



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE FARMÁCIA

PAMELLA RICHELLY SOUZA DO NASCIMENTO

**ANÁLISE REGULATÓRIA DA ESTRATÉGIA DE VALIDAÇÃO PARA ENVASE
ASSÉPTICO DO FATOR VIII RECOMBINANTE PRODUZIDO PELA HEMOBRÁS**

Recife

2023

PAMELLA RICHELLY SOUZA DO NASCIMENTO

**ANÁLISE REGULATÓRIA DA ESTRATÉGIA DE VALIDAÇÃO PARA ENVASE
ASSÉPTICO DO FATOR VIII RECOMBINANTE PRODUZIDO PELA HEMOBRÁS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Farmácia da Universidade Federal
de Pernambuco, como requisito parcial para
conclusão da graduação em Farmácia.

Orientador (a): Profa. Dra. Ana Cristina Lima Leite

Coorientador (a): Dr. Antônio Diógenes Pereira de Oliveira

Recife

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Nascimento, Pamella Richelly Souza do.

Análise regulatória da estratégia de validação para envase asséptico do fator
VIII recombinante produzido pela Hemobrás / Pamella Richelly Souza do
Nascimento. - Recife, 2023.

85 : il., tab.

Orientador(a): Ana Cristina Lima Leite

Cooorientador(a): Antônio Diógenes Pereira de Oliveira

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Farmácia - Bacharelado, 2023.

1. Indústria farmacêutica. 2. Biotecnologia. 3. Fator VIII . 4. ANVISA. I.
Leite , Ana Cristina Lima . (Orientação). II. Oliveira, Antônio Diógenes Pereira de.
(Coorientação). III. Título.

670 CDD (22.ed.)



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA



Aprovado em: 02/05/2023

BANCA EXAMINADORA



Documento assinado digitalmente
ANA CRISTINA LIMA LEITE
Data: 02/05/2023 12:17:06-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Ana Cristina Lima Leite
(Presidente e Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco



Documento assinado digitalmente
DANILO CESAR GALINDO BEDOR
Data: 02/05/2023 14:10:57-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Danilo César Galindo Bedor
(Examinador)
Universidade Federal de Pernambuco



Documento assinado digitalmente
SARAH CHRISTINE CAVALCANTI XIMENES
Data: 03/05/2023 07:45:37-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Ma. Sarah Christine Cavalcanti Ximenes
(Examinadora)
Empresa Brasileira de Hemoderivados e Biotecnologia

Nathália Brito Jataí
(Suplente)
Empresa Brasileira de Hemoderivados e Biotecnologia

DEDICATÓRIA

À minha família, meu porto seguro, por todo apoio e amor que dispuseram para a realização de mais um sonho e alcance dessa conquista.

AGRADECIMENTOS

Ao centro e essência da minha vida, Deus, por tudo que tem dispensado até aqui. Nenhuma realização seria possível sem a Sua graça; nenhum feito teria sentido sem o Seu amor. Deus é meu tudo, meu tesouro e a razão pela qual vivo!

Aos meus pais, Rodrigo e Renata, que foram e são minha base até aqui; a vocês, devo minha imensa gratidão por tudo que fazem por mim. A partir de vocês, pude sonhar, construir caminhos e contemplar as conquistas. Eu agradeço por tudo e os amo muito.

Aos meus irmãos, Pablo e Paloma, por também construírem esse caminho comigo e me oferecerem todo apoio, amor e carinho. Sempre estaremos juntos uns pelos outros.

À minha vó, Auria, por tanta dedicação em todos os detalhes. Esteve contribuindo em meu caminho desde meus primeiros passos sempre com muito amor.

Às pessoas especiais, Isa, Samilly e Suzana, que dividiram comigo bons e maus momentos, e a Vinícius, que me apoiou em tudo. Agradeço a vocês por tornarem a caminhada mais agradável.

À Hemobrás, empresa na qual realizei meu estágio e pude desenvolver este estudo; aos colegas que me ensinaram e me acolheram neste lugar, tornando os momentos ricos e especiais, em especial, meu querido amigo Juan (Juju), por todo apoio e contribuição nesse trabalho.

À Nathália Jataí, especialista em hemoderivados da Hemobrás, que contribuiu consideravelmente para construção deste trabalho.

Aos componentes da banca avaliadora, Danilo Bedor e Sarah Ximenes, que atenderam ao convite de contribuir no enriquecimento deste trabalho.

Ao meu coorientador, Diógenes, gerente da Garantia da Qualidade da Hemobrás e orientador do meu estágio, que me ensinou humildemente e contribuiu em tantas áreas do meu caminho. Muito obrigada!

À minha orientadora, Professora Ana Cristina, pela confiança depositada para a realização deste trabalho, pelo suporte e pela disponibilidade em me orientar. Agradeço-lhe muito!

“Não precisa correr tanto; o que tiver de ser seu às mãos lhe há de ir. ” (ASSIS, 1899, p. 167)

RESUMO

A indústria farmacêutica é direcionada por meio de regulamentações, que são dinamizadas para facilitar sua aplicação prática por meio de diretrizes ou normas. Os processos de fabricação devem ser capazes de fabricar consistentemente os produtos farmacêuticos com a qualidade exigida e que atendam às suas especificações. De acordo com o tipo de medicamento fabricado, características específicas podem ser exigidas. Em se tratando do medicamento Hemo-8r produzido pela Hemobrás, que se constitui do fator VIII da coagulação obtido por tecnologia recombinante, a fabricação apresenta processos complexos e sensíveis, visto que se trata de um medicamento biotecnológico estéril. O processo asséptico será o modelo de formulação e envase para o Hemo-8r e apresenta variáveis importantes, que devem ser analisadas e monitoradas para garantir a qualidade e efetividade da fabricação. A validação dos processos, por sua vez, contribui significativamente para garantir a qualidade do medicamento. Dessa maneira, insere-se a necessidade de analisar a estratégia de validação, que será aplicada para o processo asséptico de fabricação do Hemo-8r, quanto aos requisitos mínimos requeridos e a sua abrangência nos parâmetros relevantes para o processo. A presente pesquisa tratou-se de um estudo de caso realizado durante estágio obrigatório em indústria com parte da estratégia de validação, definida pela Hemobrás, como objeto de estudo. Foram consideradas as diretrizes dispostas pela ANVISA bem como agências internacionais. Foram avaliadas as exigências regulatórias para as etapas de *media fill*, filtração esterilizante e validação de processo, além de verificada a capacidade desta estratégia em atingir os parâmetros principais do processo. A partir dos resultados, verificou-se que a estratégia atendeu majoritariamente as exigências regulatórias nacionais e conseguiu contemplar os parâmetros críticos do processo em questão. Dessa forma, é adequada para evidenciar a capacidade do processo em fornecer um produto com as qualidades exigidas.

Palavras-chave: indústria farmacêutica; biotecnologia; fator VIII; ANVISA.

ABSTRACT

The pharmaceutical industry is directed through regulations, which are streamlined to facilitate their practical application through guidelines or standards. Manufacturing processes must be able to consistently manufacture pharmaceutical products of the required quality and that meet their specifications. According to the type of drug manufactured, specific characteristics may be required. In the case of the medicine Hemo-8r produced by Hemobrás, which consists of coagulation factor VIII obtained by recombinant technology, the manufacturing process involves complex and sensitive processes, since it is a sterile biotechnological medicine. The aseptic process will be the formulation and filling model for Hemo-8r and presents important variables that must be conducted and monitored to guarantee quality and follow the manufacturing process. The validation of processes, in turn, contributes significantly to ensuring the quality of the medicine. Thus, there is a need to analyze the validation strategy, which will be applied to the aseptic manufacturing process of Hemo-8r, regarding the minimum requirements required and its scope in the relevant requirements for the process. This research was a case study carried out during the mandatory internship in the industry with part of the validation strategy, defined by Hemobrás, as the object of study. Guidelines discarded by ANVISA as well as international organizations were considered. The regulatory requirements for the steps of media filling, sterilizing filtration and process validation were evaluated, in addition to verifying the ability of this strategy to achieve the main requirements of the process. From the results, it was treated that the strategy mostly met the national regulatory requirements and managed to contemplate the critical criteria of the process in question. In this way, it is adequate to demonstrate the ability of the process to provide a product with the required qualities.

Key-words: pharmaceutical industry; biotechnology; factor VIII; ANVISA.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Representação gráfica dos limites de concentração das classes ISO
- Figura 2 – Aspectos gerais e estratégicos considerados em procedimento de entrada de equipamentos fixos em áreas limpas para minimização dos riscos de contaminação
- Figura 3 – Fluxograma de procedimentos gerais adotados na entrada e saída de alguns tipos de materiais portáteis em ambiente limpo
- Figura 4 – Aspectos relacionados à seleção e à confecção de vestimentas para sala limpa
- Figura 5 – Aspectos gerais relacionados à disciplina e à conduta de pessoal em sala limpa
- Figura 6 – Principais subsistemas de um sistema HVAC do ponto de vista de BPF
- Figura 7 – Pontos de captação do ar de exaustão
- Figura 8 – Exemplo de percurso metodológico para acesso às diretrizes regulatórias nacionais aplicadas ao estudo
- Figura 9 – Demonstração de busca de documento orientativo para indústrias da FDA
- Figura 10 – Demonstração de busca de documento orientativo da FDA utilizando palavra-chave
- Figura 11 – Etapa inicial de busca de relatórios técnicos em site PDA
- Figura 12 – Lista completa de relatórios técnicos produzidos pela PDA com indicação do TR 22
- Figura 13 – Exemplo de busca no portal dos relatórios técnicos pela numeração do TR
- Figura 14 – Exemplo de método de pesquisa com documentos PIC/S utilizados
- Figura 15 – Ilustração do funcionamento de sistema RTP
- Figura 16 – Ilustração do funcionamento de sistema RTP e indicação dos seus componentes
- Figura 17 – Esquema ilustrativo do processo de envase asséptico do Hemo-8r em ambiente limpo por meio de isolador

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 – Exemplos de materiais de acabamento utilizados em instalações e selecionados conforme necessidade do processo
- Quadro 2 – Tipos de antecâmaras e modo de operação do seu sistema de contenção do ar
- Quadro 3 – Critérios de seleção aplicados a materiais e/ou equipamentos portáteis
- Quadro 4 – Principais propriedades observadas para seleção de tecidos utilizados em salas limpas
- Quadro 5 – Descrição de vestimentas utilizadas em ambientes de sala limpa
- Quadro 6 – Necessidades mínimas de elementos filtrantes para áreas limpas de acordo com os diferentes graus de limpeza
- Quadro 7 – Frequência de monitoramento de partículas não viáveis durante operações de rotina de acordo com classificação de limpeza
- Quadro 8 – Frequência de monitoramento de partículas viáveis durante operações de acordo com classificação de limpeza
- Quadro 9 – Informações mínimas recomendadas para constar em um Plano Mestre de Validação
- Quadro 10 – Potenciais parâmetros críticos a serem considerados em validação de processo asséptico
- Quadro 11 – Principais documentos utilizados para alcance dos objetivos no presente estudo
- Quadro 12 – Estratégia de validação do envase asséptico do Hemo-8r
- Quadro 13 – Situações de pior caso para os diferentes parâmetros abordados em validação de filtração esterilizante
- Quadro 14 – Resultados alcançados para os respectivos objetivos do presente estudo

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Limite de partículas não viáveis em áreas classificadas
- Tabela 2 – Limites recomendados para avaliação da contaminação microbológica
- Tabela 3 – Classes de limpeza do ar para partículas em suspensão para salas e zonas limpas e seus limites máximos de concentração.
- Tabela 4 – Comparação entre os diferentes tipos de classificação de limpeza do ar
- Tabela 5 – Descrição de vestimentas utilizadas em ambientes de sala limpa
- Tabela 6 – Classificação dos filtros EPA, HEPA e ULPA
- Tabela 7 – Classificação dos filtros de partículas de acordo com EN 779:2002

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
BPF	Boas Práticas de Fabricação
CGMP	<i>Current Good Manufacturing Practices</i>
CP	Consulta Pública
EN	<i>European Standard</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GMP	<i>Good Manufacturing Practices</i>
HEMOBRÁS	Empresa Brasileira de Hemoderivados e Biotecnologia
ICH	<i>International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use</i>
IN	Instrução Normativa
ISO	<i>International Organization for Standardisation</i>
NBR	Norma Brasileira
PAT	<i>Process Analytical Technology</i>
PDA	<i>Parenteral Drug Association</i>
PVDF	Fluoreto de polivinilideno
PIC/S	<i>Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme</i>
RABS	<i>Restricted Access Barrier System</i>
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
RTP	<i>Rapid transfer ports</i>
SUS	Sistema Único de Saúde
WFI	<i>Water for Injection</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo Geral	18
2.2 Objetivos Específicos	18
3 REFERENCIAL TEÓRICO	19
3.1 Fator VIII como produto biotecnológico	19
3.2 Processo Asséptico Na Produção De Medicamentos Estéreis	20
3.2.1 Aspectos gerais	20
3.2.2 Estrutura do ambiente asséptico	21
3.2.2.1 Sala limpa e ambientes controlados	21
3.2.2.1.1 Classificação das Áreas Limpas	21
3.2.2.1.2 Estruturas físicas das áreas limpas	25
3.2.2.1.3 Equipamentos e materiais	29
3.2.2.1.4 Vestimentas e pessoal	33
3.2.2.2 Sistemas de Filtração de Ar	37
3.2.3 Parâmetros de Monitoramento	42
3.2.3.1 Contagem de partículas em suspensão no ar	42
3.2.3.2 Fluxo de ar e diferença de pressão	47
3.3 Validação e Qualificação	48
3.3.1 Aspectos Gerais	48
3.3.2 Validação de Processo Asséptico	50
3.3.2.1 Simulação do Processo Asséptico	51
3.3.2.2 Filtração esterilizante	53
4 METODOLOGIA	54
4.1 Caracterização do estudo	54
4.2 Pesquisa bibliográfica	54
4.3 Análise comparativa	62
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
5.1 Caracterização da produção do fator VIII recombinante (Hemo-8r)	64
5.1.1 Etapa de formulação	64
5.1.2 Processo de envase asséptico	66
5.1.3 Liofilização	68
5.2 Estratégia de validação para produção do fator VIII recombinante (Hemo-8r) e análise regulatória	68

5.2.1 Media Fill.....	69
5.2.2 Validação de Filtração Esterilizante	72
5.2.3 Validação de Processo	75
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	78
REFERÊNCIAS.....	80

1 INTRODUÇÃO

A indústria farmacêutica é direcionada por meio de regulamentações, que são dinamizadas para facilitar sua aplicação prática por meio de diretrizes ou normas. Tal cenário aplica-se devido à alta exigência para garantir a qualidade dos processos produtivos de medicamentos, conforme RDC 658/2022 que expressa os requisitos mínimos a serem seguidos na fabricação de medicamentos.

Ao longo dos anos, tem-se visto um aumento do rigor dos requisitos regulatórios quanto à produção de medicamentos. Em 2009, o Comitê Gestor do ICH publicou o guia ICH Q8(R2), que trouxe aplicações quanto ao desenvolvimento farmacêutico, evidenciando a sua importância para alcance de um produto de qualidade e de um processo consistente. Tendo em vista que o conhecimento obtido por meio dos estudos de desenvolvimento farmacêutico é fundamental para embasamento do gerenciamento de risco, este guia busca inserir os princípios do *Quality by Design* (QbD) e *design space*.

De acordo com este mesmo guia, o QbD consiste numa “abordagem sistemática do desenvolvimento, que inicia com objetivos pré-definidos e dá ênfase à compreensão do produto e do processo e ao controle deste, com base na ciência e no gerenciamento de riscos de qualidade”. Já em relação ao *design space*, trata-se de uma abordagem multidimensional e interação de variáveis de entrada e parâmetros do processo que demonstram proporcionar impacto na qualidade do medicamento. Tais abordagens permitem incorporar conhecimentos acerca do produto e do processo, a partir de resultados de estudos propostos previamente, fornecendo base para gerenciamento de risco e conhecimento do processo (ICH, 2009).

A partir disso, a análise do desenvolvimento farmacêutico oferece uma oportunidade de fortalecer o conhecimento adquirido do produto e do processo, uma vez que seu principal objetivo é projetar e obter um produto de qualidade e um processo de fabricação que atenda consistentemente o desempenho pretendido. Seus estudos permitem entender que a qualidade deve ser incorporada desde as etapas do desenvolvimento do processo de fabricação, como se fundamenta a análise regulatória do processo de envase asséptico do Hemo-8r.

Dessa maneira, os processos de fabricação devem ser capazes de fabricar consistentemente os produtos farmacêuticos com a qualidade exigida e que atendam às suas

especificações. Para isso, todos os componentes do processo produtivo devem seguir um padrão mínimo, sendo os equipamentos qualificados, pessoal treinado e processos validados.

De acordo com o tipo de medicamento fabricado, características específicas podem ser exigidas. A ANVISA disponibiliza instruções normativas complementares para as Boas Práticas de Fabricação de produtos, que apresentam maiores especificidades; medicamentos biológicos e estéreis, por exemplo, têm como direcionamento a IN 127/2022 e IN 35/2019, respectivamente, em adição às diretrizes gerais de BPF.

O medicamento Hemo-8r constitui-se do fator VIII da coagulação obtido por tecnologia recombinante produzido pela Hemobrás. Tal medicamento é utilizado na terapia da hemofilia A, que é uma doença genética caracterizada pela perda total ou parcial da atividade do FVIII. Em situações que não ocorre tratamento devido, incapacidades físicas por artropatias – devido aos sangramentos a nível articular – podem ocorrer, além de óbitos por hematomas intracranianos e hemorragia de órgãos internos (CROTEAU, 2018; VAN DEN BERG et al, 2015).

Segundo a RENAME (BRASIL, 2022c), os concentrados de fator VIII recombinante de 250 UI, 500 UI e 1.000 UI estão incluídos na lista de medicamentos essenciais. Pela definição, medicamentos essenciais são aqueles que atendem à necessidade de saúde prioritária da população, devendo estar acessíveis em todos os momentos e na dose apropriada (WHO, 2002). A Hemobrás, por sua vez, tem como função social garantir aos pacientes do SUS o fornecimento de medicamentos hemoderivados e biotecnológicos, atendendo à qualidade e à efetividade requeridas (BRASIL, 2004).

A fabricação do Hemo-8r apresenta processos complexos e sensíveis, visto que se trata de um medicamento biotecnológico estéril. O princípio ativo consiste numa molécula complexa, que demonstra sensibilidade à temperatura e a variações de pH devido a sua natureza proteica. Acerca da esterilidade, as necessidades regulatórias são bastante incisivas tendo em vista os riscos de contaminação por partículas, microrganismos e substâncias pirogênicas, que devem ser evitados (WHO, 2007).

Na produção de medicamentos estéreis, os produtos podem ser obtidos por esterilização terminal ou por processamento asséptico. No caso da esterilização terminal, o enchimento e o fechamento do produto ocorrem sob condições de alta qualidade ambiental, a fim de minimizar

os riscos de contaminação no produto em processo e ajudar a garantir a esterilização subsequente (FDA, 2004b). Já no processo asséptico, devido à natureza do medicamento que é produzido, não ocorre o processo de esterilização final no recipiente. Conforme evidenciado em Guia de Orientação para Indústrias da FDA (2004b), todo processo deve ser desenhado para minimizar a exposição aos possíveis riscos de contaminação. Dessa maneira, é imprescindível que todo o processo seja realizado em condições ambientais de extrema qualidade.

Em situações de processo asséptico, cada componente do produto deve ser individualmente esterilizado, resultando em um produto final estéril. Para os componentes sensíveis ao calor, outras metodologias podem ser aplicadas, como filtração esterilizante para formulações líquidas. Tais métodos devem ser somados ao rigoroso controle ambiental, onde podem ser utilizadas tecnologias apropriadas, como isoladores e sistemas de barreira de acesso (EU, 2022). Dessa forma, o processo asséptico – que será o modelo de formulação e envase para o Hemo-8r – em comparação à esterilização terminal, apresenta mais variáveis que devem ser analisadas e monitoradas para garantir a qualidade e efetividade da fabricação.

A validação dos processos, por sua vez, contribui significativamente para garantir a qualidade do medicamento (FDA, 2004b). Trata-se da coleta e evolução de dados desde as etapas de desenho do projeto até a produção comercial, que estabelece evidências científicas de que um processo apresenta capacidade de fornecer consistentemente os produtos com qualidade (FDA, 2011). Devido ao fornecimento de evidências imprescindíveis, é requerido regulatoriamente para um novo processo instalado (BRASIL, 2022b).

A partir de tal cenário, insere-se a necessidade de análise da estratégia de validação que será aplicada para o processo asséptico de fabricação do Hemo-8r. Tal análise avaliará a adequabilidade da estratégia proposta quanto aos requisitos mínimos requeridos bem como sua abrangência nos parâmetros importantes de cada etapa mencionada. Dessa maneira, possibilitará o desenvolvimento mais robusto da estratégia aplicada e o fornecimento de um processo e produtos com a qualidade requerida.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O presente estudo teve como objetivo a avaliação da conformidade legislativa da estratégia de validação de envase asséptico do medicamento Hemo-8r, produzido pela empresa Hemobrás.

