do esperado para o lote (Médio nível de perdas)	- Falha na edição do ciclo de liofilização		10	1	8	80
Secagem Primária	Realizar a sublimação da água do produto	Variabilidade curta da temperatura durante a secagem	Perda de Potência / Umidade residual acima da especificação / Termoestabilidade abaixo da especificação / Aspecto fora da faixa de aceitação Performance baixa do lote (elevadas perdas)	- Falta de energia - Falta ou alteração nos parâmetros da utilidade para o equipamento	- Correção automática do parâmetro crítico pelo equipamento - Alarmes visuais e sonoros - Monitoramento por operador 24h	7	2	8	112
		Variabilidade extensa da temperatura durante a secagem	Aspecto fora da faixa de aceitação / Performance abaixo do esperado para o lote (Médio nível de perdas)	- Falha em um dos nós do subsistema 1 (Análise HAZOP)		9	1	8	72
		Tempo acima do preconizado para a etapa	Não há.	- Falha em um dos nós do subsistema 2 (HAZOP)		2	1	8	16
		Tempo abaixo do preconizado para a etapa	Aspecto fora da faixa de aceitação / Performance abaixo do esperado para o lote (Médio nível de perdas)	- Falha em um dos nós do subsistema 2 (HAZOP)		9	1	8	72
		Variabilidade curta da pressão durante a secagem	Potência, Umidade residual, termoestabilidade e aspecto fora da faixa de aceitação	- Falta de energia - Falta ou alteração nos parâmetros da utilidade		7	1	8	56
		Variabilidade extensa da pressão da câmara durante a secagem	Potência, Umidade residual, termoestabilidade e aspecto fora da faixa de aceitação	- Falta de Nitrogênio - Falha em um dos nós do subsistema 2 (HAZOP)		9	2	6	108
Secagem Secundária	Realizar a secagem final do produto	Variabilidade curta da temperatura durante a secagem	Perda de Potência / Umidade residual acima da especificação / Termoestabilidade abaixo da especificação / Aspecto fora da faixa de aceitação / Performance baixa do lote (elevadas perdas)	- Falha no equipamento - Falta de energia Falta ou alteração nos parâmetros da utilidade	- Correção automática do parâmetro crítico pelo equipamento - Alarmes visuais e sonoros - Monitoramento por operador 24h	5	2	9	90
		Variabilidade extensa da temperatura durante a secagem	Aspecto fora da faixa de aceitação / Performance abaixo do esperado para o lote (Médio nível de perdas)	- Falha em um dos nós do subsistema 1 (Análise HAZOP)		7	1	9	63
		Tempo acima do preconizado para a etapa	Não há.	- Falha em um dos nós do subsistema 2 (HAZOP)		6	2	9	108
		Tempo abaixo do preconizado para a etapa	Aspecto fora da faixa de aceitação Performance abaixo do esperado para o lote (Médio nível de perdas)	- Falha em um dos nós do subsistema 2 (HAZOP)		5	2	9	90
		Variabilidade curta da pressão da câmara durante a secagem	Potência, Umidade residual, termoestabilidade e aspecto fora da faixa de aceitação	- Falta de energia - Falta ou alteração nos parâmetros da utilidade		6	2	8	96
		Variabilidade extensa da pressão da câmara durante a secagem	Potência, Umidade residual, termoestabilidade e aspecto fora da faixa de aceitação	- Falta de Nitrogênio - Falha em um dos nós do subsistema 2 (HAZOP)		7	4	8	224

Fonte: Autor

#### 4.6 Planejamento de experimentos

Três experimentos foram realizados utilizando-se as informações do banco de dados para cada etapa do ciclo de liofilização conforme tabela 30.

Tabela 30 - Experimentos por etapa do ciclo de liofilização

#Experimento	Etapa do ciclo de liofilização	Descrição do Experimento	Hipótese
1	Congelamento	Alteração dos PCP temperatura e tempo e comparação com os resultados do histórico dos lotes estatisticamente.	Congelamento não homogêneo da vacina na etapa.
2	Congelamento	De acordo com o experimento 1	Variações ocorridas no PCP pressão da câmara na etapa de secagem primária em determinadas faixas durante a produção de lotes não alterariam os resultados dos ACQ e rendimento dos lotes.
	Secagem Primária	Verificação da intensidade da variação da pressão da câmara em relação aos ACQ e rendimento dos lotes	
3	Congelamento	De acordo com o experimento 1	Variações ocorridas no PCP pressão da câmara na etapa de secagem secundária em determinadas faixas durante a produção de lotes não alterariam os resultados dos ACQ e rendimento dos lotes.
	Secagem Secundária	Variação do PCP pressão da câmara em relação aos ACQ e rendimento dos lotes	

Fonte: Autor.

Para a etapa de congelamento, o histórico dos resultados do processo foi analisado estatisticamente a partir do banco de dados utilizando-se lotes sem não conformidade. De acordo com os resultados da análise FMEA, a variabilidade curta ou extensa da temperatura durante o congelamento apresentou recomendações para que medidas de ação devam ser tomadas para a redução do risco.

Assim, o experimento 1 foi desenvolvido com a intenção de testar a hipótese do comportamento da mudança dos parâmetros críticos de processo temperatura e tempo da etapa de congelamento. A hipótese se baseava no congelamento homogêneo não adequado para o produto durante essa etapa, o que, influenciava negativamente as etapas de secagem e, conseqüentemente, o rendimento e os ACQ da vacina. Neste experimento foi desenvolvido um novo ciclo de liofilização e 102 lotes foram produzidos no equipamento de liofilização industrial com capacidade de 36.000 frascos de vacina. O ciclo de liofilização proposto possuía uma diminuição da temperatura das prateleiras do liofilizador em 2°C e um aumento do tempo de residência dos frascos nessa etapa de mais 2h. De forma a se verificar a alteração proposta, 102 lotes comerciais foram realizados sem que houvesse não conformidades durante a operação de liofilização. Os resultados dos atributos críticos de qualidade e rendimento dos lotes do experimento 1 foram avaliados estatisticamente frente a um levantamento de dados históricos para verificar a efetividade das mudanças propostas de melhoria do ciclo.

O experimento 2 foi desenvolvido com a intenção de testar a hipótese que variações ocorridas no parâmetro crítico pressão da câmara na etapa de secagem primária em determinadas faixas durante a produção de lotes não alterariam os resultados dos atributos críticos de qualidade e rendimento dos lotes. Para tal, lotes onde houve variação nesse parâmetro de processo crítico foram elencados do banco de dados após alterações nos parâmetros críticos de processo na etapa de congelamento (experimento 1) durante a produção de lotes. Os resultados foram avaliados frente ao levantamento de dados históricos para verificar a

efetividade na etapa de secagem primária após as propostas de melhoria do ciclo realizadas no experimento 1.

Por fim, o experimento 3 foi desenvolvido com a intenção de testar se variações ocorridas no parâmetro crítico pressão da câmara na etapa de secagem secundária em determinadas faixas durante a produção de lotes não alterariam os resultados dos atributos críticos de qualidade e rendimento dos lotes.

Para tal, lotes onde houve variação nesse parâmetro de processo crítico na etapa de secagem secundária foram elencados do banco de dados após alterações nos parâmetros críticos de processo na etapa de congelamento durante a produção de lotes.

Assim, o terceiro experimento representa os resultados dos atributos críticos de qualidade e rendimento dos lotes a partir das variações ocorridas no parâmetro crítico pressão da câmara após alterações nos parâmetros críticos de processo na etapa de congelamento durante a produção de lotes.

Os resultados foram, então, comparados ao histórico dos resultados do processo e verificada a significância estatística dessas variações nos atributos críticos de qualidade. A seguir são apresentados as análises históricas e os resultados de cada experimento.

#### 4.6.1 Experimento 1 (etapa de congelamento)

Para o histórico dos resultados do processo da etapa de congelamento do ciclo de liofilização da vacina tríplice viral foram agrupados e examinados 214 lotes comerciais onde durante a liofilização não ocorreram não conformidades relativas aos parâmetros críticos de processo durante todo o ciclo.

A análise descritiva foi realizada para avaliar o comportamento quanto a linearidade do rendimento dos lotes e dos atributos críticos de qualidade. A aderência do conjunto de dados quanto ao modelo probabilístico distribuição

normal e a presença de resultados extremos foram verificados, por meio do teste de normalidade *Shapiro-Wilk* e *Grubbs*, respectivamente conforme tabela 31.

Tabela 31 - Testes Shapiro-Wilk e Grubb para os resultados de rendimento e Atributos Críticos de Qualidade antes da mudança dos parâmetros críticos de processo na etapa de congelamento.

Variáveis	Fase=Antes da mudança					
	Shapiro-Wilk test	p-value	Conclusão do teste	Teste Grubbs	p-value	Conclusão do teste
Rendimento	0,9370	0,0000	Não adere a curva Normal	3,755	0,029	Presença de valor extremo
Potência Sarampo	0,9793	0,0031	Não adere a curva Normal	3,219	0,242	Ausência de valor extremo
Potência Caxumba	0,9148	0,0000	não adere a curva Normal	3,369	0,138	Ausência de valor extremo
Potência Rubéola	0,9877	0,0618	Adere a curva Normal	3,641	0,047	Presença de valor extremo
Termoestabilidade Sarampo	0,9830	0,0110	Não adere a curva Normal	2,803	1,000	Ausência de valor extremo
Termoestabilidade Caxumba	0,9290	0,0000	Não adere a curva Normal	3,424	0,112	Ausência de valor extremo
Termoestabilidade Rubéola	0,9885	0,0840	Adere a curva Normal	3,239	0,225	Ausência de valor extremo
Umidade Residual	0,9770	0,0015	Não adere a curva Normal	2,200	1,000	Ausência de valor extremo

Fonte: Autor.

Segundo a tabela 31 o teste de *Shapiro-Wilk* demonstrou que apenas o atributo crítico de qualidade rubéola, aderiu a distribuição normal, demonstrando variabilidade dos dados. Desta forma, optou-se por uma abordagem não-paramétrica para o tratamento estatístico dos dados.

O teste de valor extremo *Grubbs* foi utilizado para verificar a ocorrência de valores extremos (*outliers*) no conjunto de resultados dos atributos críticos de qualidade dos 214 lotes utilizados como espaço amostral evitando, assim, variabilidade aleatória inerente aos dados, erro no cálculo durante o recolhimento dos dados ou anotações precipitadas pelo operador. O teste demonstrou que para a amostra selecionada que há ocorrência de valores extremos para o rendimento dos lotes e o atributo crítico de qualidade potência do componente rubéola. De modo a não influenciar os resultados da análise devido as anomalias encontradas, optou-se por uma abordagem não-paramétrica (Tabela 32) uma vez que a aderência a distribuição Normal é um pré-requisito para aplicação de teste paramétrico.

Tabela 32 - Resultados de rendimento e Atributos Críticos de Qualidade antes da mudança dos parâmetros críticos de processo na etapa de congelamento.

Variáveis	Fase=Antes da mudança						
	Estatística descritiva						
	Nº lotes	Média	Desvio-padrão	Coef.Var.	Mediana	Mínimo	Máximo
Rendimento	214	93,22	2,86	3,07	93,59	82,47	97,93
Potência Sarampo	214	4,03	0,19	4,70	4,01	3,42	4,41
Potência Caxumba	214	5,18	0,19	3,72	5,24	4,53	5,46
Potência Rubéola	214	3,84	0,17	4,39	3,85	3,23	4,30
Termo estabilidade Sarampo	214	3,75	0,18	4,79	3,73	3,25	4,19
Termo estabilidade Caxumba	214	4,86	0,23	4,68	4,86	4,08	5,35
Termo estabilidade Rubéola	214	3,65	0,16	4,39	3,65	3,19	4,17
Umidade Residual	214	1,43	0,34	23,25	1,43	0,71	2,16

Fonte: Autor.

Segundo a tabela 32, o rendimento dos lotes resultou em uma média de  $93,22 \pm 2,86\%$ . Assim, uma vez que para cada lote industrial são processados no equipamento de liofilização em torno de 360.000 doses de vacina, uma perda média de 7,79% é esperada, representando 28.044 doses de vacina que serão descartadas após o processo de liofilização. Isto é, a soma das perdas relativas ao processo de liofilização a cada treze lotes produzidos representa um lote produtivo que poderia ser comercializado.

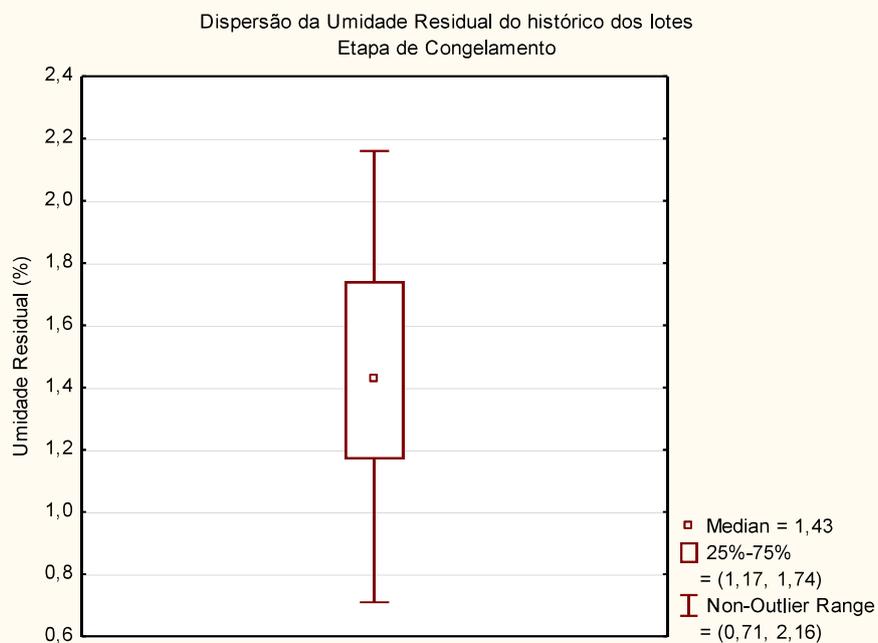
A potência dos vírus de sarampo, caxumba e rubéola apresentaram uma média de  $4,03 \pm 0,18 \log_{10}$  CCID50/DH,  $5,18 \pm 0,19 \log_{10}$  CCID50/DH e  $3,84 \pm 0,17 \log_{10}$  CCID50/DH, respectivamente. Os resultados se encontram aprovados segundo a especificação do fabricante possuindo ainda coeficiente de variação com baixa dispersão, pois são menores que 10%.

A termoestabilidade dos vírus de sarampo, caxumba e rubéola apresentaram uma média de  $3,75 \pm 0,18 \log_{10}$  CCID50/DH,  $4,86 \pm 0,23 \log_{10}$  CCID50/DH e  $3,65 \pm 0,16 \log_{10}$  CCID50/DH, respectivamente. Os resultados se encontram aprovados segundo a especificação do fabricante possuindo ainda coeficiente de variação com baixa dispersão, pois são menores que 10%.

A média de umidade residual foi de  $1,43 \pm 0,34\%$ . Mesmo o resultado estando conforme especificação ( $\leq 2,5\%$ ), seu coeficiente de variação apresentou um resultado de 23,24%, o que representa uma considerável dispersão.

O resultado do atributo crítico de qualidade umidade residual pode ser observado no gráfico da figura 25.

Figura 25 - Dispersão do ACQ Umidade Residual do histórico de lotes



Fonte: Autor.

A alta dispersão encontrada no atributo crítico de qualidade umidade residual explicitada na figura 25 apresenta resultados que variam de 0,7% a 2,2%. Os valores se encontram na faixa preconizada pelo fabricante, porém não se pode assegurar que os resultados de umidade são homogêneos na sua totalidade podendo causar dúvidas quanto a robustez do processo de liofilização.

Com o histórico dos lotes levantados, para a realização do experimento 1 os parâmetros críticos de processo, temperatura e tempo, da etapa de congelamento do ciclo de liofilização da vacina tríplice viral foram modificados. A temperatura de ajuste da prateleira do liofilizador foi diminuída em 2°C e o tempo de duração da etapa de congelamento ampliado em 2h. As alterações propostas foram baseadas em observações do perfil de temperatura do produto durante a liofilização dos lotes do experimento 1 registradas nas cartas de liofilização que o equipamento de liofilização monitora continuamente. A hipótese para essa

modificação seria a não homogeneidade de congelamento dos frascos durante a etapa de congelamento.

Com isso, 102 lotes foram produzidos com as modificações citadas para a etapa de congelamento do ciclo de liofilização da vacina tríplice viral e seus resultados agrupados e examinados estatisticamente (Tabela 33).

Tabela 33 - Resultados de rendimento e Atributos Críticos de Qualidade após da mudança dos parâmetros críticos de processo na etapa de congelamento

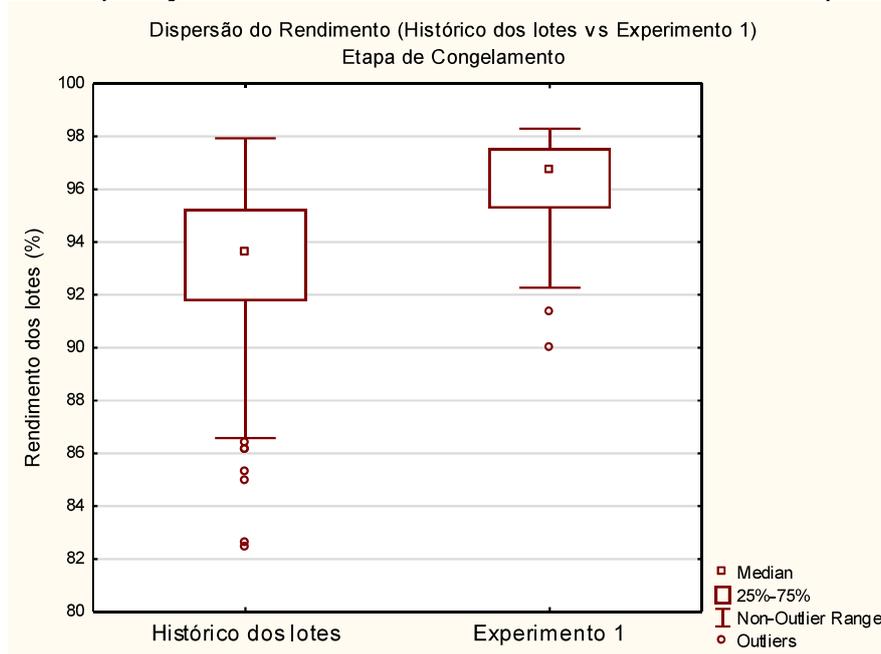
Rendimento e ACQ	Fase=Após mudança Estatística descritiva						
	Nº lotes	Média	Desvio-padrão	Coef.Var.	Mediana	Mínimo	Máximo
Rendimento	102	96,23	1,67	1,73	96,72	90,01	98,29
Potência Sarampo	102	4,15	0,18	4,43	4,17	3,48	4,54
Potência Caxumba	102	4,98	0,19	3,74	5,00	4,53	5,43
Potência Rubéola	102	3,92	0,24	6,19	3,95	3,31	4,37
Termo estabilidade Sarampo	102	3,84	0,16	4,28	3,84	3,39	4,19
Termo estabilidade Caxumba	102	4,66	0,21	4,45	4,68	4,14	5,14
Termo estabilidade Rubéola	102	3,76	0,25	6,57	3,80	3,20	4,24
Umidade Residual	102	1,53	0,24	15,81	1,50	1,04	2,07

Fonte: Autor.

Após as mudanças dos parâmetros tempo e temperatura, o rendimento dos lotes resultou em uma média de  $96,23 \pm 1,67\%$ , diminuindo a perda média por lote para  $3,77\%$ , ou seja, em torno de 13.572 doses de vacina/lote perdida.

As comparações das medianas dos experimentos se encontram na figura 26.

Figura 26 - Comparação dos rendimentos do histórico dos lotes e experimento 1



Fonte: Autor.

Na figura 26 observa-se que antes da mudança dos parâmetros críticos de processo a presença de valores extremos além de uma variação de rendimento de 82,47 a 97,93% com mediana em 93,59%.

Após a mudança, o número de valores extremos e a variação se tornaram menores com uma variação de rendimento de 90,01 a 98,29% com probabilidade de se obter uma mediana de 96,72%.

De forma a verificar a significância da mudança o Teste de *Mann-Whitney* foi utilizado de modo a observar se os resultados de rendimento do experimento 1 tendem a ter valores maiores comparados ao histórico dos lotes. Para o teste, se o *p-valor* encontrado for menor que o nível de significância preestabelecido de 5%, é considerado como evidência estatística ao nível de 5% de significância para rejeitarmos a igualdade entre as medianas. Os resultados do teste se encontram na tabela 34.

Tabela 34 - Teste de Mann-Whitney para a rendimento dos experimentos 1 e 2

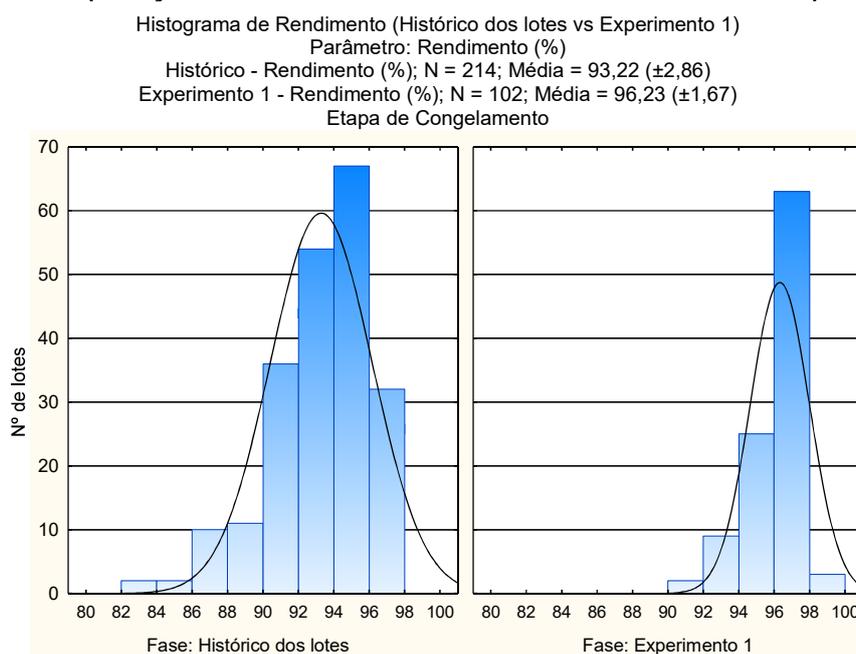
ACQ	Teste de Mann-Whitney – Rendimento						
	Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Valid N	Valid N
Umidade Residual	26501,00	23585,00	3496,00	-9,76816	0,00000	214	102

Fonte: Autor.

O experimento 1 foi comparado ao histórico dos lotes e, segundo os resultados do teste de *Mann-Whitney* da tabela 34, um  $p$ -valor  $\leq 0,05$  foi observado confirmando a significância estatística que as alterações nos parâmetros críticos de processo resultaram sob a rendimento dos lotes.

A menor dispersão dos resultados de rendimento pode ser verificada na figura 27.

Figura 27 - Comparação dos rendimentos do histórico dos lotes e experimento 1



Fonte: Autor.

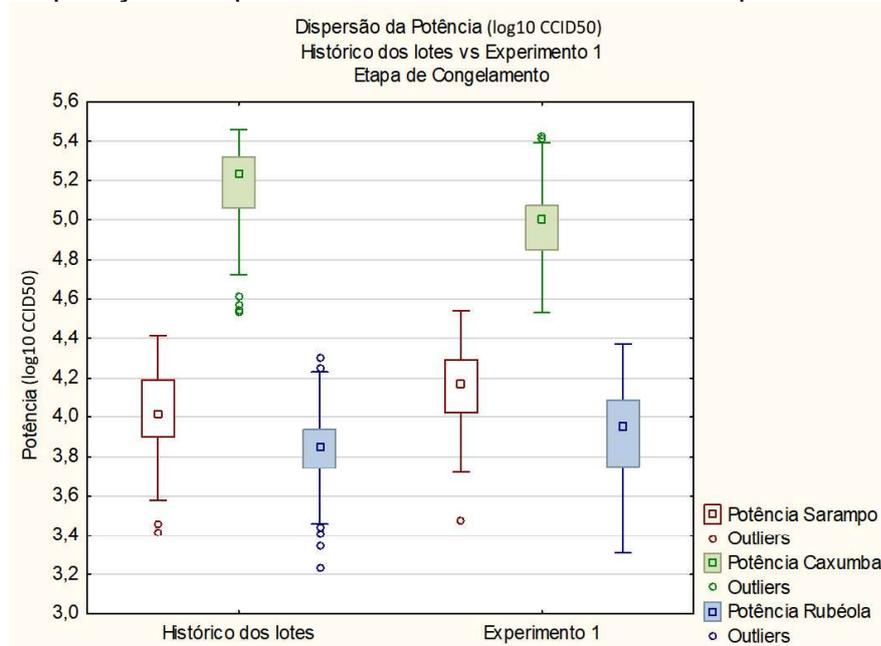
De acordo com a figura 27, a variabilidade do rendimento diminuiu após as mudanças nos parâmetros críticos de processo elevando a média de rendimento dos lotes para 96,23% além da redução do desvio padrão para  $\pm 1,67\%$ . Esses

dados representam uma probabilidade de um aumento médio de 10.872 doses de vacina/lote que podem ser disponibilizadas ao mercado.

Após a análise estatística nos resultados dos lotes do experimento 1, a potência dos vírus de sarampo, caxumba e rubéola apresentaram uma média de  $4,15 \pm 0,18 \log_{10}$  CCID50/DH,  $4,98 \pm 0,19 \log_{10}$  CCID50/DH e  $3,92 \pm 0,24 \log_{10}$  CCID50/DH, respectivamente e se encontram aprovados segundo a especificação do fabricante possuindo ainda baixo coeficiente de variação.

Observa-se na figura 28 a comparação entre os atributos críticos de qualidade potência dos três vírus da vacina.

Figura 28 - Comparação das potências do histórico dos lotes e experimento 1



Fonte: Autor.

Na figura 28, observa-se que após a mudança nos parâmetros críticos de processo no experimento 1 ocorre a ausência de valores extremos no atributo crítico de qualidade potência para o vírus de caxumba da vacina e a diminuição de outlier para a potência de sarampo e rubéola. Para a potência de sarampo e rubéola no experimento 1 houve um aumento medianas de 4,01 para 4,43  $\log_{10}$

CCID50/DH e de 3,85 para 3,95 log<sub>10</sub> CCID50/DH quando comparado ao histórico, respectivamente.

Para a potência de caxumba no experimento 1 houve uma diminuição da mediana de 5,24 para 5,00 log<sub>10</sub> CCID50/DH quando comparado ao mesmo histórico.

O Teste de *Mann-Whitney* foi utilizado de forma a verificar se os resultados de potência dos vírus do experimento 1 tendem a ter valores maiores do que o histórico ou se eles possuem a mesma mediana com nível de significância de 5% ( $p\text{-valor} \leq 0,05$ ) conforme tabela 35.

Tabela 35 - Teste de Mann-Whitney para a potência da etapa de congelamento

ACQ	Teste de Mann-Whitney - Termoestabilidade						
	Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Valid N	Valid N
Potência Sarampo	30080,00	20006,00	7075,000	-5,05493	0,000000	214	102
Potência Caxumba	39999,50	10086,50	4833,500	8,00677	0,000000	214	102
Potência Rubéola	31276,00	18810,00	8271,000	-3,47992	0,000502	214	102

Fonte: Autor.

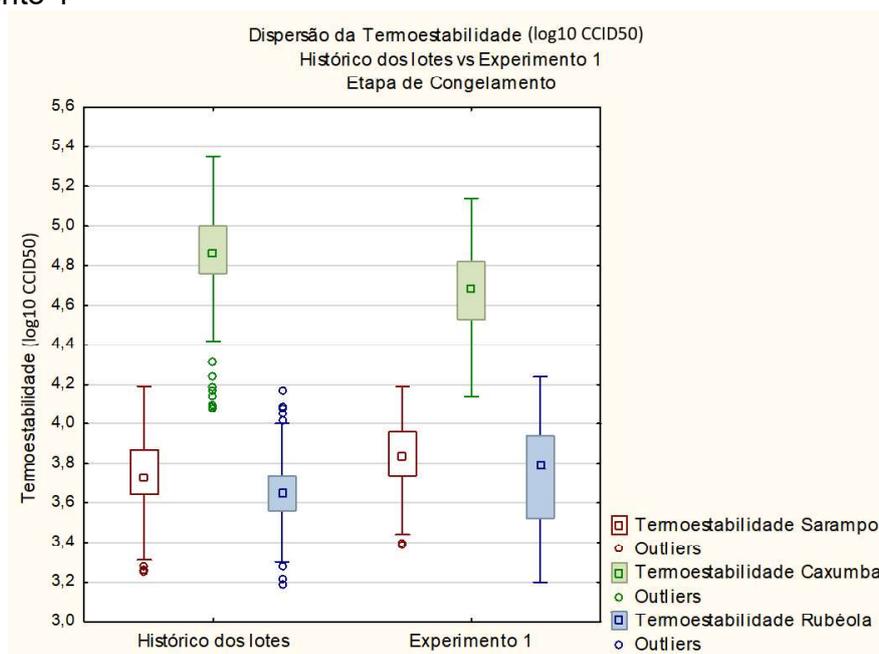
Segundo os resultados do teste de *Mann-Whitney* da tabela 35 um  $p\text{-valor} \leq 0,05$  foi observado confirmando a significância estatística que as alterações nos parâmetros críticos de processo resultaram sob a potência dos lotes. Assim, valores maiores de potência para sarampo e rubéola são esperados com as modificações nos parâmetros críticos de processo do experimento 1 e menores para a potência de caxumba. No entanto, todos os valores esperados se encontram conforme especificação do fabricante, sendo possível a unidade fabril acatar as mudanças, uma vez que os resultados estão dentro de um padrão esperado.

Ao se analisar o resultado da termoestabilidade dos vírus no produto dos lotes do experimento 1, a termo estabilidade dos vírus de sarampo, caxumba e rubéola apresentaram uma média de  $3,84 \pm 0,16$  log<sub>10</sub> CCID50/DH,  $4,66 \pm 0,21$  log<sub>10</sub> CCID50/DH e  $3,76 \pm 0,25$  log<sub>10</sub> CCID50/DH, respectivamente e se

encontram aprovados segundo a especificação do fabricante possuindo ainda baixo coeficiente de variação.

Observa-se na figura 29 a comparação entre os atributos críticos de qualidade termoestabilidade dos três vírus da vacina.

Figura 29 - Comparação das termoestabilidades do histórico dos lotes e experimento 1



Fonte: Autor.