2.2 Objetivos Específicos

- Descrever o processo de envase asséptico do produto Hemo-8r;
- Evidenciar os parâmetros associados à validação do processo asséptico;
- Avaliar a adequabilidade da estratégia de validação do envase asséptico do medicamento Hemo-8r com as regulamentações nacionais e internacionais vigentes;
- Elaborar material de apoio e de caráter informativo para auxiliar a difusão do conhecimento quanto aos aspectos da validação do processo asséptico na empresa.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Fator VIII como produto biotecnológico

Os avanços tecnológicos na área da biotecnologia moderna possibilitaram a aplicação da tecnologia do DNA recombinante na produção de proteínas terapêuticas. Tais proteínas de origem recombinante são proteínas exógenas aplicadas no tratamento de doenças de elevada complexidade, como alguns tipos de câncer, doença de Crohn e hemofilias (BURNETT & BURNETT, 2020).

Para tratamento da hemofilia A, que se caracteriza pela perda total ou parcial da atividade do FVIII, o concentrado de fator VIII recombinante pode ser utilizado como tratamento de reposição, uma vez que apresenta efetividade e segurança. O FVIIIr é produzido por meio de um sistema de células de mamíferos, que apresenta maquinaria celular adequada quanto ao aspecto de modificações pós-traducionais mais complexos (como glicosilação) (AMANN et al, 2019), além de maior produtividade (LINDSKOG et al, 2019; WALSH, 2022).

Os concentrados de FVIIIr são classificados em níveis de geração, de acordo com a presença de derivados animais no processo e a meia-vida. A primeira e segunda gerações apresentam produtos biológicos de origem animal – adicionado ao meio de cultura ou como estabilizadores no final do processamento; já a terceira geração eliminou a utilização de material biológico de fonte animal do processamento. A quarta geração, por sua vez, encontra-se em fase de estudo clínico e desenvolve alternativas de maior meia-vida, incorporando moléculas ao FVIIIr, como PEG e imunoglobulinas (BRASIL, 2013). Frente ao concentrado de FVIII obtido por fracionamento do plasma, o FVIIIr apresenta vantagens como elevada capacidade produtiva, segurança e evolução molecular (FRANCHINI, 2010).

Tais concentrados são normalmente encontrados em forma de produtos liofilizados, como o Hemo-8r produzido pela Hemobrás. Tais medicamentos, por sua vez, são acompanhados de um líquido para sua reconstituição, o qual comumente se trata da água para injetáveis (API). Segundo a Farmacopeia Brasileira (2019), API consiste no insumo utilizado tanto nas etapas de preparação dos medicamentos para administração parenteral quanto na solubilização e diluição das substâncias ou preparações. Além disso, também é utilizada na limpeza de todos os processos, equipamentos e componentes que apresentam contato com o produto estéril em sua fabricação. A API deve atender aos requisitos químicos da água purificada e apresentar controle de endotoxinas (ANVISA, 2019b).

3.2 Processo Asséptico Na Produção De Medicamentos Estéreis

3.2.1 Aspectos gerais

Conforme descrito na ISO 13408, o processo asséptico trata-se do manuseio de produtos estéreis, recipientes ou outros dispositivos em um ambiente devidamente controlado, no qual o ar fornecido, materiais, equipamentos e pessoal são regulamentados para manutenção da esterilidade. Segundo o FDA, trata-se de um método para produção de produtos estéreis, os quais seriam afetados, em termos de qualidade e efetividade, caso submetidos a uma esterilização terminal.

Neste processo, os insumos, recipientes e tampa são primeiramente submetidos a métodos de esterilização, conforme apropriado, e posteriormente reunidos. Não havendo um processo para esterilizar o produto em seu recipiente final, é imprescindível que todo o processo ocorra em ambiente bem controlado para garantir a esterilidade do produto final. Dessa forma, o processo asséptico apresenta mais variáveis do que a esterilização terminal no processo produtivo. Cada etapa do processo deve ser validada e controlada, visto que apresenta potencial de introdução de erro, levando a um produto contaminado e risco final ao usuário.

Em versões anteriores das BPF, como a RDC Nº 17/2010, alguns direcionamentos acerca da realização do processo de envase asséptico são evidenciados. Tal versão recomenda a realização desse processo em ambiente de grau A, circundado por ambiente de grau B. Além disso, enfatiza precauções que visam minimizar a contaminação ao longo do processo, incluindo etapas anteriores a de início da produção. Requisitos complementares são observados na Instrução Normativa, nº 35/2019, onde se objetiva adotar as diretrizes de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos Estéreis.

Devido a seu elevado nível de criticidade, isto é, sua necessidade de ser altamente monitorado a fim de garantir as boas condições de qualidade do produto, o processo asséptico apresenta importantes regulamentações e especificações, como resolução e normativa citadas anteriormente, normativas internacionais e guias de orientação. Tais guias descrevem um determinado tópico, mas não apresentam responsabilidades legalmente aplicáveis; dessa forma, caracterizam-se como recomendações de acordo com a Agência responsável pela sua construção. Neste cenário, insere-se o Guia para Produção Industrial de Medicamentos Estéreis por Processamento Asséptico (do inglês, *Guidance for Industry Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing*) que se destina a subsidiar os fabricantes a atender os requisitos atuais, seguindo as especificações das Boas Práticas de Fabricação (*Current Good Manufacturing Practice – CGMP*) (FDA, 2004).

3.2.2 Estrutura do ambiente asséptico

3.2.2.1 Sala limpa e ambientes controlados

A IN 35/2019 dispõe de boas práticas de fabricação complementares a medicamentos estéreis e, em seu Art.3º, especifica a necessidade de fabricação de tais medicamentos em ambientes de área limpa com devida entrada de materiais, equipamentos e pessoal por antecâmaras.

As salas limpas e os ambientes controlados são zonas de áreas nas quais a concentração de partículas é controlada, por meio da minimização de sua introdução, geração e retenção. As áreas limpas – termo equivalente à “sala limpa”, segundo definição em RDC N° 658/2022 – possibilitam a execução das atividades de produção de medicamentos estéreis de maneira satisfatória e segura, devido a esse controle da concentração de partículas mencionado e apropriado para tais atividades, conforme ABNT NBR ISO 14644-1. As partículas são caracterizadas como viáveis e não-viáveis; estas últimas, tais como poeiras e pós, também precisam de monitoramento, uma vez que são veículos para partículas viáveis e se configuram como potenciais contaminantes microbiológicos. Nessa perspectiva, o controle de sua concentração é imprescindível para manutenção de um ambiente assepticamente adequado.

3.2.2.1.1 Classificação das Áreas Limpas

As áreas limpas de fabricação de medicamentos estéreis são especificadas de acordo com as características ambientais exigidas, isto é, seu grau de limpeza do ar para partículas em suspensão, conforme descrito na Instrução Normativa N° 35/2019. Atualmente, existem diferentes normas técnicas que direcionam esta classificação; todavia, em território nacional, usa-se comumente as classificações baseadas na ABNT NBR ISO 14644 e normas de Boas Práticas de Fabricação.

No processo produtivo de medicamentos estéreis, segundo *World Health Organization* (WHO), existem quatro graus de limpeza que podem ser atribuídos, sendo eles: Graus A, B, C e D. Cada um desses graus de limpeza diferencia-se na finalidade da produção a qual se destina e na concentração de partículas limitadas para sua classe, bem como na frequência de monitoramento de partículas não-viáveis (ANVISA, 2013). Nas zonas de Grau A, são realizadas operações de alto risco, como um envase asséptico, e as condições são comumente fornecidas por unidades de trabalho com fluxo unidirecional de ar ou presença de isolador; o

Grau B, por sua vez, configura-se como uma zona circundante a áreas de Grau A. Já os Graus C e D, são destinados a áreas de operações menos críticas na cadeia produtiva dos estéreis.

Esse tipo de classificação leva em consideração aspectos importantes das Boas Práticas de Fabricação, como a determinação da quantidade de partículas viáveis e não-viáveis em condições diferentes de realização do teste, como “em operação” e “em repouso”. Além dessas características, definem-se os critérios de limites de partículas não-viáveis de duas dimensões definidas (Tabela 1) e limites de contaminação microbiana (Tabela 2).

A Associação Brasileira de Normas Técnicas, por sua vez, apresenta uma classificação baseada no limite de partículas com dimensões entre 0,1 a 5 μm , conforme ISO 14644-1. A NBR ISO 14644 apresenta nove tipos de classes que estão baseadas na concentração de partículas em suspensão no ar. A classificação é expressa como ISO classe N, a qual representa o limite máximo de concentração permitida, expresso em partículas/ m^3 de ar, para partículas iguais ou maiores que os tamanhos considerados. Essa Norma, entretanto, não deve ser utilizada com finalidade de caracterização quanto à natureza dessas partículas, isto é, não concede a diferenciação entre partículas viáveis ou não-viáveis. Além disso, não apresenta especificidade com o estado de ocupação. Nesse aspecto, no momento da designação de limpeza do ar para as salas e zonas limpas, é preciso incluir, além da própria classificação, o estado de ocupação para qual a classificação está sendo aplicada e o tamanho considerado das partículas, bem como sua respectiva concentração.

A concentração de partículas, dessa forma, caracteriza-se como parâmetro fundamental para classificação e monitoramento das partículas presentes naquele ambiente. O cálculo é feito baseando-se em variáveis como a dimensão das partículas (D) e o número de classificação ISO (N). A NBR ISO 14644-1 traz uma ilustração gráfica dos limites de concentração para classes ISO (Figura 1) em relação aos tamanhos de partículas alcançados por cada classe. As linhas representadas configuram um valor aproximado para cada classe. Dessa forma, não devem ser utilizadas para definição da concentração – para este caso, utiliza-se a expressão matemática proposta pela mesma Norma (Equação 1), resultando em limites máximos de concentração (Tabela 3).

Tabela 1 – Limite de partículas não viáveis em áreas classificadas.

Grau	<i>Em repouso</i>		<i>Em operação</i>	
	Número máximo de partículas/m³			
	≥ 0,5 µm	≥ 5 µm	≥ 0,5 µm	≥ 5 µm
A	3.520	20	3.520	20
B	3.520	29	352.000	2.900

Tabela 1 – Limite de partículas não viáveis em áreas classificadas.

C	352.000	2.900	3.520.000	29.000
D	3.520.000	29.000	Não definido	Não definido

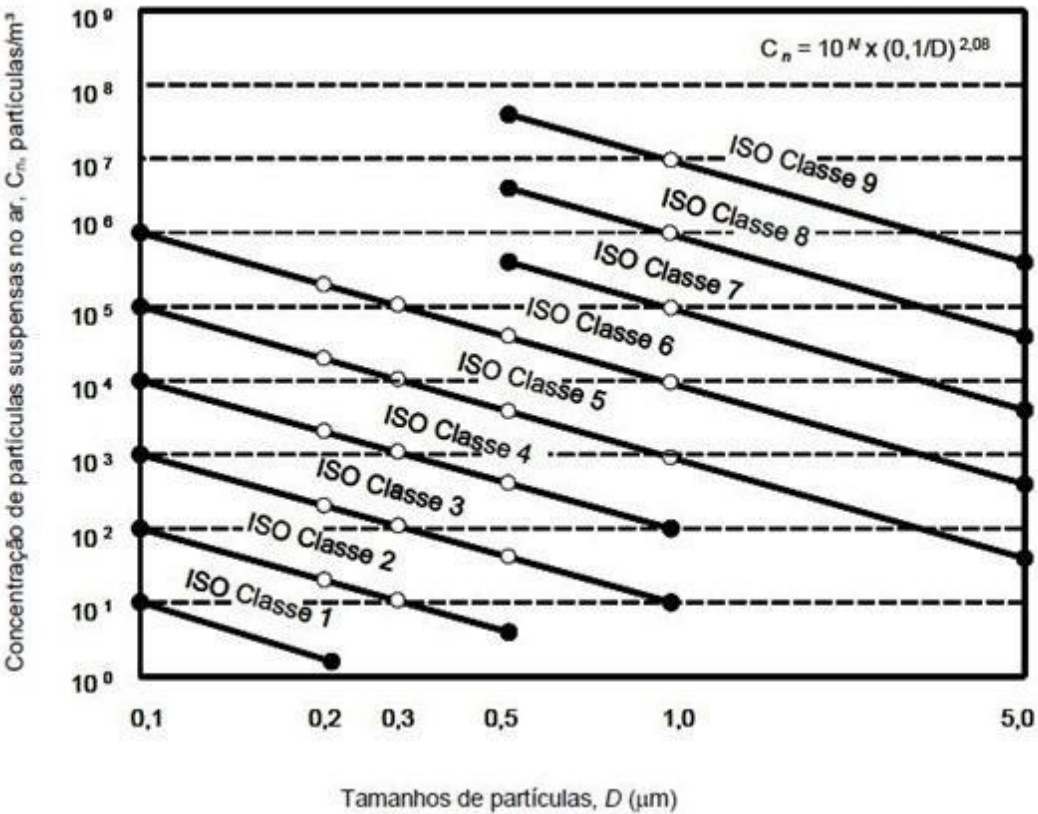
Fonte: BRASIL (2019).

Tabela 2 – Limites recomendados para avaliação da contaminação microbiológica.

Grau	Amostra de ar (cfu/m³)	Placas (diâmetro de 90 mm) (cfu/4 horas)	Placas de contato (diâmetro de 55 mm) (cfu/placa)	Impressão de luva 5 dedos (cfu/luva)
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

Fonte: BRASIL (2019).

Figura 1 – Representação gráfica dos limites de concentração das classes ISO.



Fonte: ABNT – NBR 146441 (2005).

Equação 1 – Fórmula para determinação da concentração máxima de partículas.

$$C_n = 10^N \times \left(\frac{0,1}{D}\right)^{2,08}$$

Onde: C_n = concentração máxima permitida de partículas em suspensão no ar;

N = número da classe ISO especificada;

D = tamanho da partícula em μm .

Tabela 3 – Classes de limpeza do ar para partículas em suspensão para salas e zonas limpas e seus limites máximos de concentração.

<i>Número de Classificação ISO</i>	<i>Limites máximos de concentração (partículas/m³ de ar) para partículas iguais ou maiores que os tamanhos considerados</i>					
<i>(N)</i>	<i>0,1 μm</i>	<i>0,2 μm</i>	<i>0,3 μm</i>	<i>0,5 μm</i>	<i>1 μm</i>	<i>5 μm</i>
ISO Classe 1	10	2				
ISO Classe 2	100	24	10	4		
ISO Classe 3	1 000	237	102	35	8	
ISO Classe 4	10 000	2 370	1 020	352	83	
ISO Classe 5	100 000	23 700	10 200	3 520	832	29
ISO Classe 6	1 000 000	237 000	102 000	35 200	8 320	293
ISO Classe 7				352 000	83 200	2 930
ISO Classe 8				3 520 000	832 000	29 300
ISO Classe 9				35 200 000	8 320 000	293 000

Fonte: ABNT – NBR 146441 (2005).

Neste cenário, as salas e zonas limpas são tipicamente classificadas de acordo com a finalidade de seu uso, a principal atividade realizada em cada uma dessas áreas e confirmada pela limpeza do ar, que será definida, como já citado, pela medição de partículas no ambiente (SANDLE, 2013). Para definição da classe de limpeza de uma instalação, de acordo com a NBR ISO 14644-3, um ensaio de contagem de partículas em suspensão no ar deve ser utilizado. Tal procedimento pode conter três etapas, a saber: ensaio de classificação, ensaio de partículas ultrafinas e ensaio de macropartículas, sendo estes dois últimos de caráter informativo, isto é, não utilizado para classificação. No ensaio de contagem de partículas, um instrumento de dispersão de luz é utilizado para determinação da concentração de partículas suspensas; este mesmo método pode ser utilizado para medições periódicas, conforme ISO 14644-2, que fortalece o monitoramento e gerenciamento de risco.

Há um outro tipo de classificação proposto pela *U.S. Federal Standard 209* (FS 209). Nesta classificação, as áreas são divididas em três níveis de limpeza: 100, 10.000 e 100.000; tais níveis estão relacionados com o número máximo de partículas de 0,5 μm em suspensão em um pé cúbico de ar. Sequencialmente, a FS 209 foi substituída pela Norma ISO 14644. Apesar da alteração, a classificação habitual ainda é vista nos Estados Unidos; contudo, a FDA apresenta um documento que traz a equivalência da classificação habitual com a classificação ISO (FDA, 2004b). Na Tabela 4, tem-se a comparação entre os principais tipos de classificação para a limpeza do ar, segundo determinadas normas.

Tabela 4 – Comparação entre os diferentes tipos de classificação de limpeza do ar.

<i>OMS – BPF</i>	<i>EUA (habitual)</i>	<i>ABNT NBR ISO 14644-1</i>	<i>EC – GMP</i>
Grau A	Classe 100	ISO 5	Grau A
Grau B	Classe 100	ISO 5	Grau B
Grau C	Classe 10.000	ISO 7	Grau C
Grau D	Classe 100.000	ISO 8	Grau D

Fonte: ANVISA (2013, p. 37).

3.2.2.1.2 Estruturas físicas das áreas limpas

Com o objetivo de atenuar os riscos de contaminação das salas e zonas limpas, a estrutura deste ambiente deve ser bem projetada, com especificações e características que favoreçam o alcance do controle ambiental de partículas. A Instrução Normativa N° 35/2019, que dispõe sobre Boas Práticas de Fabricação complementares a Medicamentos Estéreis, estabelece requisitos quanto as instalações de um ambiente de sala limpa, envolvendo, por exemplo, aspectos quanto a forros, paredes, portas, pisos, divisões de salas adjacentes e outras características relevantes.

Em áreas limpas, as superfícies que estão expostas devem ser lisas e intactas além de apresentar alta impermeabilidade. Tal especificação baseia-se na atenuação da propagação ou acúmulo de partículas, sejam viáveis ou não-viáveis, nesses objetos. De igual modo, a fim de evitar acúmulo indevido, suportes ou instalações que apresentam frestas, tais como armários, prateleiras e equipamentos, devem ser evitados. Esse aspecto também sustenta a não recomendação das portas de correr. Dessa forma, fica exposto que, no projeto das áreas limpas quanto a suas instalações, deve ser considerado o material a ser utilizado e o acabamento nas superfícies, que irão favorecer a limpeza efetiva de todos os pontos e inviabilizar a deposição de partículas. É importante destacar que os materiais utilizados devem ser resistentes a impactos, oxidação e compatível quimicamente aos desinfetantes utilizados para a limpeza.

Segundo PDA (2019), o tipo de construção que melhor se aplica para salas limpas é a modular, uma vez que apresentam maior facilidade para instalação, maior viabilidade econômica, além de ser expansível e apresentar menor quantidade de emendas quando comparados à construção tradicional. Em se tratando de alguns elementos, os forros são componentes da construção utilizados para separação de estruturas de utilidades e pisos técnicos das áreas produtivas. Estes devem obedecer a critérios de estanqueidade, continuidade e não

liberação de partículas e encontram-se em três opções, os quais são denominados: forros de gesso, forros leves e forros autoportantes. Este último caracteriza-se por permitir cargas sobre ele, isto é, permite a locomoção em sua superfície.

Dessa forma, o uso de forros autoportantes isola a área técnica da área produtiva, onde elementos como luminárias, dutos e sistemas de ar condicionado podem ser acessados; além disso, a manutenção de tais equipamentos pode ser realizada sem risco de contaminação da área produtiva. As luminárias devem ser embutidas ao teto. Canos e dutos utilizados devem ser instalados de maneira a não permitirem a existência de aberturas, aberturas não vedadas e superfícies de difícil acesso para limpeza.

Já em relação aos tetos, portas e pisos, estes devem ser lisos, possuir acabamentos de vedação – a fim de que não haja escape de ar em salas adjacentes – e cantos arredondados, como forma de evitar o acúmulo de partículas e auxiliar na circulação do ar. Caso haja tetos falsos, esses devem ser selados a fim de evitar a contaminação em espaços acima deles. As portas, por sua vez, devem atender ao fluxo de movimentação e sua dimensão bem como a necessidade de visores devem se adequar a este fluxo na qual estão inseridas; somado a isso, a vedação de tais portas deve ser bem validada, uma vez que estão envolvidas em cenários de gradientes de pressão entre salas de diferentes graus de limpeza.

Em se tratando dos pisos, estes devem ser lisos, impermeáveis e de fácil limpeza, além de serem livres de fissuras ou rachaduras e apresentarem alta resistência. O material deve ser adequado para suportar a ação dos agentes desinfetantes, utilizados na limpeza rotineira. Normalmente, os materiais mais utilizados para os pisos são o epóxi em multicamadas, concreto selado ou vinil sem emendas.

Quanto a pias e ralos, estes estão proibidos em áreas de graus A e B, utilizadas para fabricação asséptica, conforme normativa complementar de medicamentos estéreis. Em outros graus de área limpa, a conexão de máquinas e pias com o sistema de esgoto não deve ser feita de maneira contínua, mas sim dispondo de quebras de ar. Os ralos de chão, nestas áreas, devem ser conectados com válvulas ou sifões a fim de evitar a possibilidade de refluxo.

Dessa forma, devem ser seguidos requisitos de acabamentos para todas as estruturas que estão expostas em um ambiente de produção asséptica. O Quadro 1 exemplifica materiais utilizados para revestimentos e aplicação nas instalações de uma área limpa, visto que estes também se configuram como pontos importantes para manutenção do estado especificado do ambiente.

Quadro 1 – Exemplos de materiais de acabamento utilizados em instalações e selecionados conforme necessidade do processo.

Materiais de Acabamento	Aplicação
<i>Aço inox</i>	Revestimento de paredes e bancadas
<i>Aço galvanizado pintado</i>	Revestimento de paredes
<i>Laminado melamínico</i>	Revestimento de paredes e bancadas
<i>Epóxi</i>	Revestimento de paredes e pisos
<i>Vinil</i>	Revestimento de pisos
<i>Alumínio Anodizado</i>	Revestimento de portas e cantos
<i>Vidro</i>	Janelas e divisórias
<i>Silicone</i>	Vedação de juntas

Fonte: Adaptado de ANVISA (2013, p. 16).

Uma outra estrutura importante nas instalações de uma sala limpa é a antecâmara. Segundo a RDC nº 658 de 2022, são espaços fechados com duas ou mais portas, interpostas entre duas ou mais salas, destinados à passagem de pessoas, materiais ou equipamentos, de acordo com sua finalidade. Dessa forma, tal espaço caracteriza-se como áreas que antecedem o principal ambiente de produção a fim de garantir o diferencial de pressão e a integridade do espaço controlado durante as entradas e saídas.

De acordo com o processo (Quadro 2), diferentes tipos de antecâmaras podem ser utilizados e um sistema de diferença de pressão entre as áreas adjacentes é escolhido a fim de atender a estratégia para qual foi aplicado. Nesse aspecto, um sistema de ventilação que insuffle ar filtrado deverá manter uma pressão positiva, caracterizando um fluxo de ar das áreas limpas em relação a áreas circundantes de grau mais baixo; contudo, quando for necessária a contenção de alguns materiais, os diferenciais de pressão poderão ser adaptados (WHO, 2011).

Contudo, apesar de haver diferentes tipos de contenção, ressalta-se a importância da escolha considerando o produto e o processo que está sendo empregado. A partir disso, cada instalação deve ser avaliada singularmente de acordo com os parâmetros exigidos. Em relação a produtos estéreis, recomenda-se um sistema de proteção ao produto e ao processo, ou seja, a área deve apresentar uma pressão positiva (pressão maior) em relação às áreas adjacentes (ANVISA, 2013).

Quadro 2 – Tipos de antecâmaras e modo de operação do seu sistema de contenção do ar

Tipo de Antecâmara	Tipo de Contenção	Finalidade
Cascata	Pressão Positiva	Prevenir a contaminação do ambiente interno (sala limpa) por frestas ou ambientes vizinhos;

Quadro 2 – Tipos de antecâmaras e modo de operação do seu sistema de contenção do ar

		proteção do processo e/ou produto.
Cascata Invertida	Pressão Positiva	Prevenir a contaminação da circulação pelo ar da sala de processo; recomenda-se mesmo suprimento do ar na antecâmara e na sala de processo para proteção do processo e/ou produto.
Bexiga ou Bolha	Pressão Mista	Prevenir, simultaneamente, a contaminação da sala limpa pelo ar da circulação e prevenir vazamento do interior para ambientes vizinhos.
Ralo	Pressão Negativa	Prevenir, simultaneamente, a contaminação da sala limpa pelo ar da circulação e prevenir vazamento do interior para ambientes vizinhos; processo precisa ser protegido e o ar gerado na sala de processo apresenta risco, não devendo migrar para áreas adjacentes.
Duplo Compartimento	Dupla Selagem	Prevenir a contaminação do meio ambiente e da comunidade, além de proteção aos usuários e processos de salas adjacentes.

Fonte: BRITO (2011).

Para o correto uso das antecâmaras, algumas medidas técnicas devem ser seguidas, conforme regulamenta a IN N° 35/2019. As antecâmaras devem ser efetivamente lavadas com ar limpo. Em alguns casos, o uso de diferentes antecâmaras para entrada ou saída pode ser necessário. Quanto a abertura de portas, não devem ser abertas simultaneamente; um sistema de travamento interno ou sistema de aviso deve ser operado nessa situação para impedimento da abertura. As portas devem abrir na direção da área de maior pressão, de maneira que, quando

a porta estiver fechada, a própria pressão auxilie na manutenção desse fechamento. Além disso, as áreas de antecâmara devem conter sistemas adequados de insuflamento e extração de ar e ser concebidas de maneira que as cascatas de pressão preconizadas sejam mantidas.

Ademais, diagramas detalhados com informações acerca da cascata de pressão, orientações de fluxo de ar e rotas de trânsito de operadores e de materiais precisam estar presentes nestas instalações. A última antecâmara destinada à paramentação deve apresentar, em seu estado de repouso, o mesmo grau de limpeza da área a qual concede acesso e as instalações para lavagem de mãos devem localizar-se exclusivamente na primeira antecâmara de paramentação. Nesse aspecto, garante-se o trânsito adequado de pessoas e materiais em uma área limpa e a limitação da entrada e saída do ar, que é uma considerável fonte de contaminação.

3.2.2.1.3 Equipamentos e materiais

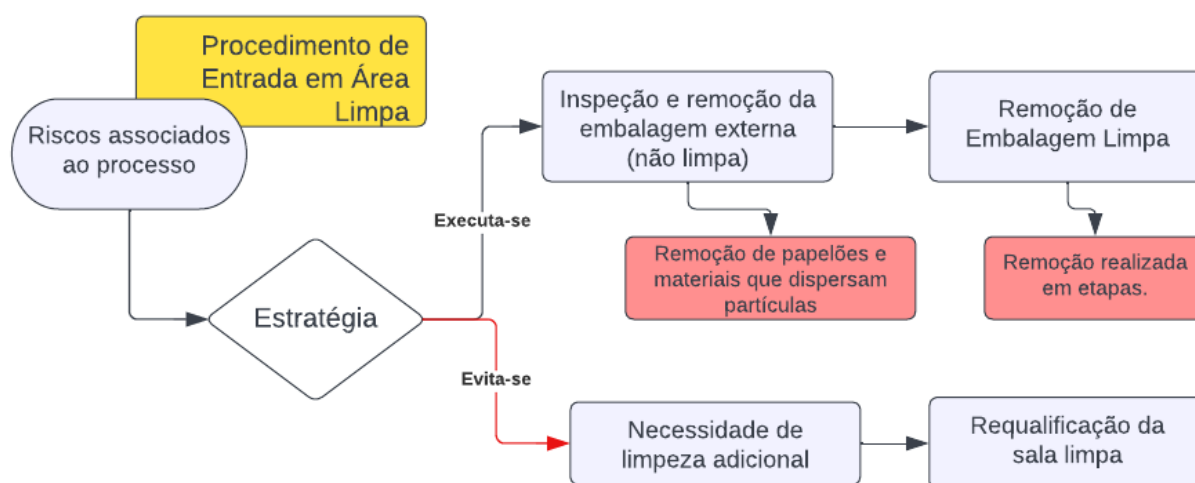
A qualidade, que visa ser garantida em cada etapa da fabricação de um medicamento injetável, constrói-se com uma adequada harmonização relativos ao processo, às instalações e aos equipamentos que são utilizados. Todos os componentes de uma sala limpa devem ser desenhados visando atenuar os potenciais riscos de contaminação, sendo estabelecidos requisitos e condutas apropriadas para isso. Dessa forma, essas áreas são projetadas, qualificadas e operadas em conformidade com critérios de BPF.

A partir disso, as Normativas e demais regulamentações dispõem de critérios a serem seguidos quanto ao uso de equipamentos em salas limpas, uma vez que estes também apresentam fatores de riscos associados à sua instalação e ao seu uso. Assim sendo, todos os equipamentos, bem como seus dispositivos associados de transportes e de montagem, devem ser limpos e descontaminados antes de serem introduzidos em um ambiente de sala limpa, conforme ISO 14644-5. Além disso, tal normativa propõe a divisão dos equipamentos, componentes de uma sala limpa ou participantes do processo, em equipamentos fixos, materiais e equipamentos portáteis e móveis.

Os equipamentos fixos são os dispositivos que foram colocados dentro da sala limpa e, devido ao seu porte, são considerados fixos ou imóveis. Normalmente, esses equipamentos circundam os produtos ou processos realizados naquele ambiente limpo. Dentre esses equipamentos, podem ser incluídos: equipamentos de processo automatizado e mecânico, dispositivos de separação, capelas de exaustão e outros de grande porte.

Tendo em vista o gerenciamento de risco quanto à manutenção dos requisitos de contaminação para uma área limpa, planejamentos e padronizações devem ser seguidos para o procedimento de entrada dos equipamentos fixos nessas áreas, uma vez que essa atividade não deve gerar contaminação (Figura 2). Quando estes equipamentos entram na sala limpa no estado “em repouso” ou “como construído”, devem ser desembalados e limpos corretamente. No caso da entrada no estado “em operação”, aspectos especiais deverão ser seguidos, tendo em vista que, nesse estado, os riscos não estarão associados apenas aos parâmetros ambientais, mas também ao próprio produto ou processo. Quanto à remoção da embalagem limpa, deve ser realizada em etapas a fim de atenuar a entrada de contaminação. Uma sala controlada de transferência, adjacente à sala limpa, pode ser utilizada para este fim.

Figura 2 – Aspectos gerais e estratégicos considerados em procedimento de entrada de equipamentos fixos em áreas limpas para minimização dos riscos de contaminação.



Fonte: Adaptado de ABNT – NBR 146445 (2004).

Em relação ao deslocamento, esses equipamentos grandes devem ser reduzidos a um tamanho que facilite a entrada segura, recomendando-se a sua desmontagem, caso seja possível. Os acessórios utilizados para auxílio da instalação ou transporte dos equipamentos também devem ser limpos. Já quanto a instalação, recomenda-se realizar enquanto a sala limpa não estiver em operação, sendo tomadas medidas preventivas para se evitar a contaminação de salas adjacentes.

De acordo com a ISO 14644-5, a manutenção dos equipamentos também deve ser realizada de maneira segura, isto é, sem contaminar a sala limpa, uma vez que o equipamento não deve se tornar uma fonte de contaminação. Quando possível, os equipamentos devem ser

removidos da área para realização do reparo. Os operadores da manutenção não devem ter contato com os operadores da sala limpa que realizam os processos assépticos. Ao longo da execução da manutenção, devem ser efetuadas limpezas para evitar o acúmulo de contaminantes produzidos. As luvas devem ser trocadas regularmente para evitar qualquer contato da pele com as superfícies limpas.

No caso da necessidade de remoção de tais equipamentos, medidas estratégicas de redução do risco de contaminação devem ser adotadas, visto que há movimentação ou exposição de superfícies internas ou inacessíveis, que não são limpas regularmente, e possibilidade de desprendimento de partículas potencialmente contaminantes.

Os equipamentos portáteis e materiais, por sua vez, são itens que apresentam facilidade de transporte de entrada e saída das salas limpas. Estes equipamentos e materiais podem afetar no estado de limpeza do ambiente, caso não sejam selecionados, utilizados e armazenados em quantidades e formas corretas. Desse modo, como forma de gerenciar adequadamente os riscos de contaminação e garantir a manutenção dos requisitos necessários, analisa-se desde os critérios de seleção (Quadro 3) a procedimentos de fluxos desses materiais e equipamentos.

Em conformidade com definição entre cliente e fornecedor, ensaios e auditorias preliminares devem ser realizados. Os procedimentos realizados pelo próprio fornecedor poderão ser considerados suficientes para a entrada na sala limpa tal como seu uso. Todos os critérios de inspeção de entrada, métodos de amostragem e procedimentos devem ser documentados. Além disso, os métodos e tecnologias de avaliação devem ser revisados periodicamente (NBR ISO 14644-5). Em relação ao fluxo de entrada e saída desses materiais e equipamentos portáteis (Figura 3), segue-se de maneira similar ao proposto para equipamentos fixos, tendo em vista a necessidade de garantir a minimização de contaminação ou geração de partículas contaminantes.

A IN 35/2019 preconiza alguns aspectos a serem seguidos quanto aos equipamentos utilizados em sala limpa. Equipamentos que interliguem uma área de classificação A ou B a áreas de classificação inferior não devem ser utilizados, como as esteiras transportadoras, a menos que essa esteira seja esterilizada continuamente, como quando há uso de túnel de esterilização.

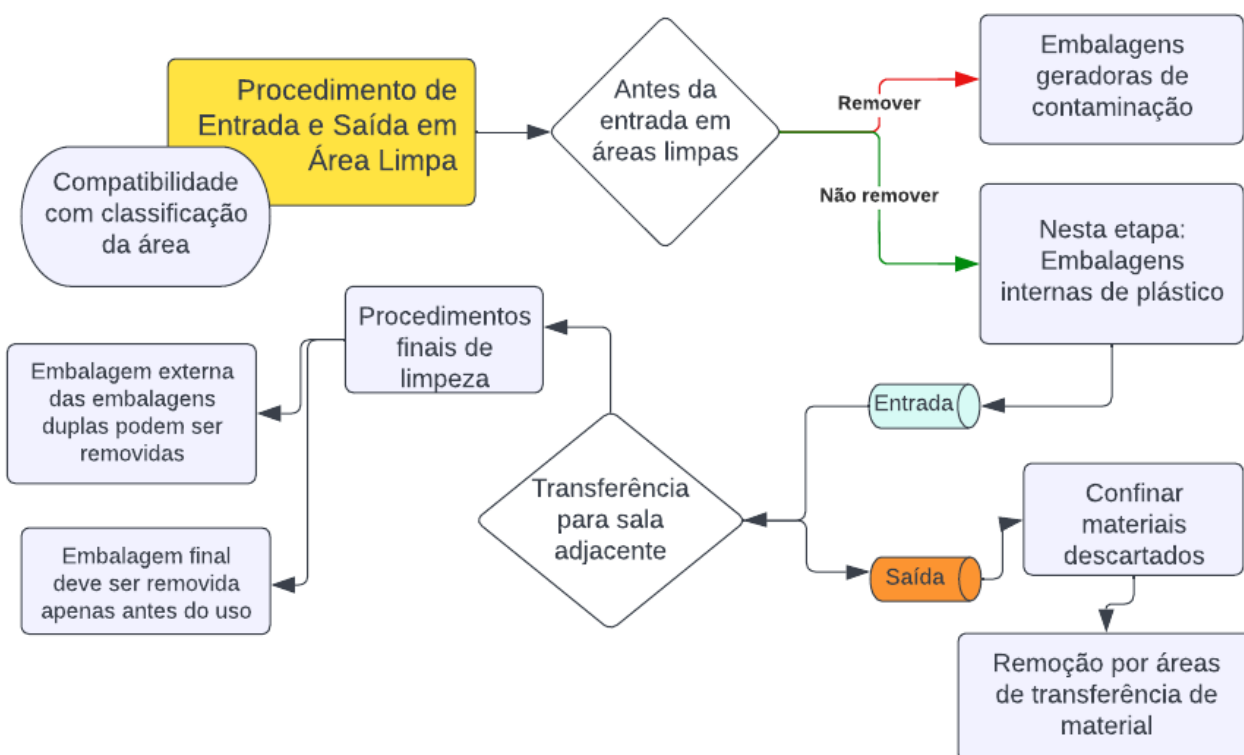
Todos os equipamentos utilizados, tais como esterilizadores, sistemas de tratamento de ar, sistemas de filtração do ar, filtros de ventilação e de gases, geração, armazenamento e distribuição da água, precisam estar documentados quanto à qualificação e sua manutenção preventiva, conforme ISO 14644.

Quadro 3 – Critérios de seleção aplicados a materiais e/ou equipamentos portáteis.

Critérios para Seleção – Materiais e Equipamentos Portáteis	
Características	<i>é necessário que os materiais possuam</i>
	- superfícies ou partes móveis que soltem ou gerem a menor contaminação possível;
	- superfícies íntegras, impermeáveis e limpas (exceções são necessárias em alguns casos, como panos de limpeza);
	- propriedades que minimizem a geração de contaminações por desprendimento ou corte;
	- embalagens adequadas para sala limpa;
	- compatibilidade com o ambiente de sala limpa.
Outros critérios	<i>determinados de acordo com o propósito e uso da sala limpa</i>
	- livres de substâncias químicas indesejáveis (por exemplo, ácidos, alcalinos, orgânicos);
	- propriedades antiestáticas aceitáveis;
	- propriedades de baixa liberação de gases;
	- livres de microrganismos;
	- compatíveis com os procedimentos de esterilização ou desinfecção em salas limpas biossensíveis.

Fonte: ABNT – NBR 146445 (2004).

Figura 3 – Fluxograma de procedimentos gerais adotados nas entrada e saída de alguns tipos de materiais portáteis em ambiente limpo.



Fonte: Adaptado de ABNT – NBR 146445 (2004).

3.2.2.1.4 Vestimentas e pessoal

A avaliação contínua e monitoramento é um requisito que deve ser criticamente avaliado para controle dos potenciais contaminantes. Dentre as principais fontes de contaminação, encontram-se os próprios operadores, equipamentos, estruturas e acabamentos, além de qualquer material utilizado que possa gerar partículas por meio de atrito, calor, exaustão ou outro meio físico. Como forma adicional de garantir a diminuição da contaminação, a vestimenta de sala limpa atua como uma barreira que protege o produto e o processo.

A utilização de vestimentas baseia-se na diminuição da transferência de contaminação durante a atividade operacional. Dessa forma, o tecido que compõe tais vestimentas denota atenção especial, visto que deve apresentar baixo potencial de geração de partículas, como fibras ou outros contaminantes, e ser resistente a deslocamento e rasgos (HU & SHIUE, 2016). Além disso, deve ser capaz de filtrar a contaminação emitida (Figura 4).

Estudos recentes demonstram que as taxas de emissão de partículas de um operador vestido estão correlacionadas com a intensidade da atividade humana (YOU et al, 2013). Além disso, condições específicas foram consideradas, como diferentes intensidades de atividade e diferentes trajes a fim de obter melhores conclusões acerca das características das partículas emitidas pelo corpo.

A taxa de emissão de partículas, também conhecida como *Source Strength* (SS), gerada por humanos e suas vestimentas em suas atividades pode ser calculada por meio de uma equação balanço de massa para partículas dentro de uma câmara de dispersão, conforme estudo recente (LICINA et al, 2017). De acordo com testes realizados por Ramstorp et al (2005) e realizando a mensuração por meio dessa taxa, verificou-se que, para operadores em estado parado, a taxa de emissão de partículas, no tamanho de $\geq 0,5 \mu\text{m}$, era de 40×10^3 pp/min, enquanto que, para operadores andando no ambiente, essa taxa subiu para 180×10^3 pp/min.

A seleção da vestimenta irá depender do estado de limpeza do produto e especificidades do processo, isto é, depende da classe da sala limpa. Normalmente, salas de Grau A, que apresentam maiores requisitos de limpeza, necessitam de macacão de uma só peça, botas e capuz com abas, que se inserem abaixo da gola do macacão. Como forma de simplificar as vestimentas e gerar mais conforto para operadores, em alguns casos, dispositivos de separação com sistemas integrados de ar limpo podem ser adotados, conforme ISO 14644-5.

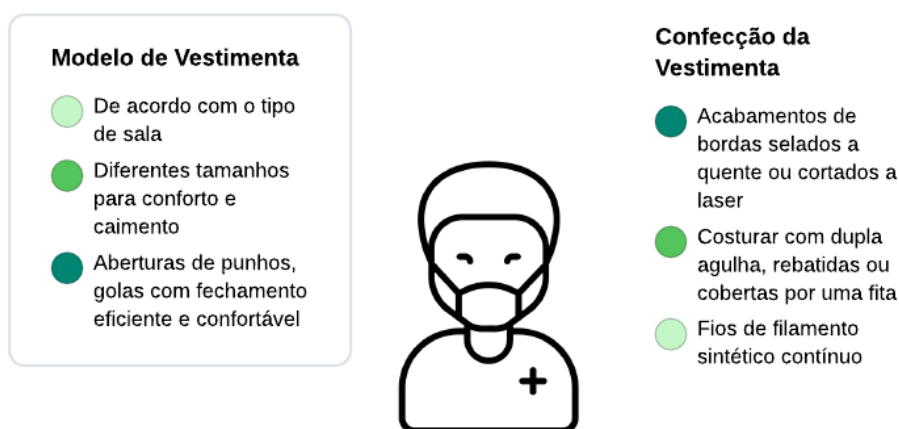
Em ambientes de sala limpa, as vestimentas utilizadas podem ser de uso limitado (do inglês, *single-use*), ou descartável, ou de uso múltiplo (do inglês, *multiple use*), que é reutilizável após limpeza adequada. Usualmente, vestimentas reutilizáveis são feitas de tecidos

sintéticos fechados, confeccionados a partir de fios contínuos (como poliéster ou poliamida) que não emitem fibras. Tecidos naturais, feitos a partir de fibras que se rompem facilmente, não devem ser utilizados. Alguns requisitos dos tecidos utilizados em sala limpa são resumidos na Quadro 4.