Na figura 29, observa-se que após a mudança nos parâmetros críticos de processo no experimento 1 ocorre a diminuição ou ausência de valores extremos no atributo crítico de qualidade termoestabilidade para os três vírus da vacina. Para a termoestabilidade de sarampo no experimento 1 houve um aumento da mediana de 3,13 para 3,84 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH quando comparado ao histórico.

Para a termoestabilidade de caxumba no experimento 1 houve uma diminuição da mediana de 4,86 para 4,68 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH e para a termoestabilidade de rubéola no experimento 1 houve um aumento da mediana de 3,65 para 3,80 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH quando comparado ao mesmo histórico, respectivamente.

O Teste de *Mann-Whitney* foi utilizado de forma a verificar se os resultados de termoestabilidade dos vírus do experimento 1 tendem a ter valores maiores do que o histórico ou se eles possuem a mesma mediana com nível de significância de 5% ( $p\text{-valor} \leq 0,05$ ) conforme tabela 36.

Tabela 36 - Teste de Mann-Whitney para a termoestabilidade da etapa de congelamento

ACQ	Teste de Mann-Whitney - Termoestabilidade Significância para $p < ,05000$						
	Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Valid N	Valid N
Termoestabilidade Sarampo	30731,50	19354,50	7726,500	-4,19697	0,000027	214	102
Termoestabilidade Caxumba	39537,50	10548,50	5295,500	7,39837	0,000000	214	102
Termoestabilidade Rubéola	30682,50	19403,50	7677,500	-4,26150	0,000020	214	102

Fonte: Autor.

Segundo os resultados do teste de *Mann-Whitney* da tabela 36 um  $p\text{-valor} \leq 0,05$  foi observado confirmando a significância estatística que as alterações nos parâmetros críticos de processo resultaram sob a termoestabilidade dos lotes.

Assim, valores maiores de termoestabilidade para sarampo e rubéola são esperados com as modificações nos parâmetros críticos de processo do experimento 1 e menores para a termoestabilidade de caxumba. No entanto, todos os valores esperados se encontram conforme especificação do fabricante.

Para o atributo crítico de qualidade umidade residual, a média após análise estatística de *Shapiro-Wilk* para o experimento 1 foi de  $1,53 \pm 0,24\%$ . O resultado se encontra conforme especificação e o seu coeficiente de variação apresentou um resultado de 15,81%. A tabela 37 demonstra o resultado do teste de *Mann-Whitney* utilizado de forma a comparar estatisticamente os resultados de umidade residual do experimento 1 ao histórico de umidade residual.

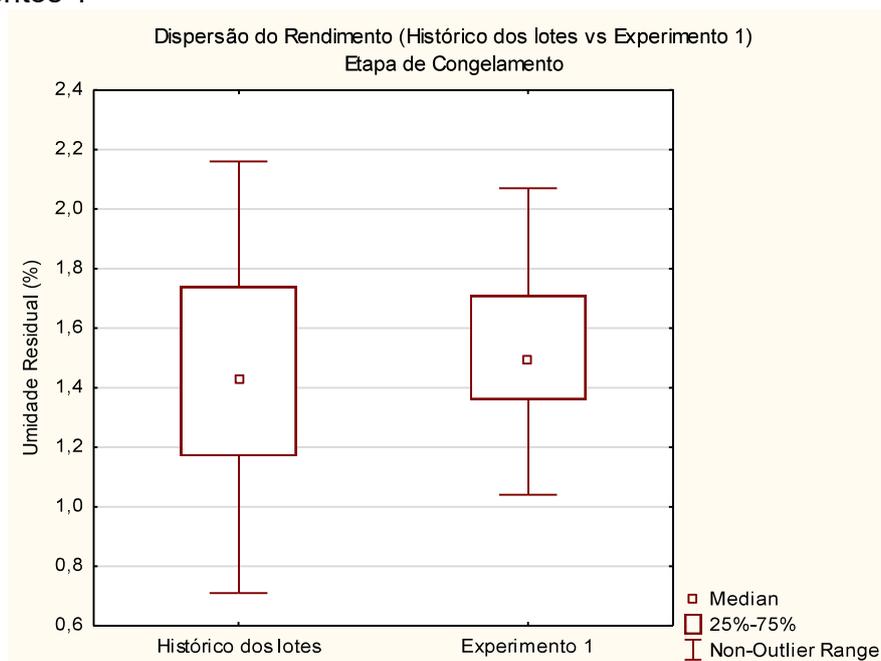
Tabela 37 - Teste de Mann-Whitney para o histórico de umidade residual e experimento.

ACQ	Teste de Mann-Whitney – Umidade Residual						
	Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Valid N	Valid N
Umidade Residual	32239,00	17847,00	9234,00	-2,21174	0,02697	214	102

Fonte: Autor.

Observa-se na tabela 37 um p-valor  $\leq 0,05$  quando comparado o histórico e o experimento 1 pelo teste de *Mann-Whitney*, confirmando, assim, a significância estatística que as alterações nos parâmetros críticos de processo resultaram sob a umidade residual dos lotes, sendo observado graficamente na figura 30.

Figura 30 - Comparação da umidade residual do histórico dos lotes e experimentos 1

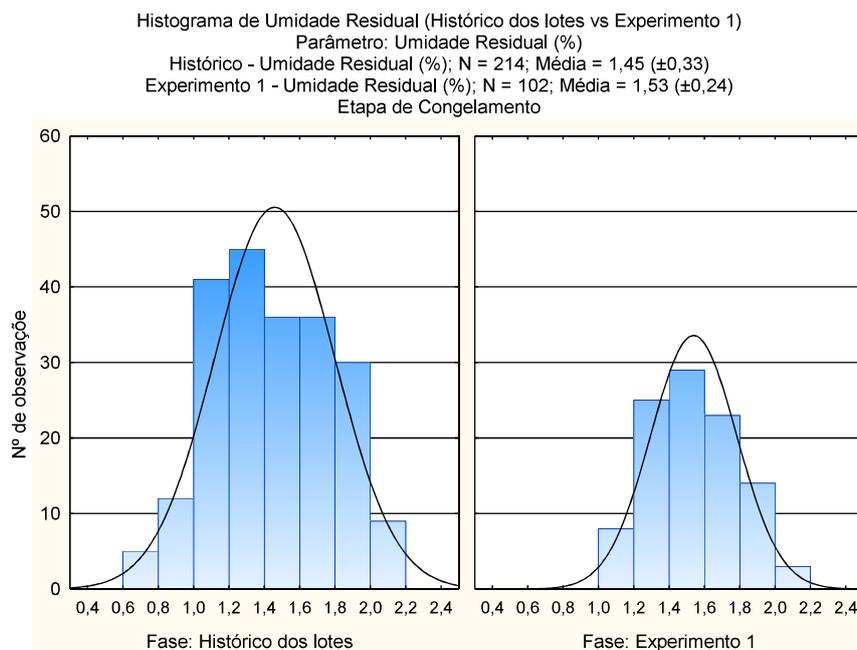


Fonte: Autor.

Segundo a figura 30, uma menor dispersão dos resultados de umidade residual pode ser observada uma vez que o desvio padrão e coeficiente de variação diminuíram para esse experimento.

A figura 31 demonstra a comparação entre a distribuição de umidade residual do histórico dos lotes e experimento 1.

Figura 31 - Comparação entre a distribuição de umidade residual antes e após modificações



Fonte: Autor.

De acordo com a figura 31, a especificação para a umidade residual para o experimento 1 é atendida ( $\leq 2,5\%$ ). No entanto, após a mudança nos parâmetros críticos de processo a mediana da umidade residual foi deslocada para direita do gráfico representando uma probabilidade maior de valores de umidade maiores. Para esse atributo crítico de qualidade esse deslocamento não é desejável, porém, ao mesmo tempo, a variabilidade foi reduzida de 23,24% para 15,81% trazendo uma certeza maior na repetibilidade dos resultados de umidade residual por lote.

#### 4.6.2 Experimento 2 (etapa de secagem primária)

Pretende-se no experimento 2 verificar a hipótese para a etapa de secagem primária que ao ocorrer variações de pressão da câmara não haveria influência nos atributos críticos de qualidade após a mudança dos parâmetros críticos de processo realizados no experimento 1.

Para tal, utilizou-se as análises após modificação dos parâmetros críticos temperatura e tempo da etapa de congelamento do ciclo de liofilização estudada anteriormente no experimento 1 como histórico para comparações e verificação da significância estatística nos atributos críticos de qualidade.

Apenas 10 lotes apresentavam variações de pressão na câmara durante a etapa de secagem primária no banco de dados após as modificações realizadas no experimento 1. Esses lotes foram selecionados e seus resultados agrupados e examinados estatisticamente por uma abordagem não-paramétrica (Tabela 38).

Tabela 38 - Resultados de rendimento e Atributos Críticos de Qualidade dos lotes com variação de pressão na câmara na etapa de secagem primária

Rendimento e ACQ	Lotes com variação de pressão na câmara						
	Estatística descritiva						
	Nº lotes	Média	Desvio-padrão	Coef.Var.	Mediana	Mínimo	Máximo
Potência Sarampo	10	3,96	0,35	9,04	4,02	3,44	4,42
Potência Caxumba	10	4,94	0,13	2,82	4,93	4,73	5,13
Potência Rubéola	10	3,86	0,30	7,99	3,93	3,30	4,19
Termoestabilidade Sarampo	10	3,69	0,31	8,48	3,71	3,25	4,27
Termoestabilidade Caxumba	10	4,63	0,14	3,10	4,58	4,43	4,85
Termoestabilidade Rubéola	10	3,67	0,28	7,89	3,65	3,26	4,05
Umidade Residual	10	1,59	0,30	19,25	1,59	1,15	2,04
Rendimento (%)	10	95,12	3,1	3,24	95,45	88,68	98,43

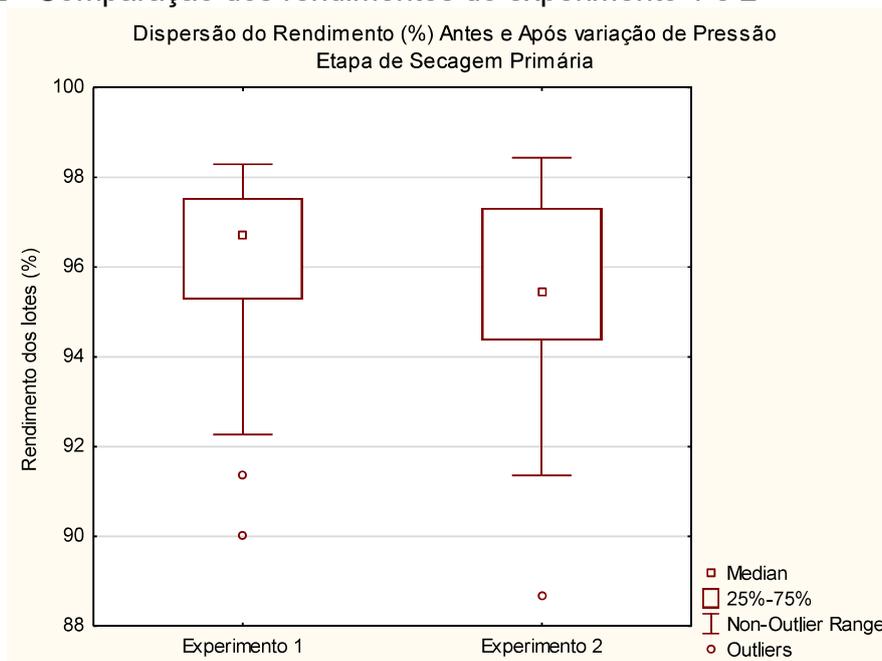
Fonte: Autor.

Segundo a tabela 38, o rendimento médio após ocorrência de variações de pressão na câmara resultou em um valor de  $95,12 \pm 3,1\%$ . Comparando-se ao rendimento dos lotes sem variação de pressão na câmara (média de  $96,23 \pm$

1,67%), verifica-se a influência negativa dessa variação sobre o rendimento dos lotes, aumento, assim, a probabilidade maior de perdas de vacina/lote.

As comparações das medianas dos experimentos se encontram na figura 32.

Figura 32 - Comparação dos rendimentos do experimento 1 e 2



Fonte: Autor.

Na figura 32 observa-se que antes da variação de pressão da câmara um rendimento de 94,56 a 97,90% com mediana em 96,23% é esperado para o experimento 1.

Com as variações de pressão da câmara, a variação do rendimento se tornou maior e com valores esperados de 92,02 a 98,22% com mediana de 95,12% significando um aumento do número de frascos perdidos por lote.

De forma a verificar a significância das variações o Teste de *Mann-Whitney* foi utilizado de modo a observar se os resultados de rendimento do experimento 2 tendem a ter valores maiores comparados ao histórico dos lotes. Para o teste, se o *p-valor* encontrado for menor que o nível de significância preestabelecido de 5%, é considerado como evidência estatística ao nível de 5% de significância para

rejeitarmos a igualdade entre as medianas. Os resultados do teste se encontram na tabela 39.

Tabela 39 - Teste de Mann-Whitney para a rendimento dos experimentos 1 e 2

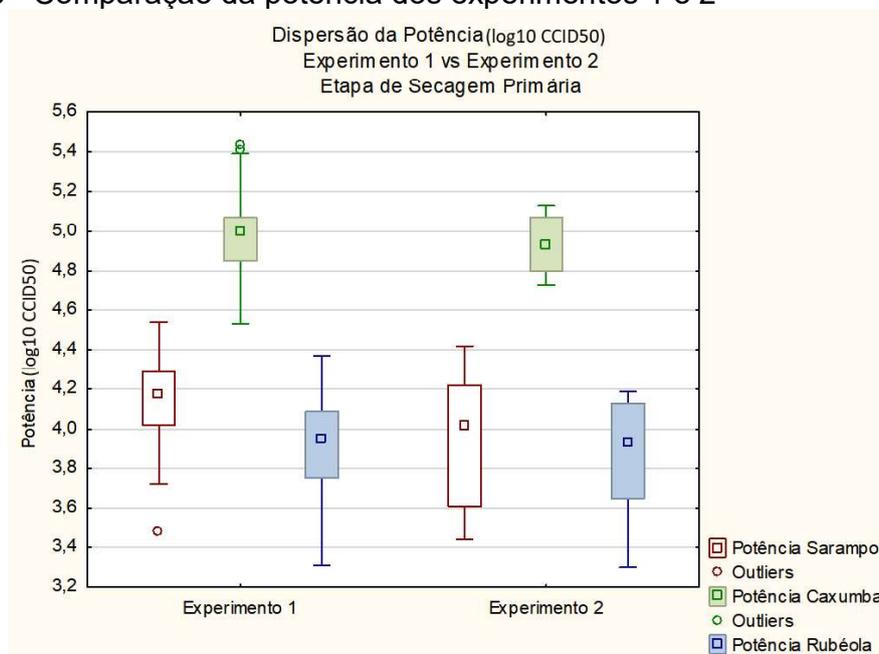
Rendimento	Teste de Mann-Whitney – Rendimento						
	Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Valid N	Valid N
Rendimento	5698,50	629,50	445,50	-0,65	0,51	102	10

Fonte: Autor.

Os resultados dos atributos críticos de qualidade do experimento 2 (Tabela 38), potência dos vírus de sarampo, caxumba e rubéola apresentaram uma média de  $3,96 \pm 0,35 \log_{10}$  CCID50/DH,  $4,94 \pm 0,13 \log_{10}$  CCID50/DH e  $3,86 \pm 0,30 \log_{10}$  CCID50/DH, respectivamente e se encontram aprovados segundo a especificação do fabricante possuindo ainda baixo coeficiente de variação.