Em pesquisas recentes, as vestimentas descartáveis apresentaram melhor desempenho de barreira em relação a mensurações microbiológicas. As vestimentas reutilizáveis apresentaram uma concentração microbiológica moderadamente maior em relação às vestimentas estéreis de uso limitado, sendo 0,1 UFC/s/pessoa para vestimentas reutilizáveis comparado a zero para as descartáveis (ROMANO et al, 2020). Neste mesmo estudo, percebeu-se o efeito do modo de colocação das vestimentas bem como a sua qualidade interna na taxa de emissão final. Foram realizados testes que combinavam diferentes tipos de vestimentas e métodos de esterilização, demonstrando que o uso de vestimentas com tecidos sintéticos, além de serem estéreis e descartáveis, reduz consideravelmente a taxa de emissão total de partículas para o ambiente de sala limpa.

Como já evidenciado, a vestimenta utilizada em ambientes de sala limpa constituiu-se requisito importante a ser avaliado a fim de atenuar os riscos de contaminação do ambiente e do processo. Dessa forma, a IN 35/2019 traz especificações dessas vestimentas em relação ao ambiente para qual é utilizado, isto é, de acordo com o Grau de limpeza de cada ambiente. O Quadro 5 traz a descrição detalhada de acordo com tal normativa. As roupas de uso externo não devem ser transportadas para ambientes de paramentação destinados ao acesso de áreas Graus B ou C.

Figura 4. Aspectos relacionados à seleção e à confecção de vestimentas para sala limpa.



Não devem ser utilizados bolsos, pregas, pences, fechos do tipo velcro e faixas de ajuste nas costas. Confeccionada para diminuir contaminação.

Fonte: Adaptado de ABNT – NBR 146445 (2004).

Quadro 4 – Principais propriedades observadas para seleção de tecidos utilizados em salas limpas.

Propriedades do tecido	
<i>Requisito</i>	<i>Descrição</i>
Propriedades de barreira	Evitar que a contaminação seja dispersada; eficiência pode ser avaliada a partir da mensuração de: permeabilidade do ar, retenção de partículas e tamanho dos poros.
Durabilidade	Resistente ao desgaste e a rasgos.
Propriedades eletrostáticas	Cargas eletrostáticas, em alguns tipos de salas limpas, podem oferecer riscos aos operadores ou aos componentes da produção.
Outras propriedades físicas	A deterioração deve ser monitorada, visto que a eficiência diminui em função de alguns fatores, como idade, uso, lavagem, secagem, esterilização e outros pontos.

Fonte: ABNT – NBR 146445 (2004).

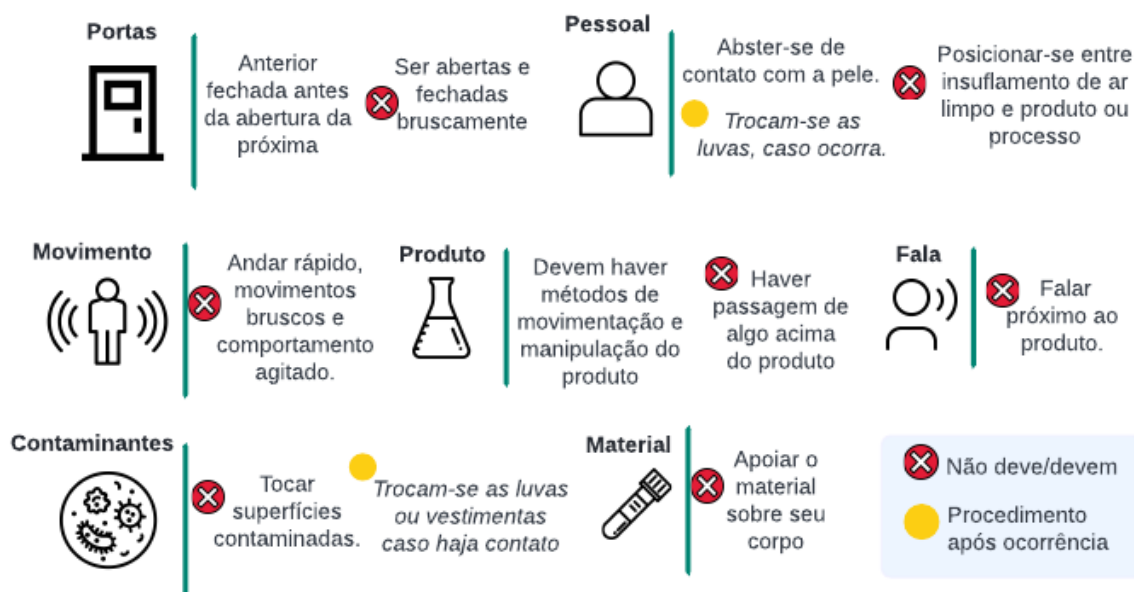
Em relação ao pessoal que possui acesso às áreas limpas, destaca-se que apenas as pessoas devidamente treinadas devem ter permissão para acesso e trabalho nesses ambientes. Operadores envolvidos na limpeza e manutenção também devem receber treinamento regular em tópicos relevantes quanto à produção de medicamentos estéreis. Apenas o número mínimo determinado de pessoas deve estar presente em áreas limpas, principalmente durante o processo asséptico, conforme IN nº 35/2019. Aspectos de disciplina e conduta também devem ser considerados a fim de minimizar a possibilidade de contaminação do produto (Figura 5).

Quadro 5 – Descrição de vestimentas utilizadas em ambientes de sala limpa.

Descrição de Vestimentas para Graus de Limpeza	
<i>Graus de Limpeza</i>	<i>Descrição de vestimentas</i>
GRAU A	Capuz que envolva todo o cabelo, bem como barba e bigode (quando aplicável), sendo sua borda inferior inserida na vestimenta; máscara facial; luvas estéreis sem pó (borracha ou plástico); calçados esterilizados ou desinfetados; mangas da vestimenta inseridas nas luvas e barras da calça inseridas no calçado.
GRAU B	Idem ao Grau A.
GRAU C	Cabelos devem estar cobertos, bem como barba e bigode (quando aplicável); vestimenta apropriada de calça e jaleco com mangas apertadas nos pulsos, gola alta e sapatos ou coberturas de sapatos.
GRAU D	Cabelos devem estar cobertos, bem com barba e bigode (quando aplicável); vestimentas protetoras e sapatos ou coberturas de sapato apropriados.

Fonte: BRASIL (2019).

Figura 5 – Aspectos gerais relacionados à disciplina e à conduta de pessoal em sala limpa.



Fonte: Adaptado de ABNT – NBR 146445 (2004).

Segundo a ISO 14644-5, todo o pessoal, antes do primeiro acesso ao ambiente limpo, deve receber um curso introdutório e, posteriormente, receber treinamentos periódicos. O treinamento deve evidenciar questões de higiene e elementos de microbiologia. Quanto ao acesso de pessoas visitantes, deve ser realizado com autorização e supervisão adequada.

Todo o pessoal envolvido na fabricação de preparações estéreis deve ser instruído quanto a sua condição de saúde. Dessa forma, torna-se recomendável a realização de exames periódicos para identificação dessas possíveis situações de risco microbiológico. O pessoal deve informar quanto a problemas que podem aumentar a contaminação da sala limpa, como condições da pele, resfriado ou tosse crônica, condições alérgicas.

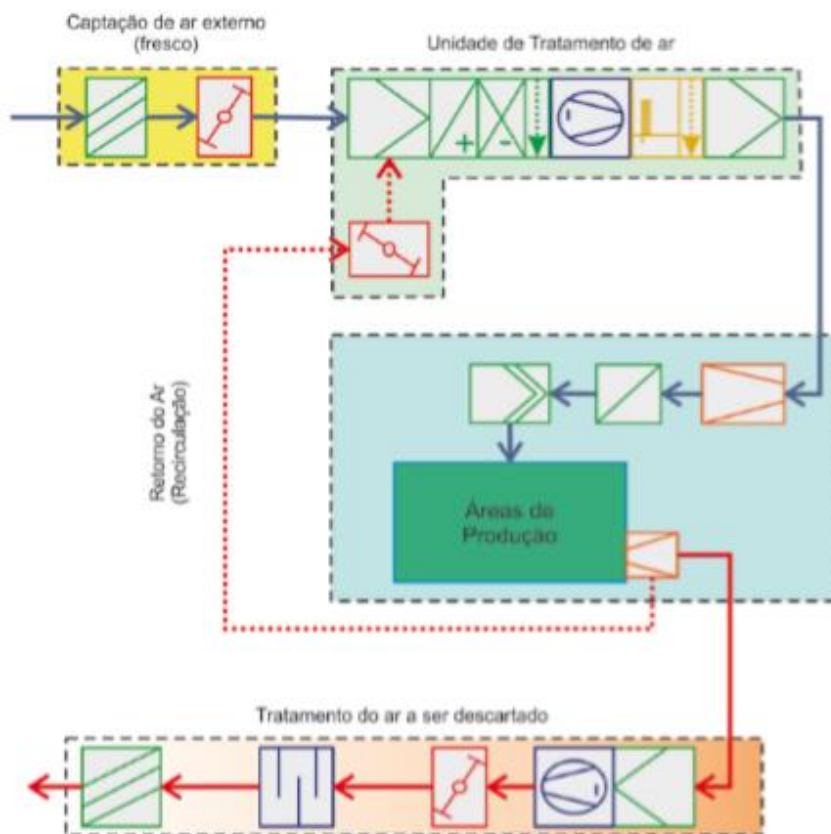
Além disso, a paramentação e processo de higienização pessoal devem seguir procedimentos escritos, direcionados a minimizar a contaminação da vestimenta bem como o carreamento para ambiente limpo, conforme IN n° 35/2019. Os itens pessoais também são importantes aspectos a serem analisados, uma vez que afeta a dispersão de partículas e fibras em suspensão. Deve ser considerado o fornecimento de roupas fabricadas a partir de fibras artificiais, como poliéster. Alguns itens, por sua vez, não devem ser utilizados em ambientes de área limpa, como relógio de pulso, joias e maquiagem. Alguns outros tipos de cosméticos são indesejáveis e devem ser avaliados quanto ao risco, como sprays de cabelo, esmalte de unha ou materiais semelhantes (NBR ISO 14644-5).

3.2.2.2 Sistemas de Filtração de Ar

O sistema de aquecimento, ventilação e ar-condicionado, referenciado pela sigla em inglês HVAC (*heating, ventilation and air-conditioning*), cujo termo já direciona acerca das três funções executadas por esse sistema, possui um importante papel na manutenção da qualidade durante os processos de fabricação farmacêutica, além de oferecerem proteção ao meio-ambiente e condições confortáveis e seguras ao operador. Devido ao impacto desse sistema na qualidade requerida, o planejamento é significativamente importante nas etapas de projeto, uma vez que será configurado de acordo com os aspectos críticos e particulares do processo ao qual está sendo direcionado.

A qualidade do ar numa sala limpa dependerá da contaminação exterior, isto é, do ar oriundo de fora e adentra o ambiente após passagem pelo sistema HVAC, e das atividades realizada naquela área, além da eficiência do tratamento de ar oferecido pelo sistema (ANVISA, 2013). Para atender aos requisitos de qualidade de ar, fundamentando-se em Boas Práticas de Fabricação, algumas funções precisam estar associadas ao tratamento de ar, como filtragem, aquecimento, arrefecimento, umidificação, desumidificação, ventilação e renovação.

Figura 6 – Principais subsistemas (conjunto pontilhado) de um sistema HVAC do ponto de vista de BPF



Fonte: ANVISA (2013).

Outro importante subsistema é a unidade de tratamento de ar, com sigla em inglês AHU, que se trata de um dispositivo usado para o condicionamento e circulação de ar. A grande parte das AHU consiste numa caixa metálica que contém alguns itens, como ventilador mecânico, elementos de aquecimento e arrefecimento, elementos de filtração, atenuadores de ruído e grelhas de admissão e saída de ar. Muitas funções essenciais de um sistema HVAC são realizadas por essa unidade, como as etapas de ventilação, aquecimento e arrefecimento, umidificação, desumidificação e as etapas de filtração do ar.

A etapa de ventilação tem como função o fornecimento de ar limpo para o ambiente, além de fornecer movimentação e renovação necessárias. Dessa forma, diluem-se e removem-se os contaminantes que são gerados no interior da sala, além de participar da criação e da manutenção do diferencial de pressão, que é um parâmetro fundamental para diminuição dos riscos de contaminação entre as áreas. A IN nº 35 de 2019 indica um valor de 10 a 15 pascais de diferença de pressão entre salas adjacentes com diferentes graus de limpeza. Essa pressão diferencial deve ser adequada e estável para prevenir o contrafluxo do ar.

Além da ventilação, a etapa de filtração está presente no sistema de HVAC com o objetivo de fornecer ar dentro dos níveis aceitáveis de partículas dentro de uma instalação. Esta etapa faz parte de um sistema de filtração que, segundo ISO 14644-4, apresenta três níveis de filtração recomendados, sendo eles: pré-filtração do ar externo, para fornecimento de um ar mais adequado para a instalação de filtração; filtração secundária, na instalação de tratamento de ar para proteção dos filtros finais, e filtração final, que se aplica antes do insuflamento na sala limpa. O dimensionamento do sistema de filtração é fundamental e determinante para instituição de padrões de limpeza de áreas e para redução de partículas no ar a níveis aceitáveis (ANVISA, 2013).

Em relação aos filtros utilizados, existem normas técnicas que classificam tais filtros de acordo com os métodos aplicados para teste de eficiência (Tabela 6). Contudo, apesar de a nomenclatura estar diretamente relacionada a essa eficiência, deve vir claramente descrita conforme documentos formais e deve ser utilizada preferencialmente a classificação definida nas versões vigentes das normas europeias ou normas ABNT equivalentes.

Em um sistema de tratamento de ar para abastecimento de áreas limpas produtivas, utiliza-se uma sequência de filtros com filtros menores, que são de menor eficiência e comumente chamados de “pré-filtros”, e filtros finais, que são de maior eficiência como os filtros HEPA. Apesar de menor eficiência, os pré-filtros são importantes para o sistema de tratamento, visto que se destinam à proteção do filtro de maior eficiência contra rápida saturação.

A NBR ISO 16401 traz a classificação de filtros baseada na EN 779:2002, que determina a eficiência de filtros grossos, a partir de ensaios gravimétricos, e a eficiência de filtros finos em relação à retenção de partículas de dimensão 0,4 μm (Tabela 7). A classificação será determinada de acordo com procedimentos de ensaio estipulados pela EN 779:2002.

Tabela 6 – Classificação dos filtros EPA, HEPA e ULPA.

<i>Grupo</i>	<i>Classe</i>	<i>Valores Globais</i>		<i>Valores Locais</i>	
		Eficiência [%]	Penetração máxima [%]	Eficiência [%]	Penetração máxima [%]
EPA	E10	85	15	-	-
	E11	95	5	-	-
	E12	99,5	0,5	-	-
HEPA	H13	99,95	0,05	99,75	0,25
	H14	99,995	0,005	99,975	0,025
ULPA	U15	99,9995	0,0005	99,9975	0,0025
	U16	99,99995	0,00005	99,99975	0,00025
	U17	99,999995	0,000005	99,999975	0,000025

Fonte: EN 779 (2002).

Tabela 7 – Classificação dos filtros de partículas de acordo com EN 779:2002.

<i>Tipos de Filtros</i>	<i>Classe</i>	<i>Eficiência gravimétrica média (Eg %)</i>	<i>Eficiência média para partículas de 0,4 μm (Ef %)</i>
Grossos	G1	50 Eg 65	-----
	G2	65 Eg 80	-----
	G3	80 Eg 90	-----
	G4	90 Eg	-----
Finos	F5	-----	40 Ef 60
	F6	-----	60 Ef 80
	F7	-----	80 Ef 90
	F8	-----	90 Ef 95
	F9	-----	95 Ef

Fonte: ABNT – NBR 164013 (2008).

Os tipos de filtros que são utilizados para a diferentes aplicações dependem da qualidade do ar ambiente, do ar de retorno (quando se aplica) e das taxas de trocas de ar. Dessa forma, o nível de proteção e de limpeza do ar fornecido a uma área limpa deve ser determinado considerando aspectos do produto fabricado, do processo fabril e da susceptibilidade do produto a ser degradado. Nesse cenário, áreas limpas necessitam de estruturas filtrantes mais eficientes. Conforme Guia de Sistema de Ar, a sequência de filtros utilizados pode não ser aplicável a

todas as áreas; dessa forma, a escolha de filtros mais eficientes deve ser considerada. O Quadro 6 traz um resumo acerca dos filtros utilizados para cada grau de limpeza.

Além das etapas já citadas, a UTA também apresenta a funcionalidade de desumidificação e umidificação, que são funções realizadas frequentemente, de forma simultânea, nos trocadores de calor das UTA, sendo que a desumidificação ocorre por condensação da água presente no ar. Alguns dessecantes químicos contendo sílica ou cloreto de lítio são aceitáveis para aplicação nesta etapa de desumidificação; contudo, deve-se atentar para não se tornar uma fonte de contaminação. Da mesma forma, umidificadores devem ser evitados, devido à possibilidade de crescimento microbiano, por exemplo. Os filtros de ar não devem ser instalados imediatamente após umidificadores, pois a umidade pode favorecer o crescimento microbiano nas superfícies desses filtros (ANVISA, 2013). A utilização de umidificadores do tipo bandeja aquecida não é recomendada, devido à permanência de água morna estagnada e, conseqüentemente, maior potencial de crescimento microbiano.

Quadro 6 – Necessidades mínimas de elementos filtrantes para áreas limpas de acordo com os diferentes graus de limpeza.

<i>Classificação da área</i>	<i>Forma de Operação das Áreas</i>	<i>Filtração mínima recomendada</i>
Grau D	Áreas produtivas operando com 100% de ar renovado;	G4 e F8
Grau D	Áreas operando com ar recirculado mais ar fresco, e que há risco de contaminação cruzada;	G4, F8 e H13 (filtro HEPA pode estar localizado terminalmente ou na UTA)
Grau C	Áreas operando com ar recirculado ou 100% renovado;	G4, F8 e H13 (filtro HEPA pode estar localizado terminalmente ou na UTA)
Grau A ou B	Áreas operando com ar recirculado ou 100% renovado.	G4, F8 e H13 (filtro HEPA deve estar instalado terminalmente)

Fonte: ANVISA (2013).

As unidades de tratamento do ar estão conectadas por dutos, que tanto distribuem o ar tratado quanto retornam com o ar de extração; ocasionalmente uma UTA pode insuflar e extrair o ar de maneira direta, isto é, sem passar por dutos. Os sistemas de dutos de abastecimento e de

retorno são revestidos por uma manta térmica que atenua a troca de calor do ar tratado. Tais estruturas são submetidas a um controle periódico de manutenção e limpeza, a fim de assegurar a ausência de vazamentos e de acúmulo de contaminantes no sistema (ANVISA, 2013).

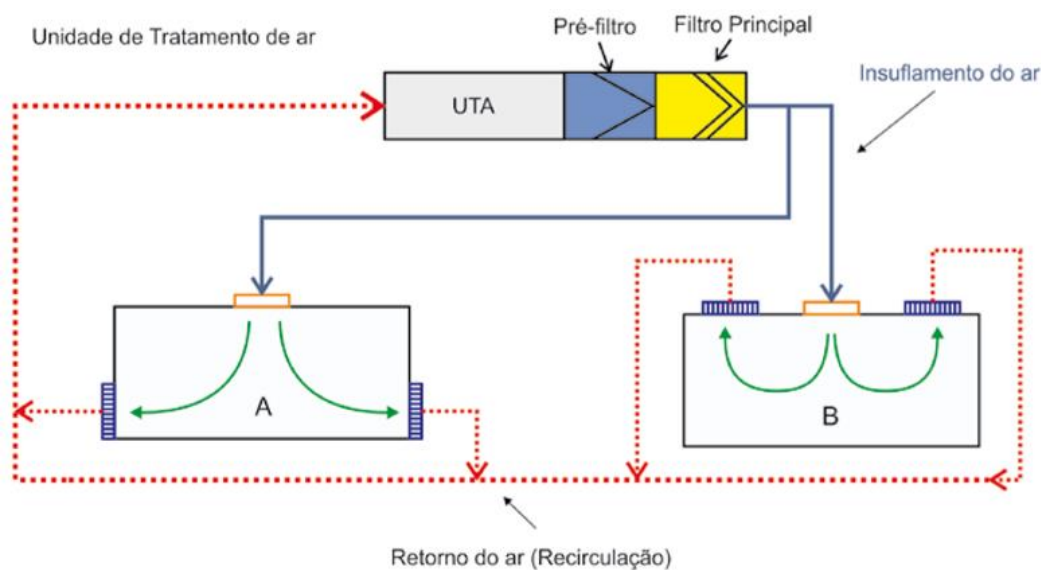
O ar que é tratado pode ser totalmente descartado ou recirculado após ser insuflado na área produtiva. Contudo, a possibilidade de recirculação do ar deve ser avaliada segundo os aspectos de BPF. O ar descartado, por sua vez, deve ser filtrado antes de eliminação para o ambiente, a fim de minimizar o risco de contaminação ambiental. O grau de filtração do ar de exaustão dependerá dos contaminantes existentes no ar e das exigências regulatórias aplicadas. Quando pós são gerados, mas essas partículas não são altamente potentes, devem ser utilizados filtros finos na parte dos filtros finais, com classificação F9, conforme EN 779:2002. Caso tais partículas sejam substâncias perigosas, recomenda-se minimamente o uso de filtros do tipo HEPA na exaustão do ar. Recomenda-se que, quando possível, as partículas sejam removidas o mais próximo possível da sua fonte de geração. Os pontos de extração podem não ser suficientes para completa retirada das partículas que são geradas. Dessa forma, fluxos unidirecionais são aplicados para removê-los.