Observa-se na figura 33 a comparação entre os atributos críticos de qualidade potência dos três vírus da vacina do experimento 1 e 2.

Figura 33 - Comparação da potência dos experimentos 1 e 2



Fonte: Autor.

Conforme figura 33, a variação no parâmetro crítico de processo pressão da câmara no experimento 2 resultou na ausência de valores extremos no atributo crítico de qualidade potência para os três vírus da vacina.

Em relação ao experimento 1, as potências de todos os vírus obtiveram uma diminuição da mediana de 4,17 para 4,02 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH o sarampo, de 5,00 para 4,93 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH para caxumba e de 3,95 para 3,93 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH.

O Teste de *Mann-Whitney* (Tabela 40) foi utilizado de forma a verificar se os resultados de potência dos vírus do experimento 2 tendem a ter valores menores do que o experimento 1 ou se eles possuem a mesma mediana com nível de significância de 5% ( $p\text{-valor} \leq 0,05$ ).

Tabela 40 - Teste de Mann-Whitney para as potências do experimento 1 e 2

ACQ	Teste de Mann-Whitney – Potência						
	Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Valid N	Valid N
Potência Sarampo	5901,50	426,50	371,50	1,41	0,16	102	10
Potência Caxumba	5839,00	489,00	434,00	0,77	0,44	102	10
Potência Rubéola	5804,50	523,50	468,50	0,42	0,68	102	10

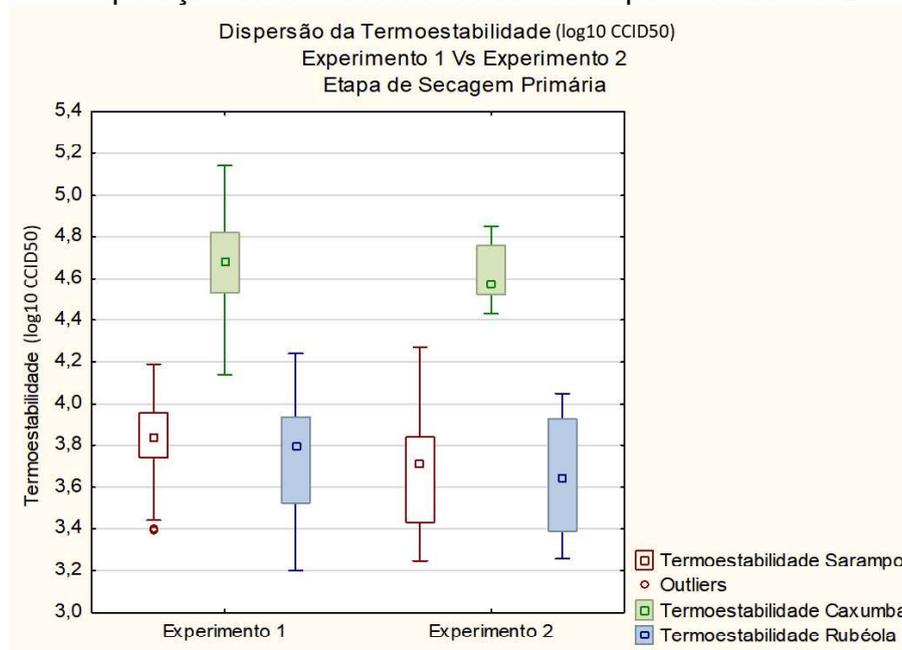
Fonte: Autor.

A comparação do experimento 2 ao experimento 1 segundo os resultados do teste de *Mann-Whitney* da tabela 40 resultou em um  $p$ -valor acima de 0,05 confirmando que não houve mudança estatística significativa com a variação da pressão da câmara.

Ao se analisar o atributo crítico de qualidade termoestabilidade dos vírus, segundo a tabela 38 os resultados para os vírus de sarampo, caxumba e rubéola apresentaram uma média de  $3,69 \pm 0,31$  log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH,  $4,63 \pm 0,14$  log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH e  $3,67 \pm 0,28$  log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH, respectivamente e se encontram aprovados segundo a especificação do fabricante possuindo ainda baixo coeficiente de variação. A figura 34 demonstra a comparação entre os atributos

críticos de qualidade termoestabilidade dos três vírus da vacina do experimento 1 e 2.

Figura 34 - Comparação da termoestabilidade dos experimentos 1 e 2



Fonte: Autor.

Na figura 34, observa-se que a variação no parâmetro crítico de processo pressão da câmara no experimento 2 a ausência de valores extremos no atributo crítico de qualidade termoestabilidade para os três vírus da vacina. Em relação ao experimento 1, as termoestabilidades de todos os vírus obtiveram uma diminuição da mediana de 3,84 para 3,71 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH o sarampo, de 4,68 para 4,58 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH para caxumba e de 3,80 para 3,65 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH.

O Teste de *Mann-Whitney* foi utilizado de forma a verificar se os resultados de termoestabilidade dos vírus do experimento 2 tendem a ter valores maiores do que o experimento 1 ou se eles possuem a mesma mediana com nível de significância de 5% ( $p$ -valor  $\leq 0,05$ ) conforme tabela 41.

Tabela 41 - Teste de Mann-Whitney para a termoestabilidade da etapa de congelamento

ACQ	Teste de Mann-Whitney - Termoestabilidade						
	Significância para $p < ,05000$						
	Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Valid N	Valid N
Termoestabilidade Sarampo	5941,50	386,50	331,50	1,82	0,07	102	10
Termoestabilidade Caxumba	5833,50	494,50	439,50	0,71	0,48	102	10
Termoestabilidade Rubéola	5848,00	480,00	425,00	0,86	0,39	102	10

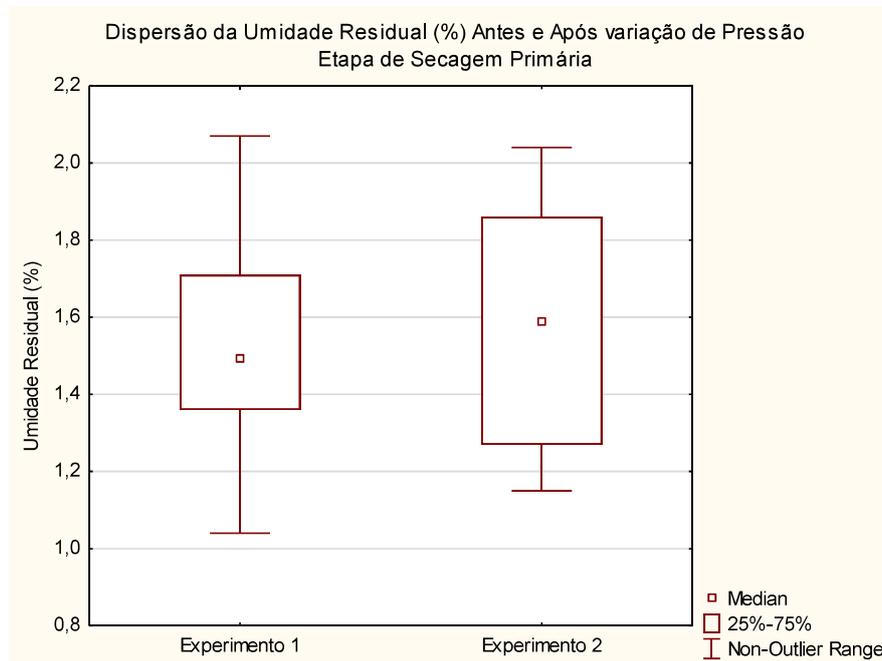
Fonte: Autor.

Segundo os resultados do teste de *Mann-Whitney* da tabela 41 nenhum resultado apresentou um  $p$ -valor  $\leq 0,05$ . Assim como a potência dos vírus, a variação de pressão na câmara não resultou em mudança estatística significativa nesse atributo crítico de qualidade.

Para o atributo crítico de qualidade umidade residual, o valor de  $1,59 \pm 0,30\%$  foi observado e, se encontra de acordo com o valor máximo da especificação do fabricante.

Uma menor dispersão dos resultados de umidade residual pode ser verificada na figura 35.

Figura 35 - Comparação dos resultados de umidade residual dos experimentos 1 e 2

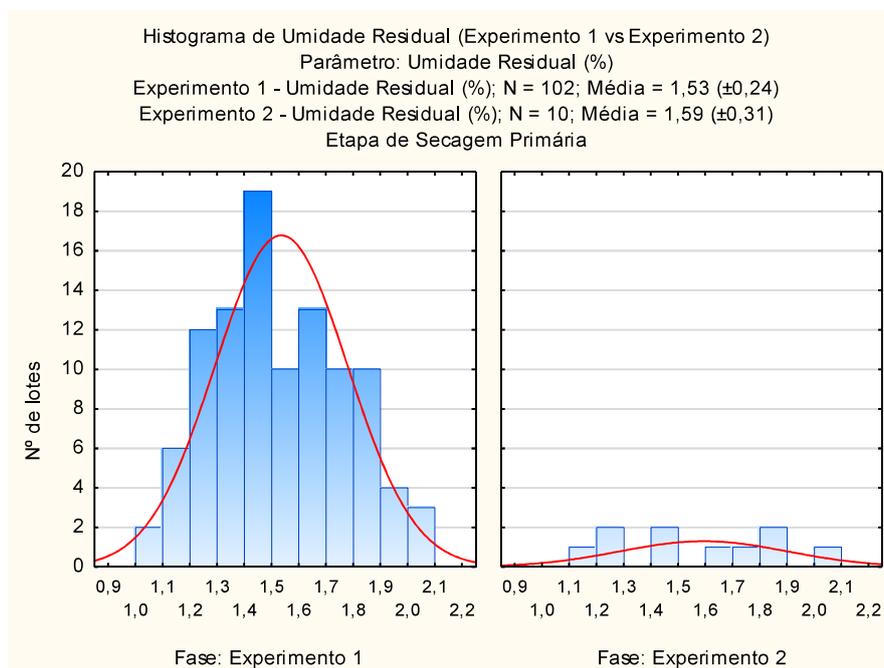


Fonte: Autor.

Segundo a figura 35, uma menor dispersão dos resultados de umidade residual pode ser observada uma vez que o desvio padrão e coeficiente de variação diminuíram para esse experimento.

A figura 36 demonstra a comparação entre a distribuição de umidade residual do experimento 1 e 2.

Figura 36 - Comparação entre a distribuição de umidade residual do experimento 1 e 2



Fonte: Autor.

De acordo com a figura 36, a especificação para a umidade residual para o experimento 2 é atendida ( $\leq 2,5\%$ ). No entanto, após as variações ocorridas no parâmetro crítico de processo pressão da câmara uma maior variabilidade foi observada em relação ao experimento 1. O aumento de variabilidade de 15,81% para 19,25% traz uma incerteza maior na repetibilidade dos resultados de umidade residual por lote.

A tabela 42 demonstra o resultado do teste de *Mann-Whitney* utilizado de forma a comparar estatisticamente os resultados de umidade residual do experimento 1 ao experimento 2 relativo a umidade residual.

Tabela 42 - Teste de Mann-Whitney para a umidade residual dos experimentos 1 e 2

ACQ	Teste de Mann-Whitney – Rendimento						
	Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Valid N	Valid N
Umidade Residual	5698,50	629,50	445,50	-0,65	0,51	102	10

Fonte: Autor.

A umidade residual do experimento 2 foi comparado ao do experimento 1 e, segundo os resultados do teste de *Mann-Whitney* da tabela 42, um  $p$ -valor  $\leq 0,05$  não foi observado. Assim, as variações ocorridas de pressão da câmara ocorridas no experimento 2 não representaram significância estatística.

#### 4.6.3 Experimento 3 (etapa de secagem secundária)

Para o histórico dos resultados do processo da etapa de secagem secundária do ciclo de liofilização da vacina tríplice se encontravam disponíveis no banco de dados somente 10 lotes comerciais onde durante a etapa de secagem secundária ocorreram não conformidades relativas ao parâmetro crítico de processo pressão da câmara do equipamento de liofilização e seus atributos críticos de qualidade aprovados pelo controle de qualidade antes da modificação dos parâmetros críticos temperatura e tempo da etapa de congelamento do ciclo de liofilização estudada anteriormente no experimento 1.

A análise descritiva foi realizada para avaliar o comportamento do rendimento e do atributo de qualidade umidade residual. A aderência a curva normal e a presença de resultados extremos foram verificados, por meio dos testes *Shapiro-Wilk* e *Grubbs* respectivamente demonstrando que a rendimento e os atributos críticos de qualidade não aderem a distribuição normal e que valores extremos não se encontram presentes.

Desta forma, optou-se por uma abordagem não-paramétrica e seus resultados se encontram na tabela 43.

Tabela 43 - Resultados de rendimento e Atributos Críticos de Qualidade antes da mudança dos parâmetros críticos de processo na etapa de secagem

PCP, rendimento, ACQ	Fase=Antes da mudança Estatística descritiva						
	Nº lotes	Média	Desvio-padrão	Coef.Var.	Mediana	Mínimo	Máximo
Pressão	10	19,20	2,69	14,06	20,00	15,00	25,00
Rendimento	10	91,30	3,22	3,53	90,45	86,41	96,34
Potência Sarampo	10	3,92	0,15	3,90	3,87	3,79	4,26
Potência Caxumba	10	5,12	0,13	2,45	5,09	4,96	5,28
Potência Rubéola	10	3,88	0,09	2,44	3,86	3,78	4,07
Termo estabilidade Sarampo	10	3,66	0,18	4,81	3,71	3,38	3,91
Termo estabilidade Caxumba	10	4,76	0,16	3,39	4,78	4,52	5,05
Termo estabilidade Rubéola	10	3,67	0,11	2,88	3,66	3,53	3,89
Umidade Residual	10	1,53	0,28	18,27	1,48	1,26	1,93

Fonte: Autor.

O histórico desses lotes demonstrou para a rendimento dos lotes uma média de  $91,30 \pm 3,22\%$ , conforme tabela 43. Ao se realizar a comparação com o histórico da etapa de congelamento (média de rendimento  $93,21 \pm 2,86\%$ ) onde se utilizou os mesmos parâmetros críticos sem não conformidades, verifica-se que o parâmetro crítico de processo pressão ao possuir uma média de  $19,20 \pm 2,69\mu\text{Hg}$  possui influência negativa no rendimento dos lotes aumentando a perda média de 7,79% para 8,70% representando, assim, um aumento das perdas em 3.276 doses de vacina por lote. Esse resultado corrobora com as análises de risco realizadas comprovando a pressão como um parâmetro crítico de processo.

Após análise estatística, a potência dos vírus de sarampo, caxumba e rubéola apresentaram um média de  $3,92 \pm 0,15 \log_{10} \text{CCID}_{50}/\text{DH}$ ,  $5,12 \pm 0,132 \log_{10} \text{CCID}_{50}/\text{DH}$  e  $3,88 \pm 0,09 \log_{10} \text{CCID}_{50}/\text{DH}$ , respectivamente. Os resultados se encontram aprovados segundo a especificação do fabricante possuindo ainda coeficiente de variação com baixa dispersão.

A termoestabilidade dos vírus de sarampo, caxumba e rubéola apresentaram uma média de  $3,66 \pm 0,18 \log_{10} \text{CCID}_{50}/\text{DH}$ ,  $4,76 \pm 0,16 \log_{10} \text{CCID}_{50}/\text{DH}$  e  $3,67 \pm 0,11 \log_{10} \text{CCID}_{50}/\text{DH}$ , respectivamente. Os resultados se encontram aprovados segundo a especificação do fabricante possuindo ainda coeficiente de variação com baixa dispersão, pois são menores que 10%.

Verificou-se também a relação entre as variações e a umidade residual. A média de umidade residual após análise estatística foi de  $1,53 \pm 0,28\%$  sendo superior à média de umidade residual dos lotes onde não houve a variação de pressão na câmara ( $1,45 \pm 0,33\%$ ).

Para medidas de ação objetivando a redução do risco, realizou-se o experimento 3 utilizando-se 6 lotes que se encontravam disponíveis no banco de dados onde houve variações do parâmetro crítico de processo pressão da câmara do liofilizador na etapa de secagem secundária após as modificações sugeridas no experimento 1, a fim de testar a hipótese que essas variações não influenciariam os ACQ.

Assim, os 6 lotes comerciais foram agrupados e examinados durante a etapa de secagem secundária onde ocorreram não conformidades relativas ao parâmetro crítico de processo pressão acima da controlada pelo equipamento de  $11 \pm 3 \mu\text{Hg}$ . A avaliação estatística dos lotes demonstrou que os dados não apresentam uma distribuição normal. Assim os resultados não paramétricos dos lotes foram agrupados e examinados estatisticamente (Tabela 44).

Tabela 44 - Resultados de rendimento e atributos críticos de processo após a mudança dos parâmetros críticos de processo na etapa de congelamento e não conformidade no parâmetro pressão

PCP, rendimento, ACQ	Fase=Após a mudança Estatística descritiva						
	Nº lotes	Média	Desvio-padrão	Coef.Var.	Mediana	Mínimo	Máximo
Pressão	6	24,66	3,44	13,95	26,00	20,00	29,00
Rendimento	6	95,88	2,74	2,86	97,55	92,00	97,80
Potência Sarampo	6	4,16	0,16	3,91	4,20	3,91	4,32
Potência Caxumba	6	5,02	0,16	3,22	5,06	4,73	5,17
Potência Rubéola	6	3,99	0,16	4,13	3,99	3,74	4,23
Termo estabilidade Sarampo	6	3,89	0,08	2,04	3,89	3,77	3,98
Termo estabilidade Caxumba	6	4,80	0,18	3,69	4,79	4,58	5,05
Termo estabilidade Rubéola	6	3,87	0,17	4,46	3,91	3,55	4,03
Umidade Residual	6	1,46	0,08	5,90	1,44	1,38	1,59

Fonte: Autor.

Conforme tabela 44, o experimento 3 demonstrou para a rendimento dos lotes uma média de  $95,88 \pm 2,74\%$  com o parâmetro crítico de processo pressão variando de  $24,66 \pm 3,44\mu\text{Hg}$ .

Verifica-se que mesmo com uma variação maior de pressão nos lotes do experimento 3 após modificações na etapa de congelamento, a influência do parâmetro crítico de processo pressão foi reduzida para esses lotes. O rendimento se aproximou aos lotes do experimento 1 ( $96,23 \pm 1,66\%$ ) onde a pressão é controlada em  $11 \pm 3 \mu\text{Hg}$  pelo equipamento.

A tabela 45 demonstra o resultado do teste de *Mann-Whitney* utilizado de forma a comparar estatisticamente os resultados de rendimento do experimento 3 e 4.

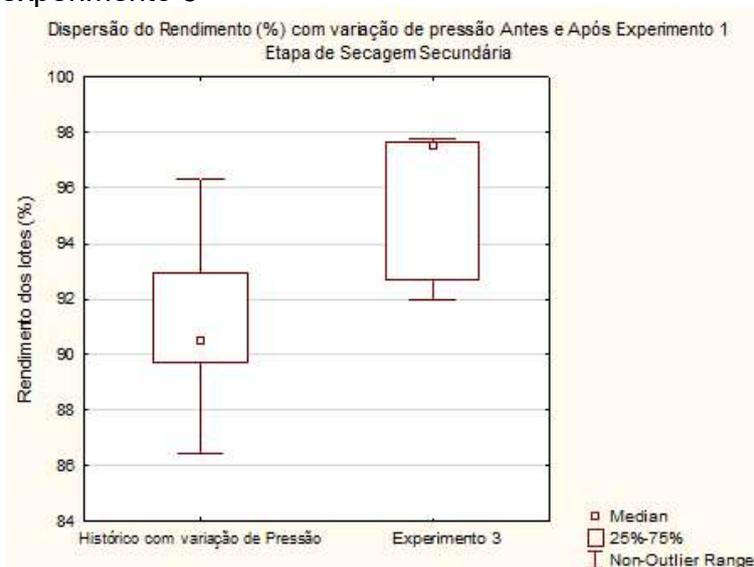
Tabela 45 - Teste de Mann-Whitney para a rendimento dos lotes no experimento 3

Rendimento	Teste de Mann-Whitney – Rendimento						
	Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Valid N	Valid N
Rendimento	62,00	74,00	7,00	-2,44047	-244047	10	6

Fonte: Autor.

O experimento 3 foi comparado ao seu histórico relativo à etapa de secagem secundária e segundo os resultados do teste de *Mann-Whitney* da tabela 45 para o rendimento um p-valor  $\leq 0,05$  foi observado confirmando que houve mudança estatística significativa para a rendimento dos lotes após variação da pressão da câmara conforme demonstrado graficamente na figura 37.

Figura 37 - Comparação das medianas de rendimento do histórico com variação de pressão e experimento 3



Fonte: Autor.

A mediana de rendimento do experimento 3 apresentou resultado de 97,55% e coeficiente de variação 2,86% enquanto para o histórico os valores de rendimento e coeficiente de variação foram 90,45% e 3,22%, respectivamente conforme figura 37.

Assim, as mudanças ocorridas na etapa de congelamento também permitiram uma maior faixa de operação do equipamento quanto a pressão da câmara do equipamento com diminuição inferior a 1% ao se comparar com o histórico dos lotes com variação de pressão.

A potência dos vírus de sarampo, caxumba e rubéola apresentaram um média de  $4,16 \pm 0,16 \log_{10}$  CCID50/DH,  $5,02 \pm 0,16 \log_{10}$  CCID50/DH e  $3,99 \pm 0,08 \log_{10}$  CCID50/DH, respectivamente. Os resultados se encontram aprovados segundo a especificação do fabricante possuindo ainda coeficiente de variação com baixa dispersão.

A tabela 46 demonstra o resultado do teste de *Mann-Whitney* utilizado de forma a comparar estatisticamente os resultados de potência dos componentes virais do histórico e experimento 3.

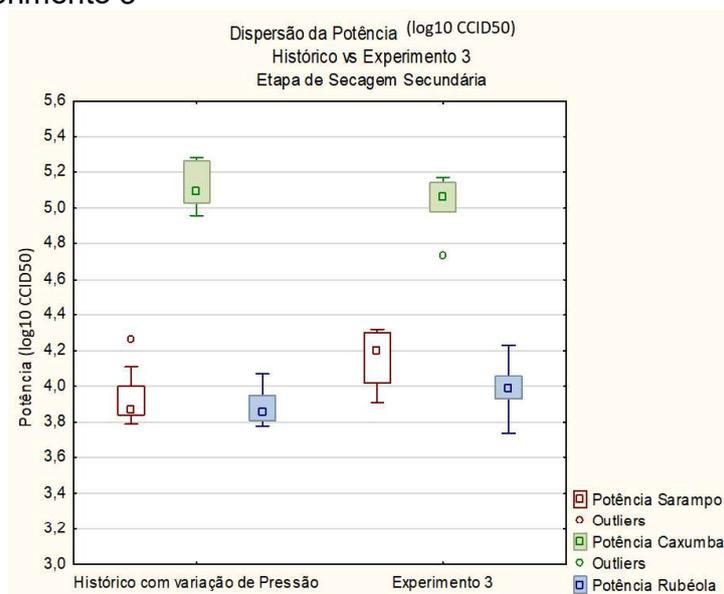
Tabela 46 - Teste de Mann-Whitney para o histórico do rendimento e experimento 3

ACQ	Teste de Mann-Whitney – Potência Significância para $p < ,05000$						
	Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Valid N	Valid N
Potência Sarampo	62,00	74,00	7,00000	-2,44047	0,014669	10	6
Potência Caxumba	93,00000	43,00000	22,00000	0,81349	0,415938	10	6
Potência Rubéola	75,00000	61,00000	20,00000	-1,03042	0,302814	10	6

Fonte: Autor.

Segundo os resultados do teste de *Mann-Whitney* da tabela 46 para a potência de sarampo um p-valor  $\leq 0,05$  foi observado confirmando que houve mudança estatística significativa ao se comparar com o experimento 1 com um aumento de 0,23 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH. No entanto, para as potências de caxumba e rubéola a variação de pressão não produziu alterações significativas nesses atributos críticos de qualidade. As potências dos componentes virais dos lotes após variação da pressão da câmara são demonstrados graficamente na figura 38.

Figura 38 - Comparação das medianas de potência do histórico com variação de pressão e experimento 3



Fonte: Autor.

A mediana da potência de sarampo do experimento 3 apresentou resultado de 4,20 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH e coeficiente de variação 3,91% enquanto para o histórico os valores de rendimento e coeficiente de variação foram 3,87 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH e 3,90%, respectivamente conforme figura 38.

Assim, as mudanças ocorridas na etapa de congelamento também permitiram uma variação maior na pressão da câmara do equipamento sem alteração significativa das potências de caxumba e rubéola.

A termoestabilidade dos vírus de sarampo, caxumba e rubéola apresentaram uma média de 3,89 ± 0,08 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH, 4,80 ± 0,18 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH e 3,87 ± 0,17 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH, respectivamente. Os resultados se encontram aprovados segundo a especificação do fabricante possuindo ainda coeficiente de variação com baixa dispersão, pois são menores que 10%.

A tabela 47 demonstra o resultado do teste de *Mann-Whitney* utilizado de forma a comparar estatisticamente os resultados de termoestabilidade dos componentes virais do histórico e experimento 3.

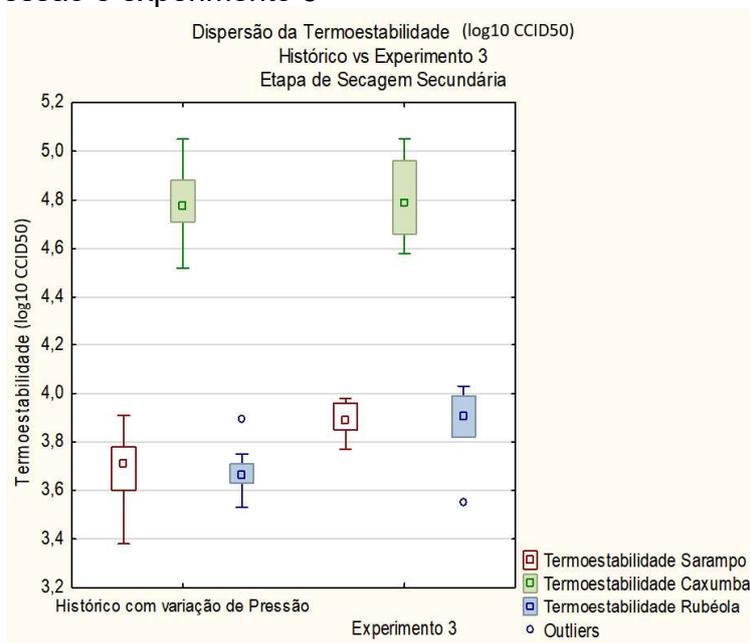
Tabela 47 - Teste de Mann-Whitney para o histórico de rendimento do experimento 3

ACQ	Teste de Mann-Whitney – Termoestabilidade						
	Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Valid N	Valid N
Termoestabilidade Sarampo	61,00000	75,00000	6,00000	-2,54893	0,010403	10	6
Termoestabilidade Caxumba	81,00000	55,00000	26,00000	-0,37963	0,703180	10	6
Termoestabilidade Rubéola	65,00000	71,00000	10,00000	-2,11507	0,034028	10	6

Fonte: Autor.

Os resultados do histórico e do experimento 3 foram comparados e segundo os resultados do teste de *Mann-Whitney* da tabela 47 para as termoestabilidades de sarampo e rubéola um p-valor ≤ 0,05 foi observado confirmando que houve mudança estatística significativa da termoestabilidade dos lotes após variação da pressão da câmara conforme demonstrado graficamente na figura 39. A termoestabilidade da caxumba não apresentou mudança significativa estatisticamente.

Figura 39 - Comparação das medianas de termoestabilidade do histórico com variação de pressão e experimento 3



Fonte: Autor.

A mediana de termoestabilidade de sarampo e rubéola do experimento 3 apresentou resultado de 3,89 e 3,91 log<sub>10</sub> CCID<sub>50</sub>/DH, respectivamente. Ao se comparar ao histórico, ambas as termoestabilidades tiveram um aumento significativo com coeficientes de variação menores conforme figura 39.

Assim, as mudanças ocorridas na etapa de congelamento também permitiram que, após uma variação maior na pressão da câmara do equipamento, a termoestabilidade de caxumba não fosse significativamente alterada enquanto os resultados para a termoestabilidade de sarampo e rubéola fossem maiores e com menor variação ao em torno da média.

A análise estatística para a umidade residual para o experimento 3 obteve média de valores de  $1,46 \pm 0,08\%$ . Novamente, verifica-se a variação maior de pressão nos lotes do experimento 3 resulta em uma influência reduzida para esses lotes. Houve também diminuição da variabilidade da umidade residual ao se comparar com a média histórica de umidade residual ( $1,53 \pm 0,28\%$ ).

Para o atributo crítico de qualidade umidade residual, o histórico e o experimento 3 foram comparados segundo o teste de *Mann-Whitney* na tabela 48.

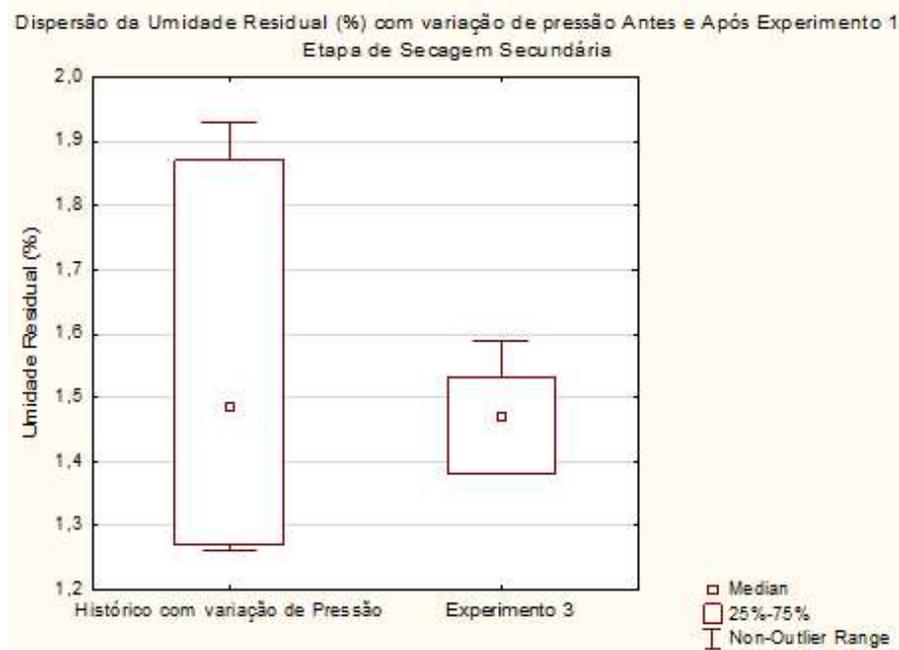
Tabela 48 - Teste de Mann-Whitney para o histórico de umidade residual e experimento 3

ACQ	Teste de Mann-Whitney – Umidade Residual						
	Rank Sum	Rank Sum	U	Z	p-value	Valid N	Valid N
Umidade Residual	86,0000	50,0000	29,0000	0,054233	0,956622	10	6

Fonte: Autor.