Os regimes de fluxo de ar em salas limpas, por sua vez, são importantes para minimização da contaminação do ambiente, visto que os contaminantes devem ser controlados pela diluição do ar em que está presente ou pela substituição desse ar. Quanto ao padrão de insuflamento, esses podem ser caracterizados como unidirecional e não-unidirecional (ou turbulento). Os sistemas de fluxo unidirecional utilizados numa sala de grau de limpeza A devem ter uma velocidade entre 0,36 m/s e 0,54 m/s. Em processo produtivo, a velocidade desse fluxo de ar não deve encontrar-se inferior a 0,36 m/s.

O fluxo de ar laminar caracteriza-se como um fluxo no qual toda a quantidade de ar se encontra confinada a uma área e se move a uma velocidade unidirecional ao longo de linhas de fluxo paralelas. O insuflamento do ar ocorre por meio de filtros instalados no teto e a exaustão do ar, por sua vez, é preferível que seja realizada em um nível abaixo da sala (ilustração A da figura 7). A captação do ar exaurido por meio do teto não é recomendada para áreas que exijam maior grau de limpeza (ilustração B da figura 7).

Dessa maneira, o conhecimento do processo produtivo bem como as características do produto que está sendo fabricado deve fundamentar a compatibilidade do sistema HVAC para aquela área. Os produtos estéreis, por sua vez, necessitam de requisitos adicionais de proteção de contaminação se comparado a outros produtos. Portanto, em se tratando de processo asséptico, o sistema HVAC utilizado deve ofertar o maior nível de proteção a fim de garantir as características de esterilidade do produto e sua qualidade.

Figura 7 – Pontos de captação do ar de exaustão.



Fonte: ANVISA (2013).

3.2.3 Parâmetros de Monitoramento

Segundo a NBR ISO 14644-2, o monitoramento consiste em observações realizadas por medição, a partir de métodos e planos definidos, a fim de fornecer evidências do desempenho de instalações e ambientes. Tal monitoramento baseia-se em testes, que são procedimentos realizados de acordo com um método definido de maneira a determinar o desempenho do que se avalia. A partir da realização desses testes especificados, a conformidade contínua com os parâmetros de limpeza do ar é verificada. Os resultados são documentados e utilizados como indicativo de status do elemento avaliado, além de possibilitarem a determinação da frequência com que os testes são realizados (ABNT ISO 14644-2).

3.2.3.1 Contagem de partículas em suspensão no ar

O monitoramento das partículas em suspensão de um ambiente limpo é um importante parâmetro a ser analisado, tendo em vista a grande necessidade de controle dos possíveis contaminantes nessa área. A ISO 14644-1, que traz aspectos quanto à classificação da limpeza do ar, determina a medição da concentração de partículas em volume do ar (partículas/m³ do ar) por meio de instrumento de dispersão de luz. Esse mesmo teste é aplicado para definição da classe ISO e também definido pela ISO 14644-2 como teste para monitoramento da conformidade contínua daquela área.

De acordo com essa normativa, o intervalo de realização desse teste para monitoramento é de: a) 6 meses, para áreas com classificação $\leq$ ISO classe 5; b) 12 meses, para áreas com classificação $>$ ISO classe 5. Os testes de contagem de partículas normalmente são realizados no estado operacional (ou em operação) – condição na qual a instalação está funcionando nas condições especificadas, com o número de pessoas conforme especificado – mas também pode ser realizado em repouso, de acordo com a ISO especificada.

A fim de realizar a medição de maneira precisa, alguns requisitos devem ser observados no instrumento utilizado. O contador de partículas discretas (CPD) deve dispor de visualização da contagem e do tamanho das partículas discretas em suspensão no ar; além de sistema de amostragem adequado, deve ter capacidade de diferenciação dos tamanhos de partículas que serão analisados para a classe considerada. O instrumento deve estar devidamente calibrado.

Antes de iniciar o processo, algumas condições preliminares devem ser atendidas. Os elementos que contribuem para integridade operacional da área limpa devem estar completos e funcionando em plena especificação de desempenho. A ISO 14644-2 traz exemplos de verificações que podem ser realizadas: ensaios de diferencial de pressão de ar, da integridade da contenção e de vazamento dos filtros instalados; medição de vazão ou velocidade de ar. O ajuste do instrumento e a verificação da calibração devem ser realizados.

Conferindo adequadamente as condições preliminares, inicia-se o teste de contagem de partículas com o recolhimento das amostras. Para essa amostragem, fazem-se necessárias as definições do número dos pontos de medição e do volume da amostra unitária por ponto de medição. O número mínimo de pontos de medição é obtido por meio da equação contida na ISO 14644-2 (Equação 2). Os pontos de medição devem estar uniformemente distribuídos através da área limpa e posicionados na altura de trabalho. Caso seja necessário, após análise de risco, pontos de medição adicionais podem ser considerados. Em cada ponto de medição, deve ser realizada a amostragem de volume suficiente de ar, de maneira que no mínimo 20 partículas possam ser detectadas, se a concentração para o maior tamanho de partículas estiver no limite da classe adotada. O volume mínimo de cada amostra será obtido por meio da equação também determinada pela ISO 14644-2 (Equação 3).

Equação 2 – Fórmula para definição do número de pontos de definição.

$$N_L = \sqrt{A}$$

Onde: N_L é o número mínimo de pontos de medição (arredondando para o número inteiro acima)

A é área da sala ou zona limpa, em metros quadrados.

Equação 3 – Fórmula para definição do volume da amostra unitária por ponto de medição.

$$V_s = \frac{20}{C_{n,m}} \times 1000$$

Onde: V_s é o volume mínimo de cada amostra por ponto de medição, em litros.

$C_{n,m}$ é o limite da classe (número de partículas por metro cúbico) para o maior tamanho especificado de partículas para a classe em questão.

20 é o número definido de partículas que poderiam ser contadas, se a concentração de partículas estivesse no limite de classe.

Quando o volume mínimo de cada amostra for muito elevado, o tempo exigido para a amostragem pode ser considerável. Nesse cenário, pode ser adotado um método de amostragem sequencial. Para cada ponto de medição, o volume da amostra deve ser pelo menos de 2 L, com tempo de amostragem mínimo de 1 minuto. Após a realização da medição de partícula em cada ponto de medição, o resultado da contagem deve ser registrado como a concentração para cada tamanho de partícula, de acordo com a classificação de limpeza especificada.

Conforme NBR ISO 14644-1, devem ser calculados a média dos valores médios, o desvio-padrão e o limite superior de 95% de confiança a partir da concentração de partículas, de cada ponto de medição, quando o número de pontos for maior que 1 e menor que 10. Desse modo, quando a quantidade de pontos de medição for 1 ou quando mais de 9 pontos forem amostrados, não se aplica o cálculo do limite superior de 95% de confiança.

As amostras de áreas em operação devem ser coletadas rotineiramente e sob o aspecto do “pior caso” para contaminação. Etapas em que consistam do produto aberto em contato com o ambiente ou quando na abertura de recipientes contendo o produto são cenários de casos de maior risco à contaminação. Em salas onde operações abertas são realizadas em uma capela de fluxo de ar unidirecional, essa área da capela deve ser amostrada rotineiramente. Nesses casos em que o “pior caso” não é possível, os critérios utilizados para construção do plano de amostragem devem ser descritos e documentados.

É válido destacar que a atividade de amostragem não deve expor o produto ou processo a maiores riscos de contaminação, mas sim devem ser adotadas formas de amostragem que minimizem tais riscos, como uso de portas de amostragem durante as operações assépticas, em lugar de colocar dispositivos de amostragem em uma área de fluxo unidirecional (WHO, 2012).

Dessa forma, realiza-se a amostragem nos pontos que ofereçam maior proximidade ao produto, a fim de coletar o ambiente imediato que pode conter partículas ou microrganismos, sem interferir indevidamente na operação.

A sala atenderá aos requisitos de limpeza quanto à concentração de partículas se as médias das concentrações de partículas de cada ponto de medição e o limite superior de 95% de confiança não excederem os limites de concentração, determinados pela fórmula definida na ISO 14644-1 (Equação 1). Casos esses resultados não atendam à classificação especificada, contagem em pontos de medição adicionais pode ser realizada, sendo estes distribuídos de maneira uniforme. Portanto, os resultados devem ser definitivos para a avaliação. É importante destacar que a conformidade com a classificação para partículas em suspensão deve ser determinada no estado “em operação” (WHO, 2011).

Para as áreas de Grau A, o monitoramento de partículas deve ser realizado durante toda a duração dos processos críticos, incluindo as operações simuladas. O monitoramento dessas áreas deve apresentar frequência adequada e tamanho de amostra efetivamente representativo a fim de que todas as intervenções, eventos transitórios ou qualquer deterioração possam ser capturados e os limites de alerta sejam disparados na ocorrência de excursões.

Para as áreas de Grau B, um sistema similar ao utilizado para Grau A pode ser aplicado; contudo, a frequência pode ser diminuída. Essa extensão de monitoramento para área de Grau B deve-se a sua efetividade de segregação das áreas de Grau A que circunda. Nestas áreas de Graus A e B, o monitoramento de partículas maior ou igual a $0,5\ \mu\text{m}$ apresenta significativa influência, uma vez que se configura como uma importante ferramenta de análise de possíveis falhas, como do sistema de tratamento de ar operante. O monitoramento ambiental das áreas de Graus C e D deverão ser determinados de acordo com uma análise de risco.

O monitoramento da contagem de partículas não viáveis é de fundamental importância, contudo não oferece informação sobre o conteúdo microbiológico do ambiente. Os agentes microbianos não se encontram suspensos livremente no ar, mas sim adsorvidos em partículas de tamanho entre 10 a $20\ \mu\text{m}$. Dessa forma, o controle de partículas viáveis também é imprescindível para atingir e manter parâmetros de limpeza do ar em ambientes de processo asséptico.

De acordo com IN 35/2019, quatro métodos são adotados para monitoramento de áreas com operações assépticas, a saber: placas de sedimentação, placas de contato, amostragem volumétrica do ar e amostras para avaliação de contaminantes em superfície. Em áreas com maior nível de limpeza do ar (Grau A), a amostragem volumétrica do ar, a exposição das placas

de sedimentação e a coleta de amostras das superfícies de luvas de operadores devem ser realizados por cada turno das operações (ANVISA, 2013).

A frequência do monitoramento dependerá de especificações de cada área classificada, conforme descrevem os Quadros 7 e 8. Além disso, para o monitoramento ambiental de tais áreas, a revisão e análise de dados são de grande importância. Tais resultados, dessa forma, permitem que mudanças ao longo tempo sejam examinadas e instauradas, caso necessário, e estabeleçam medidas ainda mais eficientes quanto à minimização de riscos (SANDLE, 2012).

Quadro 7 – Frequência de monitoramento de partículas não viáveis durante operações de rotina de acordo com classificação de limpeza.

Classificação	Amostragem rotineira de partículas não viáveis (em operação)
<i>Grau A (operações de envase asséptico)</i>	Por toda a duração da operação
<i>Grau B</i>	Dias em que são executadas operações
<i>Grau C</i>	Semanalmente
<i>Grau D</i>	Não requerido
<i>Estações de fluxo de ar unidirecional em áreas Grau B</i>	Dias em que são executadas as operações
<i>Estações de fluxo de ar unidirecional em áreas Grau C</i>	Semanalmente
<i>Estações de fluxo de ar unidirecional em áreas Grau D</i>	Mensalmente
<i>Estações de fluxo de ar unidirecional em áreas não classificadas</i>	Requalificações periódicas são suficientes

Fonte: WHO (2012).

Quadro 8 – Frequência de monitoramento de partículas viáveis durante operações de acordo com classificação de limpeza

Classificação	Amostra de Ar cfu/m³	Placas (diâmetro de 90 mm) cfu/4 horas	Placas de contato (diâmetro de 55 mm) cfu/placa	Impressão de luva de 5 dedos cfu/luva
<i>Grau A (operações de envase asséptico)</i>	Uma vez por turno	Por todo tempo que a atividade de produção for realizada	Uma vez por turno	Uma vez por turno
<i>Grau B</i>	Diariamente	Diariamente	Diariamente	Diariamente
<i>Grau C</i>	Semanalmente e	Semanalmente	Semanalmente	N/A
<i>Grau D</i>	Mensalmente	Mensalmente	N/A	N/A
<i>Estações de fluxo</i>	Uma vez por turno	Uma vez por turno	Uma vez por turno	Uma vez por turno

Quadro 8 – Frequência de monitoramento de partículas viáveis durante operações de acordo com classificação de limpeza

<i>unidirecional em áreas de Grau B</i>				
<i>Estações de fluxo unidirecional em áreas de Grau C</i>	Semanalmente e	Semanalmente	Semanalmente	Semanalmente
<i>Estações de fluxo unidirecional em áreas Grau D</i>	Mensalmente	Mensalmente	Mensalmente	N/A

Fonte: WHO (2012).

3.2.3.2 Fluxo de ar e diferença de pressão

No que diz respeito ao fluxo de ar, como já mencionado em tópico 3.2.2.2, este parâmetro apresenta fundamental importância no controle de contaminação do ambiente. O método de ensaio preconizado pela ISO 14644-2 tem como propósito a medição da velocidade e uniformidade do fluxo de ar, e a vazão de insuflamento de ar em salas limpas e zonas limpas. No caso de salas limpas com fluxo unidirecional, a medição da distribuição da velocidade é o ensaio requerido.

Para o ensaio da velocidade do fluxo do ar, recomenda-se que a velocidade do fluxo de ar seja medida a uma distância aproximada de 150 a 300 mm da face do filtro. O número de pontos de medição deve ser suficiente para determinar a vazão de ar de insuflamento em salas e zonas limpas; além disso, deve ser a raiz quadrada de 10 vezes a área analisada em metros quadrados e não ser menor que 4.

Na determinação da uniformidade da velocidade do fluxo de ar em uma sala limpa, também se recomenda que seja feita a medição a uma distância aproximada de 150 a 300 mm. Nos casos em que equipamentos e bancadas de trabalho estejam instalados, a ISO 14644-3 recomenda que as medições não sejam feitas em suas proximidades.

No que concerne ao ensaio de diferença de pressão de ar, este método tem o objetivo de verificar a capacidade da instalação em manter as diferenças de pressão especificadas entre a instalação e o seu entorno, bem como os ambientes separados dentro da instalação. Para a realização do teste, recomenda-se a confirmação quanto as especificações das vazões de insuflamento de ar e do balanceamento da instalação. A medição deve ser realizada com todas as portas fechadas e executada próxima ao centro da sala limpa e distantes de dispositivos de entrada e saída de ar, que podem influenciar a pressão local no ponto de medição. Além disso,

a ISO 14644 recomenda a instalação de pontos permanentes para tal medição a fim de minimizar os erros.

3.3 Validação e Qualificação

3.3.1 Aspectos Gerais

Segundo a RDC nº 658/2022, a validação consiste na ação de provar, baseando-se nos princípios das Boas Práticas de Fabricação, que qualquer procedimento, processo, material, equipamento, atividade ou sistema operem de maneira a levar aos resultados esperados. A fim de atestar tais resultados, é preciso que esta conduta de validação seja devidamente documentada.

Essencialmente, a validação e qualificação possuem o mesmo conceito; contudo, normalmente o termo “qualificação” é utilizado para equipamentos, utilidades e sistemas, enquanto que “validação” comumente se aplica a processos (ANVISA, 2006). Dessa forma, a qualificação consiste na utilização de testes necessários que verifiquem e assegurem que o sistema, ou equipamento, tenha sido projetado, construído e seja operante dentro dos limites de aceitação para os parâmetros identificados como critérios relevantes para a qualidade, segurança e eficácia do produto em foco.

Quanto às atividades realizadas na validação e qualificação, todas devem ser planejadas anteriormente, levando em consideração o ciclo de vida útil das instalações, equipamentos, sistemas, utilidades, processos e produtos. Tais atividades devem ser realizadas somente por pessoal devidamente treinado, conforme Instrução Normativa de Diretrizes Complementares à Qualificação e Validação. Além disso, segundo mesma Normativa, os principais elementos referentes ao programa de validação e qualificação da planta devem estar descritos e documentados em um plano mestre de validação (PMV) ou algum documento equivalente. O PMV deve referenciar algumas informações como descreve a Quadro 9.

As atividades de qualificação, por sua vez, devem considerar todas as etapas, desde o desenvolvimento inicial das especificações de requisitos do usuário (ERU) até a finalização do uso do equipamento, instalação, utilidade ou sistema. A ERU consiste em um conjunto de requisitos do usuário necessários e suficientes para a criação de um projeto realizável com o propósito pretendido. Sequencialmente, tem-se a Qualificação de Projeto (QP), que irá demonstrar e documentar a conformidade do projeto com as BPF. O equipamento a ser instalado deve apresentar conformidade com as ERU e deve demonstrar funcionalidade em

fábrica e no local instalado, equivalente aos testes de aceitação na fábrica (TAF/FAT) e na planta (TAP/SAT).

Quadro 9 – Informações mínimas recomendadas para constar em um Plano Mestre de Validação.

<i>Informações mínimas presentes em um PMV</i>	
<i>I.</i>	<i>Política de qualificação e validação;</i>
<i>II.</i>	<i>Estrutura organizacional, incluindo funções e responsabilidades para atividades de qualificação e validação;</i>
<i>III.</i>	<i>Resumo das instalações, equipamentos, sistemas e processos da planta e o status de qualificação e validação destes;</i>
<i>IV.</i>	<i>Controle de alterações e gestão de desvios para qualificação e validação;</i>
<i>V.</i>	<i>Orientação sobre o desenvolvimento de critérios de aceitação;</i>
<i>VI.</i>	<i>Referências a documentos existentes;</i>
<i>VII.</i>	<i>Estratégia de qualificação e validação, incluindo a revalidação quando aplicável.</i>

Fonte: BRASIL (2022b).

Além desses testes, também são executadas as Qualificação de Instalação (QI), Qualificação de Operação (QO) e Qualificação de Desempenho (QD). A QO normalmente segue a QI, mas, a depender da complexidade do equipamento, é possível fazer uma combinação de tais etapas de Qualificação de Instalação/Operação (QIO). A QD, por sua vez, consiste na evidência documentada de que tanto os sistemas quanto equipamentos executam suas funções de acordo com métodos, processos ou especificações aprovadas. Usualmente esta etapa segue-se à conclusão bem-sucedida da QI e QO, conforme Instrução Normativa (BRASIL, 2022b).

Um processo produtivo, por sua vez, precisa ser avaliado quanto a sua capacidade de produzir adequadamente seus produtos dentro das especificações requeridas, garantindo a qualidade, segurança e eficácia do que está sendo produzido. Nesse contexto, insere-se a validação de processo, que consiste na evidência documentada de que um processo pode desempenhar suas funções efetivamente e reprodutivamente dentro das especificações e atributos de qualidade; ou seja, irá estabelecer se todos os atributos da qualidade e parâmetros do processo são consistentemente atendidos pelo processo. Os lotes que serão produzidos para a validação de processo devem ter o mesmo tamanho que os lotes em escala comercial no que se refere ao granel (BRASIL, 2022b).

A normativa correspondente às atividades de validação e qualificação traz definições de três tipos de validação que podem ser realizadas, a depender do processo, produto e fase do desenvolvimento, sendo elas: validação prospectiva, retrospectiva e concorrente. A validação

prospectiva consiste na validação realizada antes da produção dos lotes comerciais. Segundo estudos de Chow & Liu (2018), este tipo de validação é geralmente aplicado em novos processos de produção ou quando existem modificações substanciais neste processo.

Já a validação retrospectiva, consiste no ato documentado realizado a partir da avaliação da experiência passada de produção, sendo esta produção composta por procedimentos e equipamentos inalterados. O processo será analisado a partir de dados históricos, que devem conter informações suficientes para evidenciar todos os parâmetros e especificações desse processo. Dessa forma, devem ser representativos (ROKEMBACH, 2004). Segundo a IN 138/2022 (Capítulo II, Disposições Gerais, Parágrafo único), “a validação retrospectiva não é considerada uma abordagem aceitável”.

A validação concorrente, por sua vez, é realizada em situações excepcionais e justificadas por meio da forte relação risco-benefício em prol do paciente; neste caso, executa-se o protocolo de validação de maneira concomitante à comercialização dos lotes de validação, como regulado pela instrução normativa correspondente (BRASIL, 2022b).

3.3.2 Validação de Processo Asséptico

O processo asséptico, como mencionado em item 3.2.1, é aplicável a classes de produtos que não podem ser esterilizados em seu acondicionamento final e devem ser preparados com o emprego de processamento asséptico. Tal processo é projetado de maneira a prevenir a contaminação dos componentes estéreis por microrganismos viáveis e o produto deve ser fornecido isento de microrganismos. Em um processo asséptico, o ambiente onde os insumos são manipulados e a etapa de enchimento asséptico são considerados pontos críticos (ANVISA, 2019).