Segundo os resultados do teste de *Mann-Whitney* da tabela 48, a umidade residual apresentou um p-valor  $> 0,05$  confirmando, assim, a não significância estatística que as alterações nos parâmetros críticos de processo resultaram sob a umidade residual dos lotes, sendo observado graficamente na figura 40.

Figura 40 - Comparação da umidade residual do histórico com variação de pressão e experimento 3



Fonte: Autor.

Segundo a figura 40, uma menor dispersão dos resultados de umidade residual pode ser observada para o experimento 1 em relação ao histórico uma vez que o desvio padrão e coeficiente de variação diminuíram. Assim, a influência da variação de pressão na etapa de secagem secundária não afetou

significativamente a mediana da umidade residual dos lotes. No entanto, a diminuição do desvio padrão em relação ao histórico (0,28%) para o experimento 4 (0,08%) é desejável.

Uma vez que todos os atributos críticos de qualidade dos 3 experimentos se encontram conforme especificação, a tabela 49 demonstra o histórico e o resumo dos rendimentos obtidos dos experimentos realizados em relação aos resultados dos atributos críticos de qualidade.

Tabela 49 - Resumo dos resultados dos 3 experimentos realizados

Descrição	Parâmetros Críticos de Processo analisados	Média de Rendimento (%)	Média de Potencia (log <sub>10</sub> CCID <sub>50</sub> /DH)			Média de Termoestabilidade (log <sub>10</sub> CCID <sub>50</sub> /DH)			Média de Umidade Residual (%)
			Sarampo	Caxumba	Rubéola	Sarampo	Caxumba	Rubéola	
Histórico		93,21 ± 2,86	4,03 ± 0,19	5,18 ± 0,19	3,48 ± 0,17	3,75 ± 0,18	4,86 ± 0,23	3,65 ± 0,16	1,45 ± 0,34
Experimento 1	Temperatura e tempo na etapa de congelamento.	96,23 ± 1,66	4,15 ± 0,18	4,98 ± 0,19	3,92 ± 0,24	3,84 ± 0,16	4,98 ± 0,19	3,76 ± 0,25	1,53 ± 0,24
Experimento 2	Temperatura e tempo na etapa de congelamento. Variação de pressão na etapa de secagem primária	95,12 ± 3,1	3,96 ± 0,35	4,94 ± 0,13	3,86 ± 0,30	3,69 ± 0,31	4,63 ± 0,14	3,67 ± 0,28	1,15 ± 2,04
Experimento 3	Temperatura e tempo na etapa de congelamento. Variação de pressão na etapa de secagem secundária.	95,88 ± 2,75	4,16 ± 0,16	5,02 ± 0,16	3,99 ± 0,16	3,89 ± 0,08	4,80 ± 0,18	3,87 ± 0,17	1,46 ± 0,09

Fonte: Autor.

Verifica-se na tabela 49 que todos os atributos críticos de qualidade se encontram de acordo com as especificações do fabricante para a aprovação dos lotes produzidos.

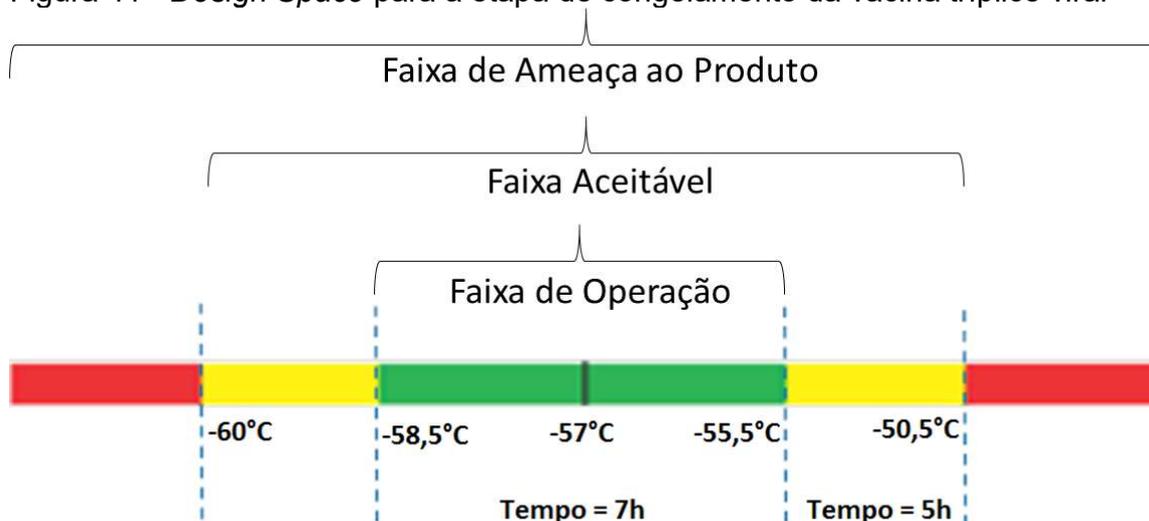
O experimento 1 apresentou a melhor média de rendimento e menor desvio padrão comparando-se com os demais experimentos e histórico dos lotes produzidos.

## 4.7 Espaço de projeto - *Design Space*

### 4.7.1 Design Space para a etapa de congelamento

O atendimento as especificações farmacopeicas dos atributos críticos de qualidade do histórico dos lotes e do experimento 1 para a etapa de congelamento para a vacina tríplice viral possibilita realizar o *Design Space* para essa etapa conforme demonstrado na figura 41.

Figura 41 - *Design Space* para a etapa de congelamento da vacina tríplice viral



Fonte: Autor.

Variações de temperatura da prateleira do liofilizador de  $-52 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$  a  $-57 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$  e tempo da etapa de congelamento entre 5 e 7h demonstram resultados dos atributos críticos de qualidade potência dos vírus e umidade residual satisfatórios e com rendimento de lotes variando de  $93,22 \pm 2,86\%$  a  $96,23 \pm 1,67\%$ . Assim, variações dos parâmetros críticos de processo temperatura e tempo na etapa de congelamento dentro das faixas citadas passam então a não representar riscos a qualidade do produto, uma vez que os conhecimentos acerca do processo nessas

faixas de operação durante a liofilização atendem as especificações dos atributos críticos de qualidade.

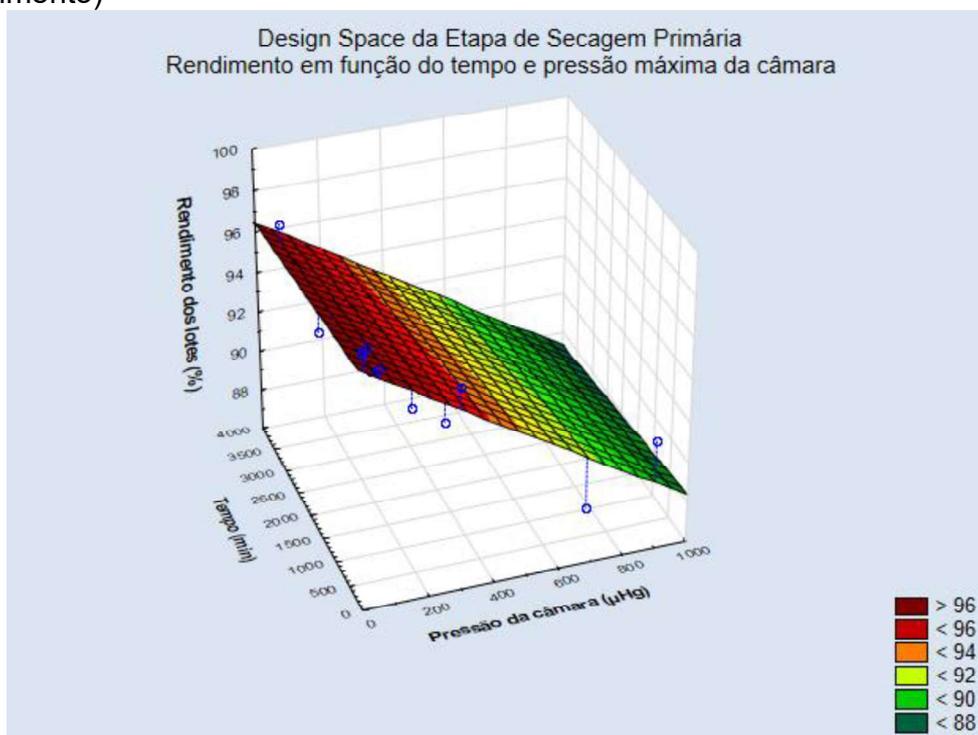
Para um maior rendimento dos lotes, os parâmetros críticos de processo devem ser ajustados para uma temperatura de prateleira de  $-57^{\circ}\text{C}$  e tempo de etapa de congelamento para 7h a fim de se obter um rendimento médio dos lotes de 96,23%. Ao se comparar com o histórico dos lotes, o ganho com a modificação dos parâmetros críticos de processo dessa etapa é de 10.872 doses de vacina/lote.

#### 4.7.2 *Design Space* para a etapa de secagem primária

A fim de se verificar a influência das variações de pressão da câmara da etapa de secagem primária em relação ao rendimento dos lotes, correlacionou-se os lotes que ocorreram variações de pressão após as modificações no experimento 1 serem realizadas em função do tempo de duração da variação e do rendimento dos lotes.

Assim, a figura 42 demonstra o *Design Space* para a etapa de secagem primária relacionando o rendimento do lote em função das variações de pressão da câmara e o tempo de duração da variação.

Figura 42 - *Design Space* para a etapa de secagem primária (pressão vs tempo vs Rendimento)



Fonte: Autor.

De acordo com a figura 42 verifica-se que variações de pressão na câmara que ocorrem em um curto intervalo de tempo não influenciam negativamente o rendimento dos lotes e se encontram com média de rendimento conforme o experimento 1 ( $96,23 \pm 1,66\%$ ).

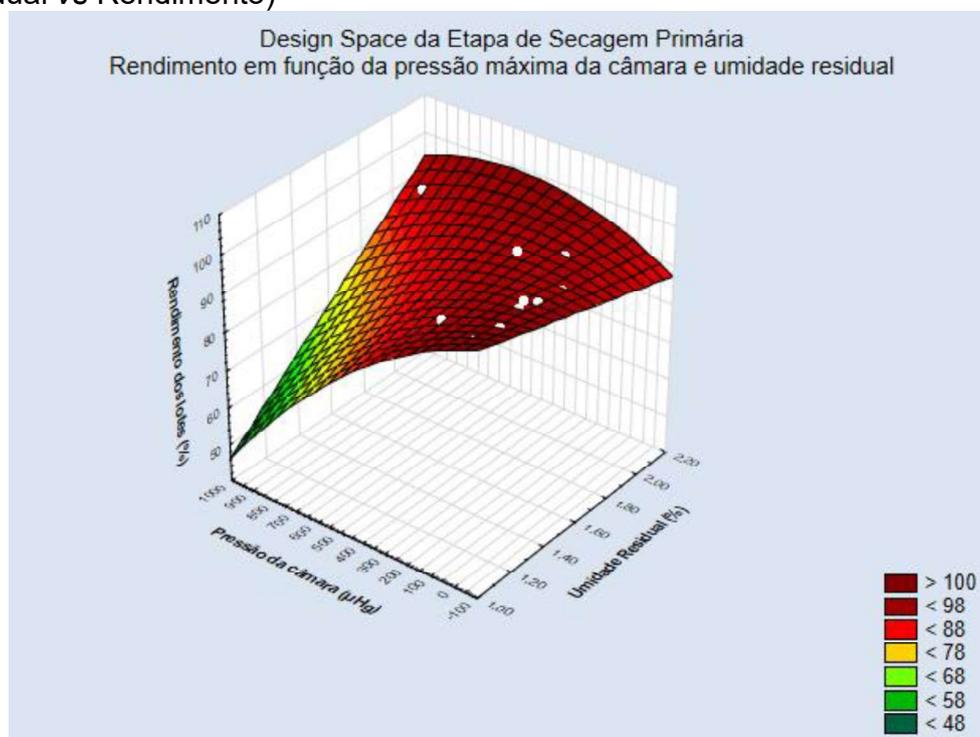
No entanto, à medida que a pressão da câmara aumenta, se afastando cada vez mais do *setpoint* de pressão da câmara da etapa de secagem primária, e sua duração é mais prolongada, observa-se um impacto negativo no rendimento dos lotes e, conseqüentemente, no aumento do número de perdas de vacina/lote.

Os valores máximos de variação encontrados em função da pressão e do tempo em que os resultados de rendimento ainda se encontravam na média do rendimento do experimento 1 foram de  $300\mu\text{Hg}$  por 10 minutos de duração com resultado de  $95,83\%$  de rendimento e de  $45\mu\text{Hg}$  por 2040 minutos de duração com resultado de  $94,94\%$  de rendimento do lote.

Em relação aos atributos críticos de qualidade dos lotes que apresentaram variações de pressão na câmara, todos os resultados atenderam as especificações de qualidade do produto acabado vacina tríplice viral.

A figura 43 demonstra o *Design Space* para a etapa de secagem primária relacionando o comportamento do rendimento do lote e atributo crítico de qualidade umidade residual quando da variação do parâmetro crítico de processo pressão da câmara.

Figura 43 - *Design Space* para a etapa de secagem primária (pressão vs Umidade Residual vs Rendimento)



Fonte: Autor.

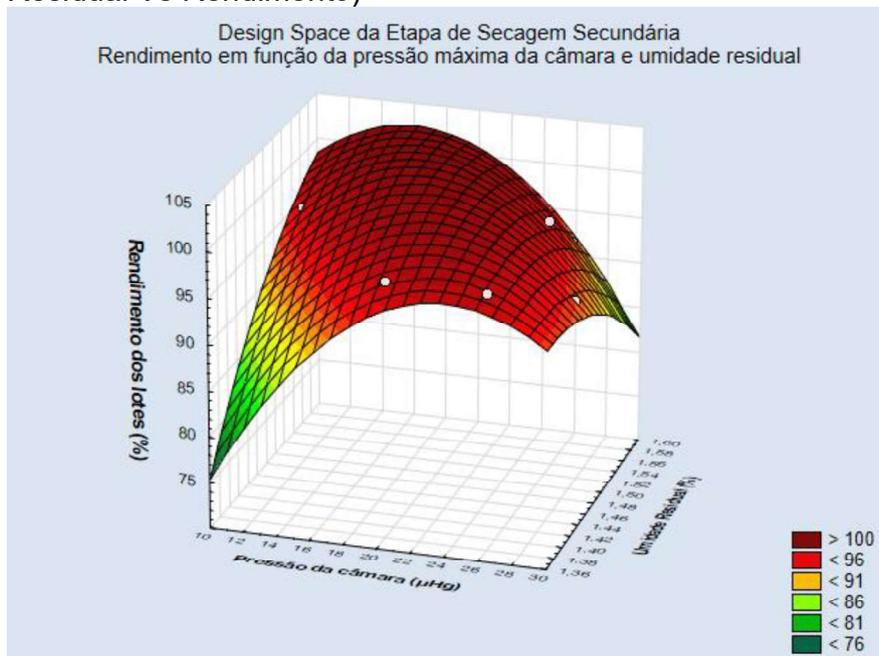
A figura 43 demonstra variações de pressão na câmara entre 12 a 900  $\mu\text{Hg}$  e os respectivos resultados esperados para a umidade residual e rendimento dos lotes. Nessa faixa de operação observa-se que todos os resultados de umidade residual se encontram segundo as especificações para o produto ( $\leq 2,5\%$ ) e, portanto, o lote fabricado com variações de pressão da câmara nessa faixa se encontraria aprovado para comercialização.