Segundo a Farmacopeia Brasileira (6ª edição), a certificação e validação do processo bem como de instalações assépticas são realizadas através da confirmação da eficiência do sistema de filtração, do procedimento de monitoramento microbiológico do ambiente e da simulação de enchimento asséptico do produto. À vista disso, a validação do processo asséptico deve ser realizada a fim de verificar e documentar se os parâmetros e especificações encontram-se devidamente atendidos pelo processo.

Para a fabricação de todas as formas farmacêuticas, a validação de processo consiste na evidência documentada de que determinado processo desempenha suas funções efetiva e reprodutivamente, produzindo um medicamento dentro dos atributos de qualidade pré-estabelecidos, conforme IN 138/2022. Tais atributos, por sua vez, descrevem propriedades ou

características físico-químicas e biológicas, que devem estar dentro de um intervalo de qualidade especificado. Durante o processo, os parâmetros críticos do processo serão monitorados e controlados, visto que sua variabilidade apresenta impacto em um ACP.

Dessa maneira, a validação do processo é imprescindível para estabelecer se todos os PCP são consistentemente atendidos e evidenciar a robustez deste processo de desenvolvimento de produtos – uma vez que um processo robusto é necessário para permitir uma validação de processo bem-sucedida, conforme Art. 44 da IN 138/2022.

3.3.2.1 Simulação do Processo Asséptico

A simulação do processo asséptico também pode ser conhecida como teste de enchimento simulado ou *media fill*. Neste método, deve ser avaliada a capacidade do processo em garantir toda a esterilidade do produto, abrangendo todas as suas etapas. Segundo PDA (2008), além de avaliar a capacidade do processo em garantir a esterilidade dos produtos, podem ser avaliadas qualificações dos operadores quanto ao cumprimento dos requisitos de qualidade. O teste de simulação do processo asséptico deve mimetizar o mais próximo possível do processo de fabricação asséptico de rotina, incluindo todas as etapas críticas e subsequentes do processo de fabricação (BRASIL, 2019).

No método *media fill*, um meio de crescimento microbiológico adequado é utilizado no lugar da solução do produto para verificação da esterilidade do processo. Alguns critérios devem ser seguidos no processo de seleção, conforme ISO 13408. O meio deve: a) ser capaz de suportar uma ampla gama de microrganismos; b) ser submetido a testes de promoção de crescimento e incluir seletividade para microrganismos frequentemente identificados na área de processamento asséptico; c) apresentar desempenho de crescimento e segurança de uso; d) apresentar clareza para observação satisfatória da turbidez.

A simulação do processo asséptico deve ser cuidadosamente planejada a fim de garantir que a duração da simulação e o número de manipulações realizadas sejam representativas do processo real, além de se basear em uma avaliação formal de risco do processo, focada no controle da contaminação (WHITE, 2010).

O volume preenchido por recipiente deve ser suficiente para atingir todas as superfícies do recipiente quando girados ou invertidos e deve apresentar espaço livre suficiente para garantir capacidade de crescimento microbiano e para garantir que a turbidez possa ser detectada no exame posterior. Os recipientes cheios devem ser agitados, girados ou invertidos

antes de sua incubação para garantir o contato do meio com todas as superfícies internas do recipiente (FDA, 2004).

As unidades envasadas serão incubadas a uma temperatura de 20° a 25°C, por um período mínimo de 7 dias, na posição vertical e com a tampa para cima. Posteriormente, são mantidas em incubação a uma temperatura de 30° a 35°C, por mais um período mínimo de 7 dias, na posição contrária, totalizando o tempo mínimo de incubação de 14 dias em temperatura controlada. Após a realização do teste, o meio é avaliado quanto à esterilidade. Se acusar crescimento microbiano, deve-se investigar a origem da contaminação, tomar ações corretivas e preventivas e repetir a simulação do processo (BRASIL, 2019).

Para lotes pequenos, isto é, menor que 5.000 unidades, o número de recipientes a serem envasados deve ser, no mínimo, igual ao tamanho do lote do produto. Na interpretação dos resultados gerados, tais regras precisam ser aplicadas: a) ao envasar menos de 5.000 unidades, nenhuma unidade contaminada deve ser encontrada; b) ao envasar de 5.000 a 10.000 unidades, 1 unidade contaminada resulta em investigação e consideração quanto à repetição do teste de simulação; e 2 ou mais unidades contaminadas são causas para revalidação após investigação; c) para mais de 10.000 unidades envasadas, 1 unidade contaminada deve resultar em investigação, e 2 ou mais unidades contaminadas são consideradas causas para revalidação após a investigação, conforme Art. 96 §2º da IN 35/2019.

À vista disso, a simulação do processo asséptico deve fazer parte de todo o programa de validação de processo para uma nova instalação, conforme preconiza o Art. 93 da instrução normativa correspondente à fabricação de medicamentos estéreis (BRASIL, 2019). A mesma normativa, em seu Art. 95, regulamenta que tais testes de simulação devem ser realizados como validação inicial, compreendendo um mínimo de três execuções de simulação de processo consecutivas e bem-sucedidas e abrangendo todos os turnos.

Quadro 10 – Potenciais parâmetros críticos a serem considerados em validação de processo asséptico.

<i>Fatores que podem apresentar risco de contaminação microbiana</i>	
<i>I.</i>	<i>Duração do processo;</i>
<i>II.</i>	<i>Número de pessoas envolvidas no processo;</i>
<i>III.</i>	<i>Mudanças de turno ou pausas envolvidas no processo;</i>
<i>IV.</i>	<i>Velocidade da linha (se aplicável);</i>
<i>V.</i>	<i>Configurações da linha;</i>
<i>VI.</i>	<i>Intervenções do operador no processo, caso haja</i>
<i>VII.</i>	<i>Quaisquer condições especiais, como liofilização.</i>

Fonte: WHITE (2010).

3.3.2.2 Filtração esterilizante

A filtração esterilizante consiste em um método de esterilização comum para soluções de medicamentos com a remoção dos microrganismos, caso presentes, sem afetar na qualidade do produto (RAJNIAK et al, 2008). Tal método se utiliza de filtros adequados para alcance de tal objetivo, isto é, com propriedades de retenção microbiana. No processo de fabricação de produtos farmacêuticos, normalmente são utilizados filtros de membrana, apresentando as seguintes características: a) não-toxicidade; b) passível de teste de integridade; c) não adsorção de componentes da fórmula; d) não adição de extraíveis ao processo; e) remoção da carga biológica associada ao produto (SANDLE, 2013b). Usualmente utiliza-se filtros de tamanho de poro de 0,22 µm ou menor (BRASIL, 2019).

O processo de filtração esterilizante, como todo processo aplicado, deve ser devidamente validado a fim de verificar a remoção efetiva de microrganismos no fluxo do processo e a produção de um efluente estéril. A validação da filtração esterilizante deve incluir o cenário de pior caso com presença de microrganismo desafio e teste de integridade dos filtros usados para estudo, conforme indicado pela FDA (2004b). A bactéria *Brevibacterium diminuta* é um microrganismo desafio comumente utilizado para desafio dos filtros de 0,22 µm, devido ao seu tamanho pequeno (0,3 µm), em uma suspensão de concentração de, pelo menos, 10⁷ microrganismos (ATCC 19146) por cm² de área filtrante.

Os testes de integridade, por sua vez, também são requeridos para avaliação da eficácia da filtração esterilizante. O teste de integridade caracteriza-se como um teste não destrutivo, sendo importante para monitoramento de quaisquer vazamentos ou perfurações do filtro. Os dois tipos de testes recomendados são: teste de ponto de bolha e teste de fluxo direto. No primeiro teste, avalia-se a pressão de gás aplicada para formação da bolha do líquido embebido neste filtro (comumente água); a esta pressão, denomina-se “pressão de ponto de bolha” e deve ser maior que a especificada pelo fabricante. No segundo teste, também chamado de “teste de difusão”, mede-se a vazão de gás que atravessa o filtro por meio do líquido que está nos poros; neste caso, a vazão obtida deve ser menor que o valor definido pelo fabricante (HAYASHI; DOUHARA; KASHINO, 2014).

4 METODOLOGIA

4.1 Caracterização do estudo

Para alcançar os objetivos propostos, a presente pesquisa baseou-se na elaboração de um estudo de caso descritivo e comparativo, que foi fundamentado em pesquisa documental e bibliográfica sobre os aspectos referentes à produção asséptica de medicamento biotecnológico e as diretrizes regulatórias correspondentes, sendo consideradas as diretrizes contempladas pela agência nacional, ANVISA, bem como autoridades e associações internacionais, como FDA, WHO, ISO, ICH e PDA. A pesquisa ocorreu no período de junho a dezembro de 2022, durante realização de estágio obrigatório na empresa Hemobrás.

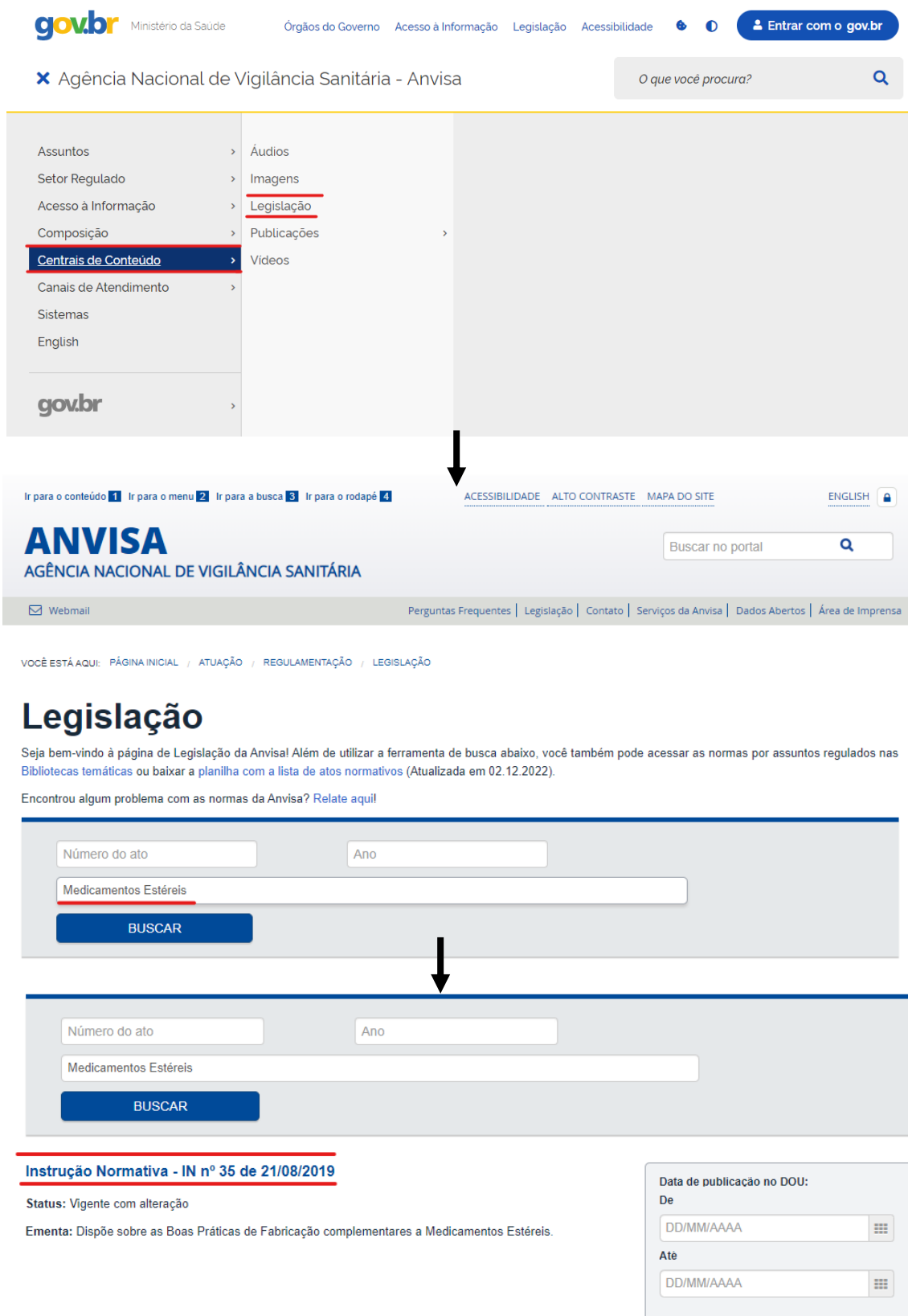
4.2 Pesquisa bibliográfica

Foram utilizadas bases de dados que forneceram referências científicas quanto ao processo de produção asséptico e estruturas relacionadas. As bases de busca utilizadas foram *Science Direct*, *Scopus* e *Web of Science*. Como forma de seleção nestas plataformas, foram utilizadas as seguintes palavras-chave: *biotechnology*, *aseptic processing validation* e *aseptic filling*. Foram selecionados os artigos em inglês que demonstravam parâmetros dos equipamentos, como isoladores e liofilizadores, e do processo de envase asséptico para medicamentos estéreis, a fim de fortalecer as análises de risco com o conhecimento de importantes fatores.

No que concerne à busca das diretrizes regulatórias, foram realizadas buscas nas páginas eletrônicas oficiais dos órgãos previamente citados. Além de tais documentos, também se realizou busca de relatórios técnicos e guias nacionais e internacionais.

Para as diretrizes regulatórias, o percurso metodológico iniciou-se com acesso à página eletrônica da Anvisa na seção “Centrais de Conteúdo”. Posteriormente, na seção de “Legislação”, realizou-se a busca concernente às diretrizes aplicáveis ao processo de produção asséptica. Para isso, buscas que contemplavam quatro aspectos fundamentais foram pesquisadas, sendo elas: boas práticas de fabricação, validação e qualificação, medicamentos estéreis e produtos biológicos, conforme exemplo demonstrado em Figura 8. A partir disso, foram encontradas e utilizadas as seguintes regulações: RDC 658/2022, RDC 55/2019, IN 138/2022 e IN 35/2019.

Figura 8 – Exemplo de percurso metodológico para acesso às diretrizes regulatórias nacionais aplicadas ao estudo.



gov.br Ministério da Saúde Órgãos do Governo Acesso à Informação Legislação Acessibilidade Entrar com o gov.br

x Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa O que você procura?

Assuntos > Áudios
Setor Regulado > Imagens
Acesso à Informação > **Legislação**
Composição > Publicações
Centrais de Conteúdo > Vídeos
Canais de Atendimento >
Sistemas
English

gov.br >

Ir para o conteúdo 1 Ir para o menu 2 Ir para a busca 3 Ir para o rodapé 4

ACESSIBILIDADE ALTO CONTRASTE MAPA DO SITE ENGLISH

ANVISA
AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA

Webmail Perguntas Frequentes Legislação Contato Serviços da Anvisa Dados Abertos Área de Imprensa

VOCÊ ESTÁ AQUI: PÁGINA INICIAL / ATUAÇÃO / REGULAMENTAÇÃO / LEGISLAÇÃO

Legislação

Seja bem-vindo à página de Legislação da Anvisa! Além de utilizar a ferramenta de busca abaixo, você também pode acessar as normas por assuntos regulados nas Bibliotecas temáticas ou baixar a planilha com a lista de atos normativos (Atualizada em 02.12.2022).

Encontrou algum problema com as normas da Anvisa? [Relate aqui!](#)

Número do ato Ano

Medicamentos Estéreis

BUSCAR

Número do ato Ano

Medicamentos Estéreis

BUSCAR

Instrução Normativa - IN nº 35 de 21/08/2019

Status: Vigente com alteração

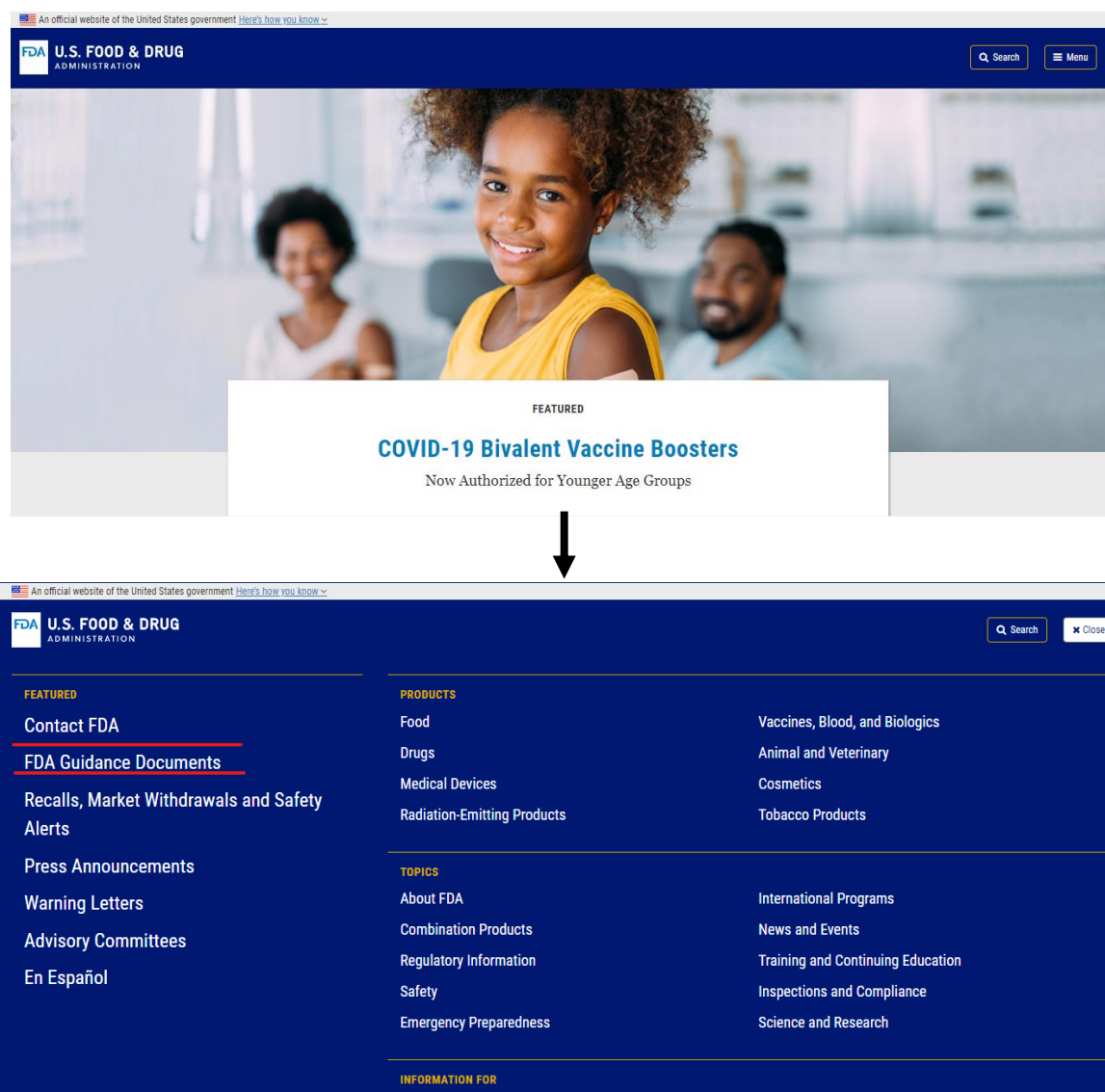
Ementa: Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação complementares a Medicamentos Estéreis.

Data de publicação no DOU:
De DD/MM/AAAA
Até DD/MM/AAAA

Fonte: Autora (2022).

No que diz respeito a diretrizes internacionais, iniciou-se busca em página eletrônica da agência norte-americana, FDA, com pesquisa da temática central do estudo: processo asséptico. A partir do painel principal, foi acessada a seção “*FDA Guidance Documents*”, que direcionava a uma página de busca dos guias, filtrando os resultados com palavras-chave, data de emissão, unidade organizacional da FDA, tipo de documento e outros aspectos. Nesta etapa, foi pesquisado utilizando a palavra-chave, em inglês, “*aseptic process*” na barra de pesquisa. O documento de orientação encontrado foi o guia de processo asséptico para medicamentos estéreis desenvolvido para indústrias. As etapas para tal busca se encontram exemplificadas na Figuras 9 e 10.

Figura 9 – Demonstração de busca de documento orientativo para indústrias da FDA.



Fonte: Autora (2022).

Figura 10 – Demonstração de busca de documento orientativo da FDA utilizando palavra-chave.

An official website of the United States government [Here's how you know](#)

FDA U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION [Search](#) [Menu](#)

[Home](#) / [Regulatory Information](#) / [Search for FDA Guidance Documents](#)

Search for FDA Guidance Documents

[Subscribe to Email Updates](#) [Share](#) [Tweet](#) [LinkedIn](#) [Email](#) [Print](#)

Search for FDA Guidance Documents

The table below lists all official FDA Guidance Documents and other regulatory guidance. You can search for documents using key words, and you can narrow or filter your results by product, date issued, FDA organizational unit, type of document, subject, draft or final status, and comment period.

This feature is provided to give a convenient way to search for all FDA guidance documents from a single location.