#### 4.7.3 Design Space para a etapa de secagem secundária

Para o Design Space da etapa de secagem secundária se correlacionou a variação de pressão da câmara da etapa de secagem secundária em função do rendimento dos lotes e cada atributo crítico de qualidade. Utilizou-se os resultados do experimento 1 (pressão da câmara constante e modificações nos parâmetros críticos de processo temperatura e tempo na etapa de congelamento) e o experimento 3 com suas respectivas variações de pressão. Todos os resultados de ambos os experimentos atendiam as especificações dos atributos críticos de qualidade do produto acabado vacina tríplice viral.

A figura 44 demonstra o *Design Space* para a etapa de secagem secundária relacionando o comportamento do rendimento do lote e atributo críticos de qualidade umidade residual quando da variação do parâmetro crítico de processo pressão da câmara.

Figura 44 - *Design Space* para a etapa de secagem secundária (pressão vs Umidade Residual Vs Rendimento)



Fonte: Autor.

A figura 44 demonstra variações de pressão na câmara entre 10 a 30  $\mu\text{Hg}$  e os respectivos resultados esperados para a umidade residual e rendimento dos lotes. Nessa faixa de operação observa-se que todos os resultados de umidade residual se encontram segundo as especificações para o produto ( $\leq 2,5\%$ ) e, portanto, o lote fabricado com variações de pressão da câmara nessa faixa se encontraria aprovado para comercialização.

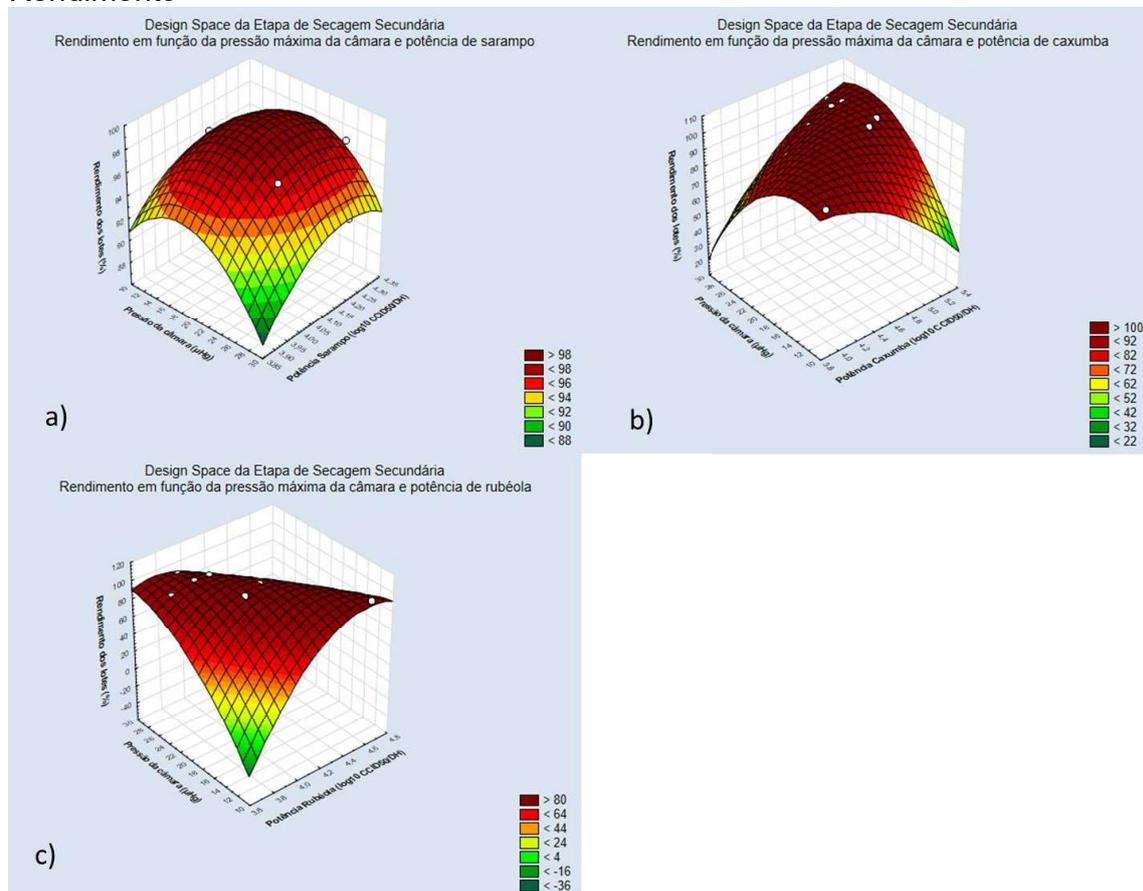
Para rendimentos maiores dos lotes, o parâmetro crítico de processo pressão deve ser ajustado para uma pressão de  $23 \pm 3 \mu\text{Hg}$  no equipamento para se obter um rendimento médio dos lotes de  $95,88 \pm 2,76\%$  ou  $11 \pm 3 \mu\text{Hg}$  para um rendimento médio de  $96,23 \pm 1,67\%$ .

Devido à dificuldade de o equipamento alcançar a pressão da câmara na faixa de  $11 \pm 3 \mu\text{Hg}$ , recomenda-se a utilização de um *setpoint* de pressão da câmara de  $23 \pm 3 \mu\text{Hg}$  para que haja uma repetibilidade dos lotes com rendimentos acima de 95,88%, representando a produção de lotes acima de 345.168 doses/lote de vacina. Esse valor representa um incremento de 9.612 doses de vacina/lote ao se comprar ao processo sem alterações sugeridas.

Adicionalmente, mantendo-se o tempo e temperatura original da etapa de secagem secundária, as variações de pressão na câmara do liofilizador na faixa de 10 a 30  $\mu\text{Hg}$  estabelecidas nesse trabalho passam então a não representar riscos de desvios na qualidade do produto mesmo que o rendimento dos lotes seja abaixo do esperado.

A figura 45 demonstra o *Design Space* para a etapa de secagem secundária relacionando o comportamento do rendimento do lote e atributo crítico de qualidade potência dos vírus da vacina quando da variação do parâmetro crítico de processo pressão da câmara.

Figura 45 - *Design Space* para a etapa de secagem secundária. a) pressão da câmara vs Potência sarampo vs Rendimento; b) pressão da câmara vs Potência caxumba vs Rendimento c) pressão da câmara vs Potência rubéola vs Rendimento



Fonte: Autor.

A figura 45 demonstra a correlação entre o parâmetro crítico de processo pressão da câmara na faixa de 10 a 30 µHg e os respectivos resultados esperados para as potências dos vírus da vacina e rendimento dos lotes. Nessa faixa de operação observa-se que os resultados de potência para os três vírus se encontram segundo as especificações para o produto e, portanto, o lote fabricado com variações de pressão da câmara nessa faixa se encontraria aprovado para comercialização.

No entanto, rendimentos de lotes acima de 97% são esperados ao se ajustar o equipamento de liofilização para controlar a pressão da câmara na faixa de 20 a 26 µHg.

## 5 DISCUSSÃO GERAL

De modo geral, a construção do *Design Space* nesse trabalho correlacionando parâmetros críticos de processo, atributos críticos de qualidade e rendimento dos lotes elevam a compreensão sobre o processo de liofilização para a vacina tríplice viral e se encontram alinhados com a perspectiva de implementação de QbD na indústria farmacêutica conforme relatado por Anurag (2014). A metodologia aqui proposta e seus resultados são uma alternativa de ganho de conhecimento sobre o processo através de investimentos baixos superando, em parte, os desafios relatados na publicação Pharma IQ (2014). No entanto, esse trabalho não descreve sobre investimentos relativos a PAT para o processo de liofilização uma vez que o equipamento é automatizado, seus parâmetros críticos de processo e temperatura do produto são continuamente monitorados.

As ferramentas de análises de risco foram utilizadas para identificar atributos críticos e parâmetros críticos de processo para a caracterização do processo a partir de um banco de dados com o histórico de lotes da vacina e, assim, foi possível propor experimentos para se obter o *Design Space* desejado semelhante a Cooper (2014) e Hass *et al.* (2014) nos seus trabalhos.

No âmbito regulatório, a integração dos resultados obtidos, suas comparações estatísticas alinhado com as análises de risco realizadas demonstram através de dados o conhecimento do fabricante e o controle que ele possui sobre o processo de liofilização da vacina tríplice viral. Os resultados se encontram alinhados com as orientações dos guias do ICH e, mais recentemente, pelas regulações da ANVISA, conforme tendência relatada por Sangshetti *et al.* (2017) e Little (2014).

A metodologia de QbD reversa foi aplicada em lotes comerciais da vacina trazendo como resultados um maior conhecimento da operação unitária de liofilização, suas falhas eventuais e riscos durante o processo, maior robustez do processo de liofilização e correlações estatísticas entre os PCP e ACQ anteriormente desconhecidos. Foi possível através da metodologia estabelecer

novos limites para parâmetros críticos de processo e, assim, ajustar os parâmetros críticos de processo da operação de liofilização da vacina tríplice viral para se obter rendimentos mais altos de doses de vacina por lote mantendo-se as especificações para os atributos críticos de qualidade e, conseqüentemente, manutenção da qualidade da vacina ao final do processo. O aumento do rendimento de vacina por lote também reflete em um fornecimento mais rápido da vacina a população brasileira em casos de epidemias, diminuiu os custos de operação e torna possível disponibilizar os equipamentos de liofilização para a produção de outros produtos do portfólio do produtor.

## CONCLUSÃO

A utilização da metodologia de QbD reverso através de um estudo de caso da vacina tríplice viral atualmente comercializada resultou em um maior conhecimento da operação unitária de liofilização, das falhas eventuais no equipamento de liofilização, dos riscos inerentes aos modos de falha durante o processo, permitindo, assim, através de um planejamento de experimentos estabelecer novos valores para os parâmetros críticos de processo de cada etapa do ciclo de liofilização da referida vacina. Os novos limites para os parâmetros críticos de processo se traduzem em uma maior margem de confiança na operação unitária de liofilização e na robustez do processo.

A metodologia de QbD reversa possibilitou reunir as informações do produto comercial através de um formulário de QTPP possibilitando descrever o perfil de qualidade do produto alvo e suas especificações farmacopeicas no início da metodologia.

O mapeamento de desvios do processamento final da vacina tríplice viral através de um banco de dados na janela temporal de 8 anos contendo informações de produção, controle de qualidade e não conformidades proporcionou a aplicação da Análise de Pareto de forma a se certificar que a operação unitária liofilização era a mais crítica do processamento final.

Através de ferramentas de análise de risco elencou-se os atributos críticos de qualidade da operação de liofilização, as falhas que podem ocorrer no equipamento de liofilização e os modos de falha durante o processo de liofilização que possam causar variação nos parâmetros críticos de processo e consequentemente nos atributos críticos de qualidade elencados. Dessa forma, a metodologia alcançou o objetivo de mapear os riscos que possam afetar os atributos críticos de qualidade e, por fim, a qualidade do produto.

O banco de dados formado foi essencial para a realização dos experimentos onde o processo original, suas não conformidades e resultados

puderam ser analisados estatisticamente de forma a se propor os experimentos realizados para cada etapa do ciclo de liofilização.

Para o experimento 1 na etapa de congelamento do ciclo de liofilização, a mudança dos parâmetros críticos de processo temperatura e tempo, antes com média de rendimento por lote de  $93,21 \pm 2,86$  proporcionou resultados médios de rendimento maiores e com desvio padrão menor, possibilitando uma diminuição de perdas/lote em média de 14.472 doses de vacina/lote. Todos os atributos críticos de qualidade para a vacina tríplice viral no experimento 1 se encontram dentro das especificações de qualidade do produto.

Para o experimento 2, foi possível mapear estatisticamente como as variações de pressão na câmara e o tempo de duração dessa variação na etapa de secagem primária podem influenciar negativamente no rendimento dos lotes. Com a construção do *design space* na etapa de secagem primária, conclui-se que variações de curta duração não alteram o rendimento dos lotes. No entanto, variações máximas de pressão da câmara de  $300\mu\text{Hg}$  por 10 minutos de duração obtém resultados médios de 95,83% de rendimento. Para uma pressão da câmara de  $45\mu\text{Hg}$  por um tempo prolongado de 2040 minutos de duração, a expectativa é de se obter rendimentos de lote de 94,94%. Uma vez que as variações de pressão da câmara e seu tempo estudados não resultaram em uma diferença de significância estatística nos atributos críticos de qualidade, o processo torna-se mais flexível e garante que os lotes possam ser liberados para comercialização sem a necessidade de permanecer em quarentena quando apresentarem rendimentos menores que o esperado.

Para o experimento 3, relativo a etapa de secagem secundária, as perdas de produto que se encontram relacionadas a variações de pressão na câmara podem ser evitadas através da combinação das mudanças realizadas no experimento 1 e um novo valor de ajuste da pressão no equipamento de liofilização de  $23 \pm 3\mu\text{Hg}$ , objetivando uma repetibilidade dos lotes com rendimentos acima de 95,88%, isto é, rendimento de lotes acima de 345.168 doses/lote de vacina representando uma expectativa de incremento de 9.612 doses de vacina/lote ao comparar ao processo sem alterações sugeridas.

A partir das análises estatísticas realizadas e a criação do *Design Space* para as etapas do ciclo de liofilização e os novos limites de operação recomendados nesse trabalho, a diminuição de perdas do processo de liofilização na ordem de 14.472 doses/lote são esperadas, significando uma disponibilidade de uma quantidade de vacina maior à população em um menor intervalo de tempo.

A importância desse trabalho na redução de perdas de produto, incrementos de produção e demonstração de novos limites para parâmetros críticos de processo e sua correlação com atributos de qualidade se encontra alinhado com os últimos boletins epidemiológicos os quais relatam grande surto de sarampo no país que se encontram em consonância com o decréscimo da cobertura vacinal (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

O fornecimento da vacina tríplice viral é de fundamental importância para atender as recomendações do Ministério da Saúde para a interrupção do surto de sarampo no Brasil através da intensificação vacinal e varredura em áreas com positividade laboratorial para sarampo e condução da vacinação de grupos de risco como profissionais da saúde, profissionais do ramo do turismo, setor hoteleiro e transportes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

A metodologia QbD reversa pode ser utilizada para outros produtos atualmente comercializados objetivando um maior conhecimento sobre o processo e as respectivas variações nos parâmetros críticos de processo que possam afetar a qualidade do produto demonstrando, assim, que o produtor possui controle sobre o seu processo robusto e, assim, ajudando em uma submissão rica em conhecimento na revalidação do registro da vacina às agências regulatórias.

## REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. *NBR ISO/31010: Gestão de Riscos – Técnicas para o processo de avaliação de riscos*. Rio de Janeiro, 2012.

ANASTASIA, G.L.; ANURAG, S.R. Regulatory Challenges in the QbD Paradigm. *BioPharm. Int.*, v. 25, 9. ed., set. 2012.