If you cannot find the document you're looking for here, you can browse separate collections of guidance documents by topic.

Content current as of:
12/02/2022

[Search General and Cross-Cutting Topics Guidance Documents](#)

[Advisory Committee Guidance Documents](#)

[Clinical Trials Guidance](#)

Guidance Document Search

Search

aseptic process

Showing 1 to 1 of 1 entries (filtered from 2,713 total entries)

Filters

Product **FDA Organization**

Topic **Issue Date**

Draft or Final **Open for Comment**

Document Type **Comment Closing Date on Draft***

[Export Excel](#) Show **10** entries

Summary	Document	Issue Date	FDA Organization	Topic	Guidance Status	Open for Comment	Comment Closing Date on Draft
Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing – Current Good Manufacturing Practice: Guidance for Industry	PDF (734.22 KB)	10/04/2004	Office of Regulatory Affairs Center for Drug Evaluation and Research Center for Biologics Evaluation and Research	Investigation & Enforcement, Current Good Manufacturing Practice (CGMP), Pharmaceutical Quality	Final	No	

Showing 1 to 1 of 1 entries (filtered from 2,713 total entries)

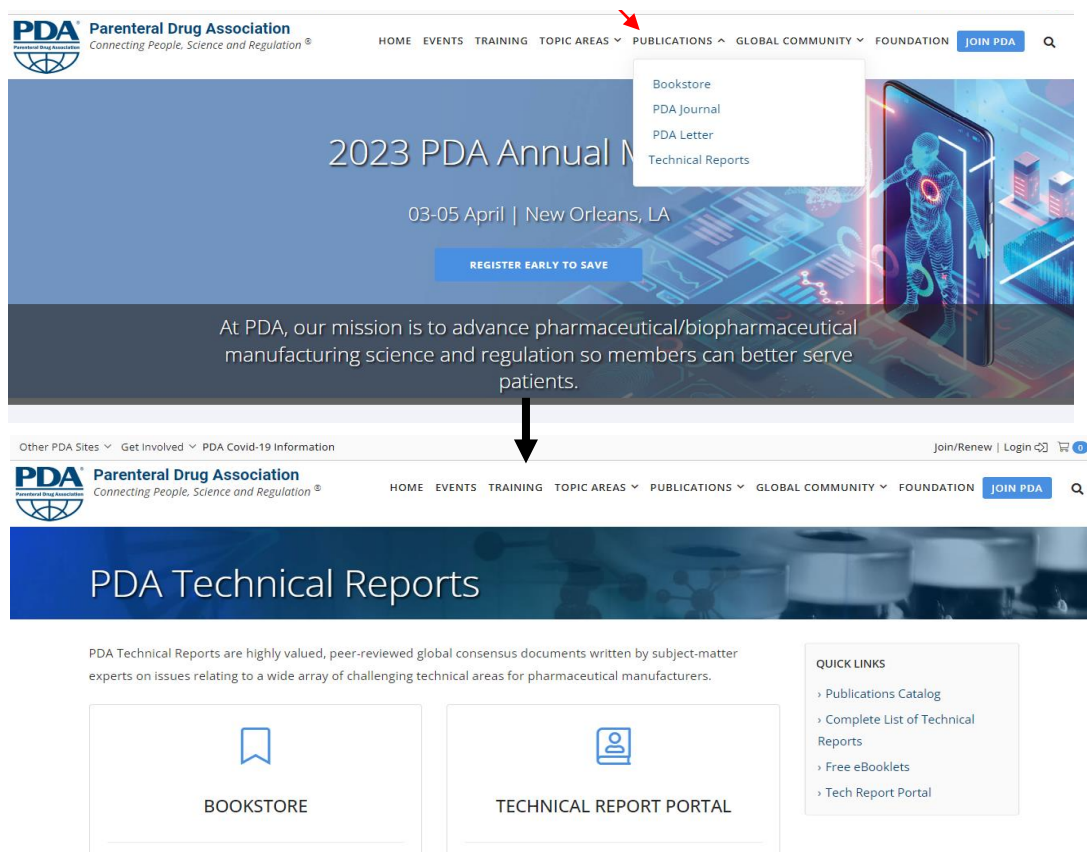
[Previous](#) **1** [Next](#)

Fonte: Autora (2022).

Além das diretrizes regulatórias e guias de orientação, também foram utilizados relatórios técnicos de organizações internacionais, como PDA, os quais apresentam relevantes questões tratadas por especialistas e aplicáveis a áreas técnicas, sendo por isso preconizados nessa pesquisa. Para acesso a tais documentos, buscas na página eletrônica oficial da PDA foram realizadas e, ainda na página inicial, foi selecionada a seção de “*Publications*”, seguida pela opção “*Technical Reports*”. Nesta nova página, foram selecionadas duas opções: a primeira corresponde a uma lista com as especificações de todos os relatórios disponíveis, incluindo a numeração utilizada para pesquisa em portal; a segunda trata-se deste portal com o acervo de relatórios produzidos pela PDA.

A partir disso, foram selecionados os relatórios que contemplavam os temas de maior impacto para o estudo, sendo eles: processo asséptico, filtração esterilizante e gestão de risco em processos assépticos. Durante o período da pesquisa (junho a dezembro de 2022), alguns relatórios encontravam-se disponíveis para consulta e outros apenas para compra do material na própria página eletrônica da PDA. Um resumo da metodologia utilizada para acesso a tais materiais foi evidenciado nas Figuras 11 a 13.

Figura 11 – Etapa inicial de busca de relatórios técnicos em site PDA.



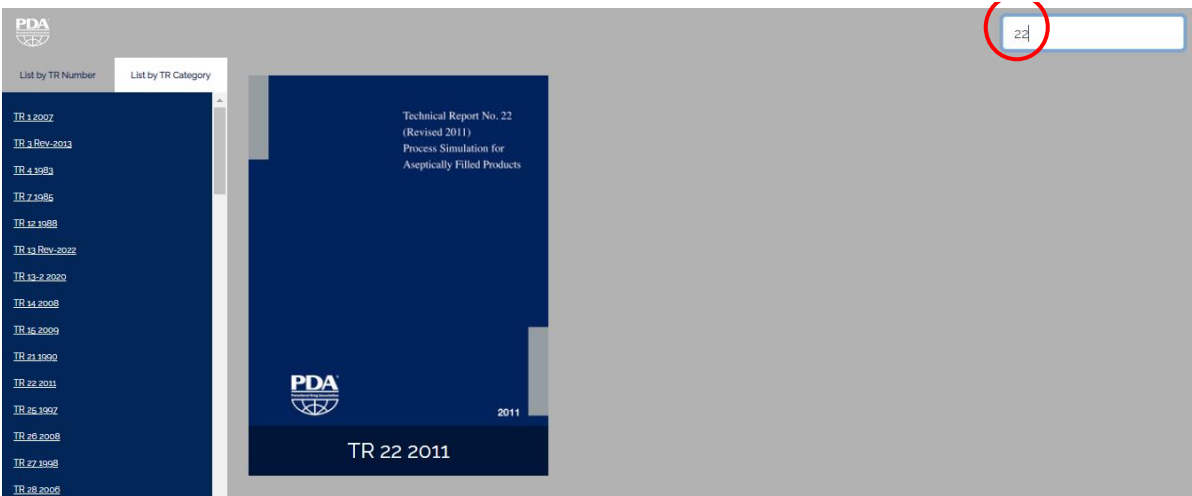
Fonte: Autora (2022).

Figura 12 – Lista completa de relatórios técnicos produzidos pela PDA com indicação do TR 22.

PDA Technical Documents PDA BOOKSTORE				
No.	TITLE		Paper Version	Digital Version
PDA Technical Reports				
1	Validation of Moist Heat Sterilization Processes: Cycle Design, Development, Qualification and Ongoing Control	Revised 2007 <i>(Published 1980)</i>	01001	43381
3	Validation of Dry Heat Processes Used for Depyrogenation and Sterilization	Revised 2013 <i>(Published 1981)</i>		43506
4	Design Concepts For the Validation of a Water for Injection System (Retired)	1983		43209
5	Sterile Pharmaceutical Packaging: Compatibility and Stability (Retired)	1984		43210
7	Depyrogenation (Retired)	1985		43212
9	Review of Commercially Available Particulate Measurement Systems (Retired)	1988		43214
10	Parenteral Formulations of Proteins and Peptides: Stability and Stabilizers (Retired)	1988		43215
11	Sterilization of Parenterals by Gamma Radiation (Retired)	1988		43216
12	Siliconization of Parenteral Drug Packaging Components	1988		43217
13	Fundamentals of an Environmental Monitoring Program	Revised 2014 <i>(Published 1990)</i>		43513
14	Validation of Column-Based Chromatography Processes for the Purification of Proteins	Revised 2008 <i>(Published 1992)</i>		43220
15	Validation of Tangential Flow Filtration in Biopharmaceutical Applications	Revised 2009 <i>(Published 1992)</i>	01015	43221
16	Effects of Gamma Irradiation on Elastomeric Closures (Retired)	1992		43222
17	Current Practices in the Validation of Aseptic Processing -- 1992 (Retired)	1993		43223
18	Validation of Computer-Related Systems (Retired)	1995		43224
19	Rapid/Automated ID Methods Survey (Retired)	1990		43225
20	Report on Survey of Current Industry Gowning Practices (Retired)	1990		41239
21	Bioburden Recovery Validation (Retired)	1990		41258
22	Process Simulation for Aseptically Filled Products	Revised 2011 <i>(Published 1996)</i>		43226
23	Industry Survey on Current Sterile Filtration Practices (Retired)	1997		43227

Fonte: Autora (2022).

Figura 13 – Exemplo de busca no portal dos relatórios técnicos pela numeração do TR.

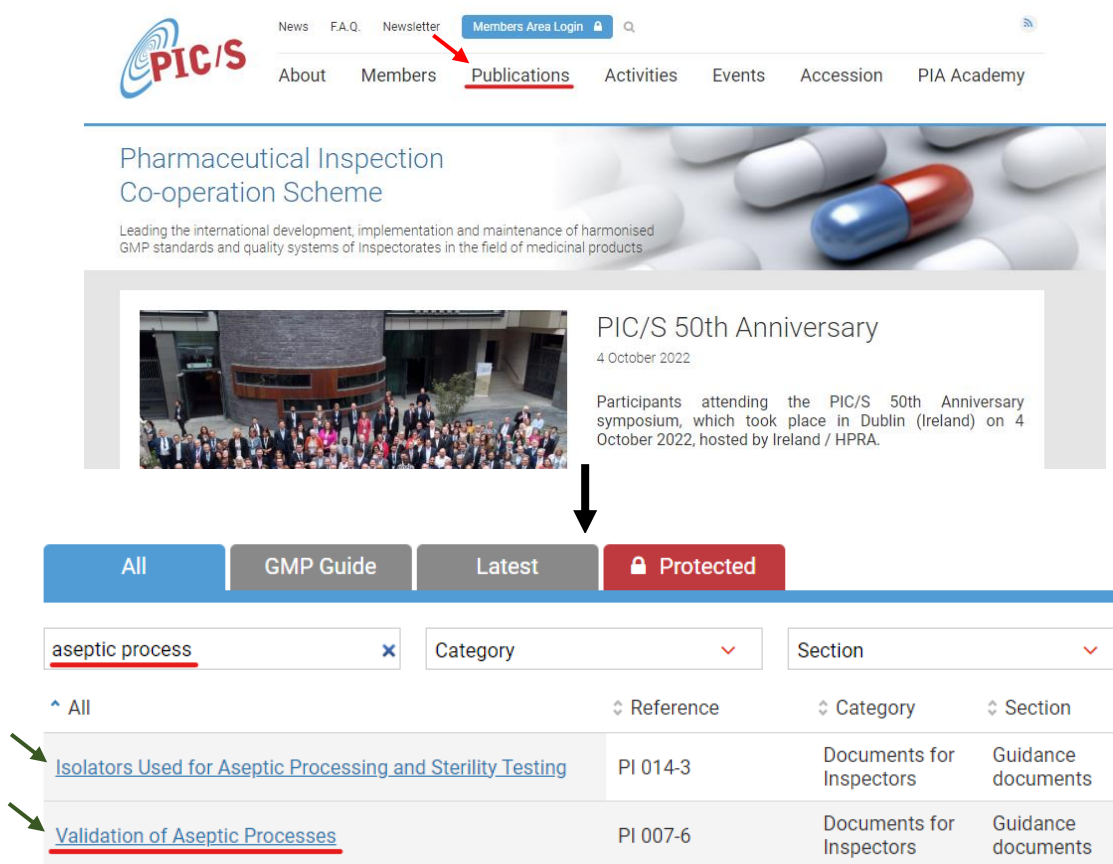


Fonte: Autora (2022).

Ademais, foram utilizados documentos orientativos produzidos pelo PIC/S. Esta organização tem promovido a harmonização de padrões GMP por meio de tais documentos. Para acesso, também foi utilizado a página eletrônica oficial da cooperação PIC/S e selecionada a seção “*Publications*”. Posteriormente, pesquisou-se nesta página utilizando a temática central do estudo, em inglês, “*aseptic process*”, sendo encontrados dois resultados de documentos (Figura 14). Dentre os documentos encontrados, o que trata sobre validação de processos assépticos foi o principal utilizado para análise dos parâmetros observados no estudo, em detrimento ao que trata sobre os isoladores em processos assépticos e teste de esterilidade, que foi utilizado como material complementar.

Para os outros documentos citados no Quadro 11, foi utilizada pesquisa simples em plataforma *Google Scholar*, utilizando os termos “processo asséptico”, “validação”, “boas práticas de fabricação” e “análise regulatória”, de maneiras individual e associada. Dentre os documentos encontrados, utilizou-se o critério de serem documentos oficiais e de conteúdos robustos.

Figura 14 – Exemplo de método de pesquisa com documentos PIC/S utilizados (setas verdes).



The screenshot shows the PIC/S website with the 'Publications' tab selected. A search for 'aseptic process' has been performed, resulting in two documents being displayed. Green arrows point to the document titles in the search results table.

Document Title	Reference	Category	Section
Isolators Used for Aseptic Processing and Sterility Testing	PI 014-3	Documents for Inspectors	Guidance documents
Validation of Aseptic Processes	PI 007-6	Documents for Inspectors	Guidance documents

Quadro 11 – Principais documentos utilizados para alcance dos objetivos no presente estudo.

Normas / Guias / RTs*	Descrição	Destaques
RDC Nº 658/2022	Resolução que dispõe sobre as Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos	Cap. II: SQF; Cap. VI – Seção IV: Validação;
RDC Nº 55/2010	Resolução que dispõe sobre o registro de produtos biológicos e produtos novos biológicos e dá outras providências	Cap. I: Disposições Iniciais; Cap. III – Seção II: Relatório Técnico;
IN Nº 138/2022	Resolução que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação complementares às atividades de qualificação e validação	Cap. I – Seção III: Definições; Cap. III – Seção I: Organização e Planejamento; Cap. III – Seção V: Validação de Processos;
IN Nº 35/2019	Instrução Normativa que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação complementares a medicamentos estéreis	Cap. III – Seção VI: Dos medicamentos preparados assepticamente; Seção X: Do processamento; Seção XV: Filtração de medicamentos não esterilizados terminalmente; Seção XVI: Da finalização de medicamentos estéreis.
Farmacopeia Brasileira 5ª edição	Código oficial farmacêutico que estabelece os requisitos mínimos de qualidade para insumos farmacêuticos, medicamentos e produtos para a saúde	Processo Asséptico (tópico 7.3), página 329; Salas limpas e ambientes controlados (tópico 7.4), página 330.
Relatório Técnico (WHO)	Diretriz publicada pela OMS (WHO) de natureza científica e consultiva para orientação de autoridades reguladoras e fabricantes de produtos biológicos	Anexo VI: Boas práticas de fabricação para produtos farmacêuticos estéreis
Recomendação para validação de processos assépticos (PIC/s)	Documento elaborado com objetivo de fornecer orientação para a prática nesse âmbito	Procedimentos de teste de simulação de processo (tópico 4); Condições do teste de simulação de processo (tópico 5); Fatores importantes na validação do processo asséptico (Tópico 9)
Guia GMP PIC/s	Documento orientativo que fornece padrões GMP para harmonização, segundo objetivo da cooperação	Anexo 1: Fabricação de medicamentos estéreis; Anexo 15: Qualificação e validação.
Guia para Indústria: Medicamentos estéreis	Documento orientativo, destinados a fabricantes, acerca dos requisitos CGMP	Validação do processo asséptico e esterilização (tópico IX);

Quadro 11 – Principais documentos utilizados para alcance dos objetivos no presente estudo.

produzidos por processo asséptico CGMP (FDA)	na fabricação de medicamentos estéreis e produtos biológicos usando processamento asséptico	Isoladores para processo asséptico (Apêndice 1).
Desenvolvimento e fabricação de medicamentos Q11 (ICH)	Diretriz que descreve abordagens de desenvolvimento e fabricação de medicamentos, incluindo etapas destinadas à redução de impurezas	Validação/Avaliação do Processo (tópico 7)
Perguntas & Respostas Dinâmico das Diretrizes de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos (ANVISA)	Documento compreendido no âmbito da Consulta Pública nº 653/2019, utilizado para dirimir dúvidas relativas às diretrizes gerais e complementares de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos	Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos (tópico I); Diretrizes complementares à fabricação de medicamentos estéreis (tópico II);
Relatório Técnico/ <i>Technical Report</i> (TR) (PDA)	Documentos escritos por especialistas, associados à organização internacional PDA, e que abordam diferentes questões relacionadas a áreas técnicas	Simulação de Processo para Produtos Envasados Asepticamente (TR 22); Filtração Esterilizante de Líquidos (TR 26); Gestão de Riscos de Qualidade para Processos Assépticos (TR 44);
Relatórios Suplementares (PDA)		Pontos a considerar para processamento asséptico (Vol. 57)

*RTs= Relatórios técnicos

Fonte: Autor (2022).

4.3 Análise comparativa

A fim de cumprir com o objetivo geral do estudo, desenvolveu-se a análise comparativa da estratégia central do estudo com as regulações vigentes acerca de boas práticas de fabricação para medicamentos estéreis e validação e qualificação. Esta análise iniciou com o extensivo conhecimento acerca do processo de envase do Hemo-8r. Para isso, foram acessados documentos internos, de caráter confidencial, disponibilizados pela Hemobrás.

A estratégia de validação de envase do Hemo-8r apresenta etapas que pretende contemplar todos os parâmetros com potencial impacto nas BPF. Tais etapas foram anteriormente definidas por equipe multidisciplinar da Hemobrás. Apesar de a estratégia contemplar mais testes, o presente estudo deteve-se nos testes mais amplos, isto é, que envolvam maiores desafios para o processo geral de envase asséptico.

Para cada tópico, foram utilizadas proposições norteadoras que esboçavam questionamentos acerca da estratégia aplicada e indicavam a busca de suas soluções na regulação, sendo elas:

- Para *media fill*: Qual o volume de lote que deve ser utilizado? Devem ser realizados 03 testes para cada liofilizador para ser válido?
- Para filtração esterilizante: Os filtros utilizados atendem às características requeridas na regulação? A estratégia (incorporar estudos do transferidor de tecnologia) apresenta inconformidade? Quais parâmetros adicionais devem ser avaliados numa validação?
- Para validação do processo: Qual o tamanho de lote satisfatório conforme legislação? A validação atende a todas as dosagens?

A partir disso, iniciou-se a análise exaustiva do que é mandatório na regulação nacional, bem como o que indica as diretrizes internacionais. A análise foi feita por meio da avaliação do procedimento que será aplicado a cada teste proposto e comparação com o que é exigido e recomendado pela regulação. Em aspectos de detalhamento de recomendações, a regulação internacional trouxe maiores aproveitamentos, sendo, por isso, também utilizada para verificação.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização da produção do fator VIII recombinante (Hemo-8r)

5.1.1 Etapa de formulação

O processo de obtenção do produto Hemo-8r inicia-se com a formulação de componentes fundamentais para estabilidade e eficácia do produto, sendo utilizado dois tampões: de diluição e de ajuste; e três soluções a base de Polissorbato-80, HCl e NaOH. As atividades de preparação desses componentes serão realizadas em ambiente limpo de Grau C, sendo necessária a realização de monitoramento ambiental para documentar que as condições serão mantidas durante o processo de preparação dos tampões. Tal preparação se dará em tanques de aço inoxidável, com temperatura controlada. Os insumos necessários para a formulação serão pesados em cabine de fluxo laminar, sendo tal etapa realizada em almoxarifado. A obtenção das soluções e tampões se dará no dia anterior à formulação do produto e serão armazenados durante a noite na faixa de temperatura preconizada (2° a 8°C).

A substância da droga a granel, do inglês *bulk drug substance* (BDS), por sua vez, é armazenada em garrafas em um freezer operante a temperaturas negativas e seguirá para o processo de formulação do produto, onde ocorrerá seu descongelamento segundo procedimentos apropriados. O processo de descongelamento ocorrerá em um ambiente de grau C, por meio de banho com temperatura controlada e sob agitação (velocidade previamente definida) para manutenção da uniformidade do descongelamento.