ANURAG, S.; RATHORE, R. QbD/PAT for Bioprocessing: Moving from Theory to Implementation. *Current Opinion in Chemical Engineering*, v. 6, p. 1-8, nov. 2014.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Portal da ANVISA*. Disponível em: <<http://antigo.anvisa.gov.br/noticias>>. Acesso em: 10 mar. 2017.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. *Portal da ANVISA*. Disponível em: <<http://antigo.anvisa.gov.br/noticias>>. Acesso em: 16 jan. 2019.

AWOTWE-OTOO, D.; AGARABI, C.; WU, G.K.; CASEY, E.; READ, E.; LUTE, S.; BRORSON, K.A.; KHAN, M.A.; SHAH, R.B. Quality by Design: Impact of Formulation Variables and their Interactions on Quality Attributes of a Lyophilized Monoclonal Antibody. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 438, p. 167-175, nov. 2012.

BAHRAMI, M.; BAZZAZ, D.H.; SAJJADI, S.M. Innovation and improvements in project implementation and management, using FMEA technique. *Procedia. Soc. Behav. Sci.*, v.41, p.418–425, jun. 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Diretoria Colegiada nº 17, de 16 de abril de 2010. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, n. 73, 19 de abr. 2010. Seção I, p.94.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução Diretoria Colegiada nº 16, de 28 de março de 2013. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil*, Brasília, DF, n 61, 01 abr. 2013. Seção I, p.75.

BRITO, MA. C. F.; PONTES, D.L.; *Indústria química e sociedade*. Rio Grande do Norte: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2010. 16 p. Notas de aula.

CHEN, C.; HAN D.; CAI, C.; TANG, X. An overview of liposome lyophilization and its future potential. *J Control Release*, v. 142, P. 299-311, mar. 2010.

CORRÊA, H. L.; CORRÊA, C. A. *Administração de produção e operações: manufatura e serviços: uma abordagem estratégica*. São Paulo: Atlas, 2004.

DEUS, F. J. T.; SÁ, P. F. G. Evolução da normatização de boas práticas de fabricação (BPF) e o seu impacto na qualidade de medicamentos comercializados no Brasil. In: MOSTRA DE PRODUÇÃO CIENTÍFICA DA PÓS-GRADUAÇÃO LATO SENSO PUC-GOIÁS, 6., 2011, Goiás.

FAGUNDES, R. O. *Implantação do guia ICH Q8(R2): o processo de desenvolvimento farmacêutico sob uma abordagem científica e de gerenciamento de risco de qualidade*. 2012. 124f. Dissertação (Mestrado Profissional em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica) – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2012.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5. ed. Brasília: ANVISA, 2010.

FISSORE, D.; PISANO, R., BARRESI, A. Applying Quality by Design to Develop a Coffee Freeze-Drying Process. *Journal of Food and Engineering*, v. 123, p. 179-187, jan. 2014.

FITCH, J. A New Look at Criticality Analysis for Machinery Lubrication. *Machinery Lubrication*, ed. 4/2013, abr. 2013.

FOOD and Drug Administration, FDA. Department of Health and Human Services. *Pharmaceutical cGMPs for the 21st century- A risk-based approach: final report*. 2004. Disponível em: <<https://www.fda.gov/media/77391/download>>. Acesso em: 16 fev. 2018

FOOD and Drug Administration, FDA. *A History of the FDA and Drug Regulation in the United States*. Disponível em: <<https://www.fda.gov/about-fda/fda-history/milestones-us-food-and-drug-law>>. Acesso em: 20 fev. 2018.

FRANKS, F.; AUFFRET, T. *Freeze-Drying of Pharmaceuticals and Biopharmaceuticals*. Londres: Royal Society of Chemistry, 2007.

FRASER, J. *Solving the Quality by Design Dilemma*. Disponível em: <<https://www.qualitydigest.com/inside/quality-insider-article/solving-quality-design-dilemma-010412.html>>. Acesso em: 10 abr. 2019.

PHARMA IQ. *Process Analytical Technologies (PAT) and Quality by Design (QbD) Overview*. Disponível em: <<http://www.pharma-iq.com/pre-clinical-discovery-and-development/articles/key-benefits-of-patand-qbd-implementation/>>. Acesso em: 23 fev. 2018.

FREIXEIRO, P.; DIÉGUEZ-CASAL, E.; COSTOYA, L.; SEIJO, B.; FERREIRÓS, C.M.; CRIADO, M.T.; SÁNCHEZ, S. Study of the stability of *proteoliposomes* as vehicles for vaccines against *Neisseria meningitidis* based on recombinant porin complexes. *Int. J. Pharm.*, v. 443, p. 1-8, jan. 2013.

GUPTA, P. R.; SHENDE, M. A.; SHAIKH, D. M. Ordinal Logistic Regression Model of Failure Mode and Effect Analysis (FMEA) in Direct Compressible Buccal Tablet. *International Journal of Pharma Research & Review*, v. 2, Issue 6, p. 9-17, jun. 2013.

HASS, J.; FRANKLIN, A.; HOUSER, M.; MARALDO, D.; MIKOLA, M.; ORTIZ, R.; SULLIVAN, E.; OTERO, J.M. Implementation of QbD for the Development of a Vaccine Candidate. *Vaccine*, v. 32, p. 2927-2930, maio 2014.

HERRERA, M.A.de la O; Luna, A. S.; COSTA, A.C.A; LEMES, E. M. B. A structural approach to the HAZOP – Hazard and operability technique in the biopharmaceutical industry. *Journal of Loss Prevention in the Process Industries*, v. 35, p. 1-11, maio 2015.

HUANG, J.; KAUL, G.; CAI, C.; CHATLAPALLI, R.; HERNANDEZ-ABAD, P.; GOSH, K.; NAGI, A. Quality by design case study: An integrated multivariate approach to drug product and process development. *Int. J. Pharm.*, v. 382 p. 23-32, dez. 2009.

HUBERT, C.; LEBRUN, P.; HOUARI, S. ZIEMONS; E., ROZET; E., HUBERT. Improvement of a Stability-indicating Method by Quality by Design Versus Quality-by-testing: A Case of Learning Process. *Journal of Pharmaceuticals and Biomedicals Analysis*, v. 88, p. 401-409, out. 2014.

IMA *Operational Manual Lyomax 21 Industrial Freeze Dryer System*. Tonawanda: IMA, 2008.

VACINA SARAMPO, CAXUMBA E RUBÉOLA (ATENUADA): Pó liofilizado. Responsável técnico Maria da Luz F. Leal. Rio de Janeiro: Fiocruz/Bio-Manguinhos, 2021.

INSTITUTO de Tecnologia em Imunobiológicos - Bio-Manguinhos. *Portfólio: produtos e serviços tecnológicos de Bio-Manguinhos/Fiocruz: Há um pouco de Bio em cada brasileiro*. [Rio de Janeiro]: Ministério da Saúde: Fundação Oswaldo Cruz, [2019]. Disponível em: <<https://www.bio.fiocruz.br/images/portfolio-bio-fiocruz-2019.pdf>>. Acesso em: 20 jun. 2019.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE. Disponível em: <<http://www.ich.org/about/history.html>>. Acesso em: 20 jan. 2017.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE. *Q8(R1) Pharmaceutical Development: ICH Harmonised Tripartite Guideline*. Genebra, 2005.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE. *Q9 Quality Risk Management*: ICH Harmonised tripartite guideline. Genebra, 2005.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE. *Q10 Pharmaceutical Quality System*: ICH Harmonised Tripartite Guideline. Genebra, 2008.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE. *Q11 Desenvolvimento e Fabricação de Medicamentos*: ICH Harmonised Tripartite Guideline. Genebra, 2012.

INTERNATIONAL Electrotechnical Commission. *IEC 61882*: Hazard and operability studies (HAZOP studies) - Application guide. 2b. ed. Suíça: IEC, 2016.

INTERNATIONAL Electrotechnical Commission. *IEC 60812*: Analysis techniques for system reliability – procedure for failure mode and effect analysis (FMEA). 3b. ed. Genebra: IEC, 2018.

JURAN, J. M. *Juran on Quality by Design: The New Steps for Planning Quality into Goods and Services*. New York: Free Press, 1992.

JURAN, J. M. *Juran's Quality Handbook*. 6. ed. New York: McGraw-Hill, 2010.

KASPER, J. C.; FRIESS, W. The freezing step in lyophilization: Physico-chemical fundamentals, freezing methods and consequences on process performance and quality attributes of biopharmaceuticals. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 78, p. 248-263, jun. 2011.

LEANDRO, J. A.; SANTOS, F. L. História da talidomida no Brasil a partir da mídia impressa (1959-1962). *Saúde Soc. São Paulo*, v.24, n.3, p.991- 1005, dez. 2015.

LEBRUN, P.; KRIER F.; MANTANUS J.; GROHFANZ H.; YANG M.; ROZET E.; BOULANGER B.; EVRARD B.; RANTANEN J.; HUBERT P. Design Space Approach in the Optimization of The Spray-Drying Process. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 80, p. 226-234, jun. 2012.

LITTLE, T.A. Essentials in Quality By Design. *BioProcess International*, v. 12(3), p.1, mar. 2014.

LUCCHESI, G. A Internacionalização da Regulamentação Sanitária. *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 8, p. 537-555, fev. 2003.

MARINER, J.C.; HOUSE, J.A.; SOLLID, A.E.; STEM C.; VAN DEN ENDE M.; MEBUS C.A. Comparison of the effect of various chemical stabilizers and lyophilization cycles on the thermostability of a vero cell-adapted rinderpest vaccine. *Veter Microbiol.*, v. 21, p. 195-209, jan. 1990.

MATTHEWS, S. J.; McCOY, C. Thalidomide: a review of approved and investigation uses. *Clinical Therapeutics*, v. 25, p. 342-395, fev. 2003.

MAYERESSE, Y. Challenges and Opportunities When Scaling Up Your Lyophilized Pharmaceutical Products. In. SPSCIENTIFIC WEBMINAR, 2012. Challenges and Opportunities When Scaling Up Your Lyophilized Pharmaceutical Products. Disponível em: <<https://www.spscientific.com/Challenges-Ops-in-Scale-Up/>>. Acesso em: 12 ago. 2019.

MENDIVIL, S.; BURNS, A. Quality by Design: Current Regulatory Status and Future Challenges. *BioProcess International*, v. 7, p. 84–87, fev. 2009.

MENDONÇA, D.M. *Avaliação dos riscos associados ao processo de obtenção da partícula calibradora e controle positivo do Kit NAT HIV/HCV de Bio-Manguinhos / Fiocruz*. 2013. 153 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Tecnologia de Imunobiológicos) – Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.

MINISTÉRIO da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde *Boletim Epidemiológico* 15, 2008. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br>>. Acesso em: 20 mar. 2018.

MINISTÉRIO da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Informe 34*, 2018. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br>> Acesso em janeiro 2019>. Acesso em: 21 dez. 2018.

MINISTÉRIO da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Informe 46*, 2019. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br>> Acesso em setembro 2019>. Acesso em: 11 nov. 2019.

MINISTÉRIO da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Boletim Epidemiológico* 29, v. 50, 2019. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br>>. Acesso em: 12 jan. 2020.

NEVES, A.S; LUNA, A.; COSTA, A. Optimization of a freeze-drying cycle of a viral vaccine based on changes in temperature, time, and geometry of the vials. *J App Pharm Sci*, v. 5 (Suppl 2), p. 022-029, set. 2015.

NEVES, A.S. *Otimização do ciclo de liofilização de uma vacina viral*. 2013. 120 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2013.

OETJEN, G.; HASELEY, P. *Freeze-Drying*. 3. ed., Alemanha: Wiley-VCH, 2017.

OLIVEIRA, M.A.; BERMUDEZ, J.A.Z.; SOUZA, A.C.M. Talidomida no Brasil: vigilância com responsabilidade compartilhada? *Caderno de Saúde Pública*, v. 15(1), p. 99-112, jan. 1999.

PIKAL, M.J.; SHAH S.; ROY M.L.; PUTMAN R. The secondary drying stage of freeze-drying – drying kinetics as a function of temperature and chamber pressure. *Int. J. Pharm.*, v. 60, p. 203–217, maio 1990

PHARMA IQ. *Process Analytical Technologies (PAT) and Quality by Design (QbD) Overview*. Disponível em: <<http://www.pharma-iq.com/pre-clinical-discovery-and-development/articles/key-benefits-of-patand-qbd-implementation/>>. Acesso em: 18 fev. 2018.

POLITICINDIA. Market analysis of global pharmaceutical industries and trend estimation 2015. *PoliticIndia Research*, jun. 2020.

QUINTELLA, M.C. *Adaptação e Aplicação da Técnica HAZOP na Identificação de Risco na Área de Serviço de Saúde: Estudo de Caso HEMOCENTRO/UNICAMP*. 2011. 114 f. Dissertação (Doutorado em Engenharia de Processos) – Faculdade de Engenharia Química – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2011.

PEETERMANS, J. Factors affecting the stability of viral vaccines. *Dev. Biol. Stand.*, v. 87, p. 97-101, jan. 1996.

RATHORE, A. S.; WINKLE, H. Quality by design for biopharmaceuticals: Regulatory Perspective and approach. *Nat Biotech*, v. 27, p. 26-34, jan. 2009.

RATHORE, A. S. A roadmap for implementation of quality by design (QbD) for biotechnology products. *Trends Biotechnology*, v. 27, p. 546-553, set. 2009.

SAMANTA, G. Application of Quality by Design Principles for an Existing Product for the Control of the Dimer Impurity in the Manufacturing Process. In: AMERICAN INSTITUTE OF CHEMICAL ENGINEERS ANNUAL MEETING, 2012. Disponível em: <<https://www.aisc.org/academy/videos/conference-presentations/application-quality-design-principles-existing-product-control-dimer-impurity-manufacturing-process>>. Acesso em: 02 out. 2019.

SANGSHETTI, J.N.; DESHPANDE, M.; AROTE, R.; ZAHEER, Z.; SHINDE, D.B. Quality by design approach: Regulatory need. *Arabian Journal of Chemistry*, v.10, p. 3412-3425, maio 2017.

SLACK, N.; CHAMBERS, S.; JOHNSTON, R. *Administração da produção*. 2. ed. São Paulo: Atlas, 2009

SOUZA, I. L. L.; BRAGA, R. M.; CORREIA, N. A.; ALBUQUERQUE, K. L. G. D.;

OLIVEIRA, A. M.; GUEDES, D. N. Interface Risco/Benefício no Uso da Talidomida - Uma Atualização para Discentes da UFPB. In: ENCONTRO DE INICIAÇÃO À DOCÊNCIA, 20., 2012, João Pessoa: UFPB, 2012

TATTINI, V.J. Influence of cooling rate on the structural and phase changes during lyophilization of bovine serum albumin. *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, v.42, mar. 2006.

THOORENS, G.; KIER, F.; LECLERCQ, B.; CARLIN, B.; EVRARD, B. Microcrystalline Cellulose, a Direct Compression Binder in a Quality by Design Environment – A Review. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 473, p. 64 – 72, out. 2014.

VAN DER LAAN, J.W.; DEGEORGE, J.J. *Global Approach in Safety Testing: ICH Guidelines Explained*. 2013. ed. Suíça: Springer, 2013.

WANG, G.M.; HAYMET, A.D.J. Trehalose and other sugar solutions at low temperature; modulated differential scanning calorimetry (MDSC). *J. Phys. Chem. B*, v. 102, p. 5341–5347, jun. 1998.

WANG, W. Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 203, p. 1-60, ago. 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. *WHO Expert Committee on Biological Standardization Requirements for Biological Substances*. 6.ed. Genebra: WHO Press, 2013.