Após o descongelamento, realiza-se um agrupamento do BDS, que será transferido para um tanque encamisado termicamente, de maneira a minimizar a formação de espuma do produto. O peso líquido da solução de BDS será determinado pela diferença do peso das garrafas vazias do peso total das garrafas descongeladas. O volume da solução cheia, por sua vez, é determinado dividindo o peso líquido pela densidade do BDS (1,01 g/ml). Esta camisa térmica é pré-resfriada e o tempo máximo para esta etapa de descongelamento do BDS é feito alcançado em conformidade com o procedimento de fabricação.

O processo de formulação será também realizado em ambiente grau C. Tal processo será realizado em um tanque de formulação a temperatura de 2 a 8°C, sendo 24 horas o tempo máximo para este processo, incluindo a diluição final do BDS. Os excipientes tampão serão padronizados com diluição da solução BDS com o tampão de diluição (1:2). O tampão de diluição é adicionado como mais uma forma de minimizar a formação de espuma na solução a granel.

A próxima etapa consistirá numa diluição final. Inicialmente, o tampão de ajuste é utilizado para diluir a solução normalizada para aproximadamente 120% do potencial alvo. O tampão de diluição é pré-resfriado e adicionado à solução normalizada até que o peso total da solução seja igual ao peso alvo. Posteriormente, numa etapa de diluição final, o tampão de ajuste é utilizado para completar a diluição da solução em massa para aproximadamente 100% do potencial alvo. O tampão de ajuste também será previamente resfriado. O pH da solução deverá estar próximo à neutralidade.

Após as etapas supracitadas, a solução passará por uma filtração esterilizante, visto que o produto em foco não pode ser submetido à esterilização por meio de calor a altas temperaturas devido à sua natureza proteica. A solução formulada é aquecida antes de início da filtração. Após esse aquecimento, segue-se para a filtração, a uma pressão previamente definida, através de dois filtros de membrana PVDF estéreis e conectados em série, com eficiência para retenção de partículas de até 0,2 µm. Devido a esta etapa apresentar um maior grau de criticidade, uma frequência de monitoramento para análise de tais filtros será instaurada.

Os frascos utilizados para enchimento serão lavados e inspecionados em máquina apropriada. Esses recipientes serão carregados manualmente na máquina de lavagem de frascos e sofrerão uma inspeção visual por meio de uma mesa translúcida. De acordo com o projeto elaborado pelo transferidor de tecnologia, a empresa Takeda, os frascos serão lavados com água API e ar de secagem em três estações de lavagem e três estações de secagem. A lavadora de frascos irá limpar inicialmente o interior e o exterior dos frascos com água API recirculada, e os enxágues finais ocorrerão dentro e fora dos frascos com WFI limpa. A temperatura da API será de maior que 65°C. O ar comprimido limpo será usado para secar os frascos entre as etapas de enxágue e após o enxágue final.

Após estas estações de lavagem e secagem, os frascos seguirão, por meio de uma esteira transportadora automática, para o túnel de despirogenização. O túnel de despirogenização está localizado dentro da sala de lavagem de frascos de Grau D e apresenta saída no lado estéril para a sala de envase, sendo protegido por um RABS. O túnel consiste em várias zonas de aquecimento e resfriamento, de modo que os frascos saem em temperatura ambiente.

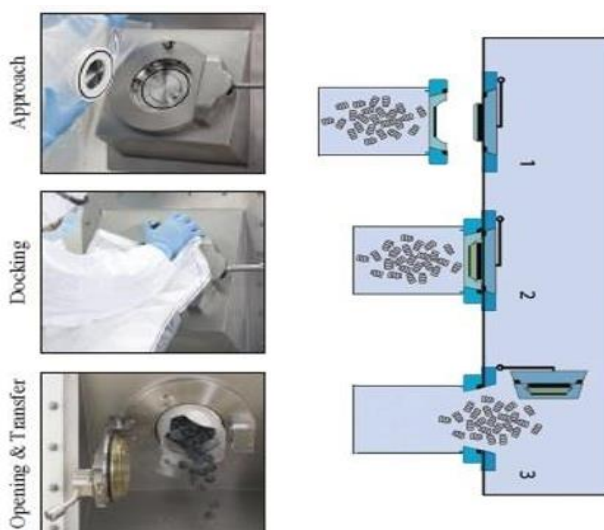
A esterilização da zona de resfriamento é realizada com calor seco. A saída do túnel, como já mencionado, terá comunicação com uma mesa de acumulação antes da unidade de envase. O ar utilizado na despirogenização deve estar a uma temperatura de, no mínimo, 264°C. Tal processo conseguirá alcançar uma redução de endotoxina mínima de 4 log à medida que os frascos passam da lavagem para o enchimento. Parâmetros do processo foram suprimidos para assegurar a devida proteção de dados que são parte da transferência de tecnologia da Hemobrás.

5.1.2 Processo de envase asséptico

O processo de enchimento, por sua vez, ocorrerá de maneira continuada ao processo de lavagem e despirogenização. O medicamento Hemo-8r formulado estéril será envasado em uma sala de envase Grau B, contudo, utilizando uma linha de equipamento integrada, que consistirá em uma lavadora de descarga automática de frascos, túnel de despirogenização, unidade de envase, liofilizador e fechamento/tampadora. A etapa de enchimento ocorrerá em um ambiente protegido por um sistema de barreira de acesso restrito (RABS). Dessa forma, o enchimento ocorrerá em isolador. O produto formulado estéril será envasado em frascos até um volume nominal de enchimento de 2,04 mL, com uma quantidade máxima de 22.500 frascos preenchidos por execução. Tal produto passará por um sistema de filtração esterilizante composto por dois filtros de membrana estéreis de 0,22 μm . A máquina de enchimento encherá os frascos para o volume apropriado utilizando um sistema de dosagem de pressão do tempo e agulhas de enchimento de aço inoxidável.

Durante a operação, as rolhas de fechamento (*stopper* estéreis) serão carregados na linha de envase, onde serão utilizadas para fechamento parcial, por meio de sistema de portas RTP (*rapid transfer ports*). O sistema de transferência pode ser resumido em três etapas: preparação, encaixe e abertura e transferência (Figuras 15 e 16). Na preparação, a embalagem do pacote RTP será aberta e será retirada a bolsa de proteção, onde os stoppers estéreis serão inseridos; posteriormente, tal bolsa será acoplada na porta RTP; por fim, a porta dupla do isolador será aberta e ocorrerá a transferência asséptica do material estéril. Tanto os conectores utilizados quanto as bolsas do sistema RTP são materiais single-use.

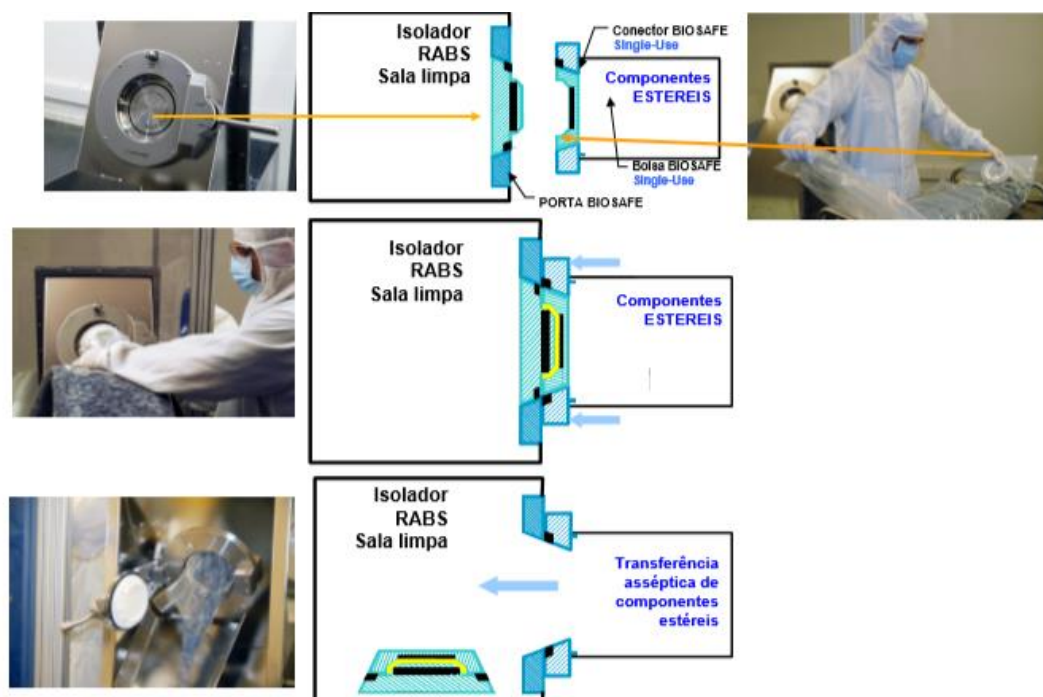
Figura 15 – Ilustração do funcionamento de sistema RTP.



Fonte: Labedan (2016).

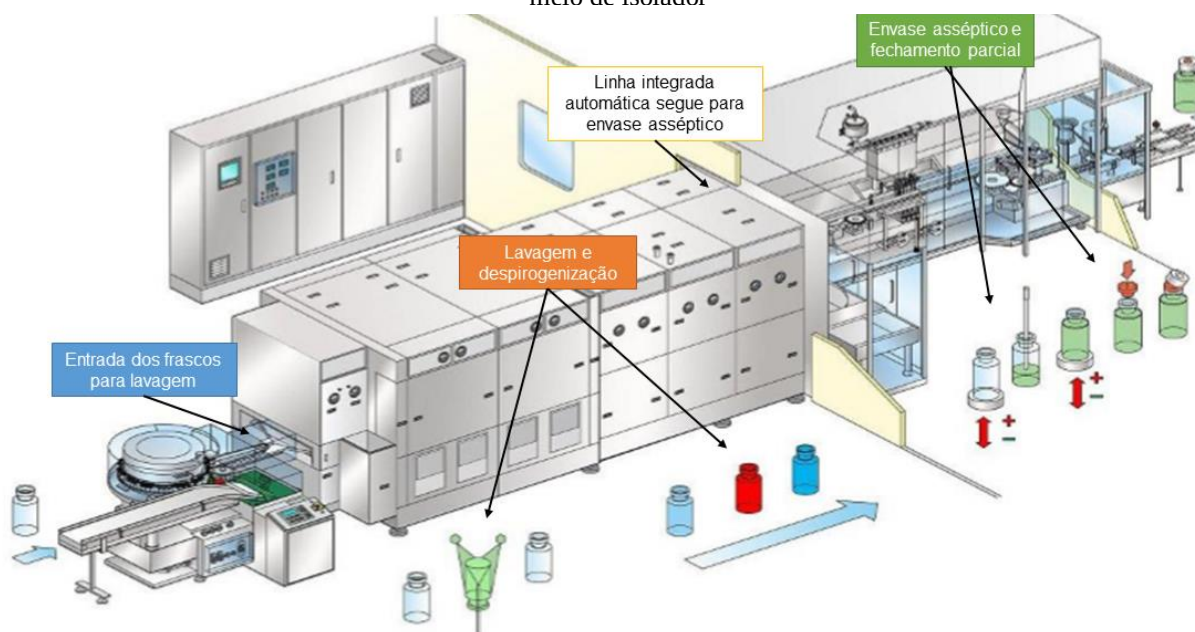
A máquina de envase também contará com testes em processo para a verificação de peso de 100% dos frascos produzidos. O peso admitido é de $2,2g \pm 0,08g$. Os frascos que se encontrarem fora do limite especificado serão rejeitados automaticamente. A Figura 16 traz, de maneira ilustrativa, o resumo de tal processo.

Figura 16 – Ilustração do funcionamento de sistema RTP e indicação dos seus componentes



Fonte: Labedan (2016).

Figura 17 – Esquema ilustrativo do processo de envase asséptico do Hemo-8r em ambiente limpo por meio de isolador



Fonte: Labedan (2016).

5.1.3 Liofilização

Os frascos envasados, já parcialmente fechados, seguirão para o liofilizador, por meio de um carro de carregamento. Tais carros serão carregados manualmente e a limpeza será feita no local a cada lote. Após esse carregamento no liofilizador, as prateleiras de liofilização serão resfriadas. Os frascos serão mantidos a esta temperatura pré-definida por 30 minutos. Após esta etapa, as prateleiras do liofilizador serão resfriadas a uma taxa de 0,5°C/minuto a temperaturas ainda mais baixas, onde serão mantidas por 1 hora. Após o tempo proposto, as prateleiras precisarão ser expostas a uma temperatura superior, definida em procedimento.

A partir de então, iniciam-se ciclos de aquecimento e refrigeração por intervalos de tempo pré-definidos para início da secagem primária. Nesta etapa, conduz-se em uma temperatura previamente definida à pressão atmosférica reduzida por 90 horas. Posteriormente, segue-se para secagem secundária, com parâmetros de temperatura e pressão também definidos para o processo.

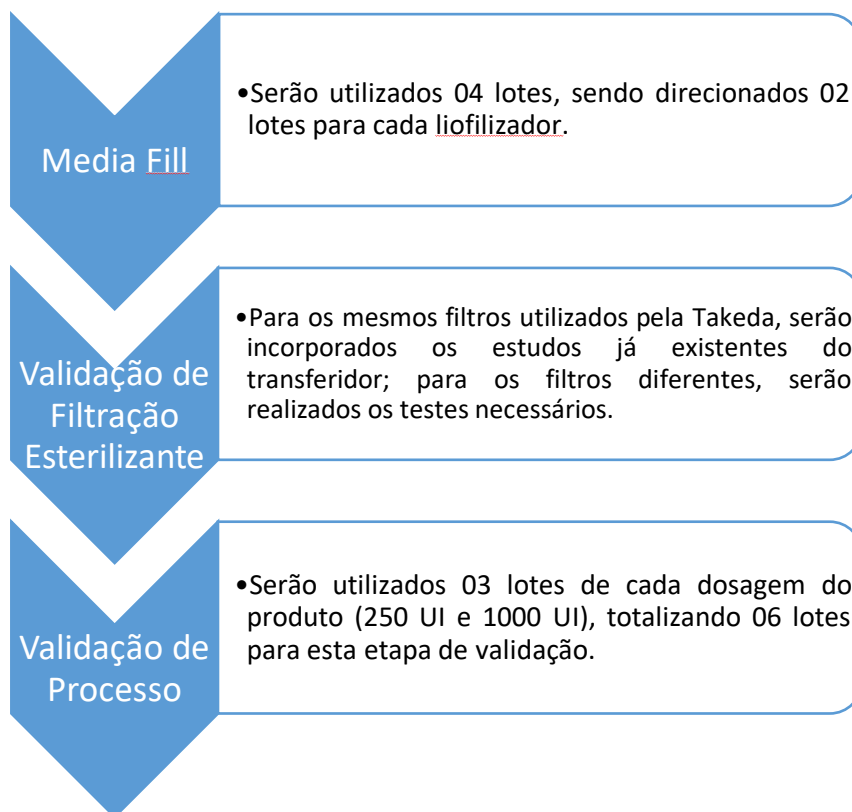
5.2 Estratégia de validação para produção do fator VIII recombinante (Hemo-8r) e análise regulatória

Os produtos bioterapêuticos apresentam-se como alternativas cada vez mais relevantes nos cuidados de saúde globais. A WHO vem fornecendo princípios sobre avaliação regulatória de produtos bioterapêuticos por meio de diretrizes sobre a avaliação regulatória de tais produtos. Em 2014, foi realizada 67^a Assembleia Mundial de Saúde, que adotou duas resoluções importantes, a Diretriz sobre qualidade, segurança e eficácia de produtos bioterapêuticos (WHO, 2014) e Diretriz ICH Q5E (DAVIES et al, 2017), que trata sobre o fortalecimento dos sistemas regulatórios de tais produtos. Dessa forma, percebe-se que a supervisão regulatória ao longo do ciclo de vida dos produtos bioterapêuticos é uma atitude recomendada internacionalmente. A ANVISA, por sua vez, como órgão regulador nacional indica suas diretrizes quanto às BPF por meio da RDC 658/2022 e instruções normativas complementares.

À vista desse cenário e objetivando embasar-se em tais diretrizes, foi proposta uma estratégia para validação do processo de formulação e envase do Hemo-8r, produto biotecnológico da Hemobrás. A proposta considerou pontos criteriosos quanto ao impacto nas BPF e abrangeu o gerenciamento de riscos à qualidade; contudo, os testes que compõem o escopo deste trabalho estão descritos no Quadro 12. A proposta estratégica foi determinada por meio de análises envolvendo diferentes áreas do projeto, como a Gerência de Garantia de

Qualidade (GGQ), Gerência de Produção (GP), além de representantes e especialistas da instituição transferidora de tecnologia, a farmacêutica Takeda.

Quadro 12 – Estratégia de validação do envase asséptico do Hemo-8r.



Fonte: Documento interno Hemobrás (2022).

5.2.1 Media Fill

Em se tratando da proposta para a simulação do enchimento asséptico, ou media fill, foi estabelecido o uso de 4 lotes. Quanto ao número de lotes, analisando o que especifica a IN 35/2019 – que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação complementares a medicamentos estéreis –, deve ser garantida uma quantidade suficiente de recipientes que permita uma avaliação válida. Tal avaliação pode ser entendida como aquela capaz de transmitir adequadamente o processo, isto é, que seja equivalente à rotina e alcance todos os seus parâmetros críticos.

Segundo a mesma normativa, para lotes pequenos, o número mínimo de recipientes utilizados deve ser equivalente ao lote comercial. Esta normativa baseia-se nas diretrizes propostas pelo Esquema de Cooperação em Inspeção Farmacêutica (PIC/S) e as incorpora. Em documento de validação de processamento asséptico (2011), o PIC/S detalha que os lotes

pequenos se referem a produções menores que 3.000 unidades de recipientes envasados. O lote comercial de produção do Hemo-8r possui volume de 22.500 frascos envasados. Dessa maneira, como se faz definição da quantidade de unidades apenas para lotes pequenos, a escolha do volume de frascos por lote, preconizada pela estratégia de validação do Hemo-8r e direcionada para simulação do processo asséptico, deve ser efetuada por meio de uma avaliação de risco, não necessitando da mesma quantidade comercial. Dessa forma, é imprescindível considerar que o lote precisa alcançar todas as operações do processo, como tempo de exposição, manipulações, intervenções e ocorrências, treinamento de operadores, entre outros parâmetros.

Em se tratando de uma validação inicial, onde se enquadra a estratégia de validação do envase do Hemo-8r, é requerido pelo órgão regulador a realização de 03 testes de simulação consecutivos e satisfatórios por turno (BRASIL, 2019). A diretriz regulatória não especifica a produção de um novo lote para cada turno. Em documento com perguntas e respostas sobre CP 653/2019 – tópico 19; Art. 109, p. 58 (ANVISA, 2019a), é esclarecido que um mesmo lote pode ser subdividido e utilizado para os diferentes turnos e linhas produtivas. Nesse aspecto, torna-se evidente que não é especificado como regra o número de testes executados igual ao número de lotes produzidos. Contudo, caso seja avaliado que a produção de um novo lote para cada teste de simulação executado é mais estratégico e torna os dados gerados mais robustos, sua aplicação na validação torna-se mais recomendada.

Dessa maneira, há possibilidade de definição de um lote com um volume menor de frascos (lote Y), mas suficiente para atender a todas os parâmetros e intervenções do processo e, a partir disso, produzir esse lote Y a cada teste de simulação requerido numa validação inicial. Ainda, também é possível a produção de um lote com um volume relativamente maior (lote Z), produzido no início das atividades, por exemplo, mas utilizado por mais de uma corrida de teste de simulação. Como já mencionado, a melhor estratégia aplicável ao processo deverá ser avaliada de acordo com uma exaustiva análise de risco.

Como ponto de partida acerca do volume do lote, a FDA (2004b) evidencia que geralmente é aceitável um volume na faixa de 5.000 a 10.000 unidades. Quando os riscos de contaminação se demonstram maiores, com base no projeto do processo, um número maior de unidades, geralmente no tamanho do lote de produção comercial ou próximo a ele, é recomendado para ser utilizado na simulação. O processo de produção do Hemo-8r, como mencionado em item 5.1.2, será conduzido em tecnologia de isolador. Por se tratar de uma tecnologia que confere um baixo risco de contaminação devido à ausência de intervenção

humana direta, a simulação pode ser realizada com um número menor de unidades em relação ao tamanho de lote comercial (FDA, 2004b). Dessa forma, justificaria um número menor de unidades para uso nos testes de simulação do envase do Hemo-8r.

Segundo a proposta de operação e o que se detalha no projeto de envase, a linha produtiva consistirá na linha de envase, em tecnologia de isolador, seguida do abastecimento para o liofilizador. Nesta mesma proposta, definiu-se que apenas 01 liofilizador estará em operação no processo por vez, em razão de sua capacidade, conforme descrito em 5.1.2. De acordo com a IN 35/2019 e, consequentemente, diretriz do PIC/S (2011), o teste de simulação do processo asséptico deve seguir o mais próximo possível do processo rotineiro. Todos os equipamentos e etapas, por sua vez, devem permanecer os mesmos como para o processo de rotina. Apesar de esse processo estar simulando a rotina, cabe analisar a possibilidade de mais lotes serem utilizados no estudo ou utilizar uma estratégia que atenda diretamente à legislação, com 03 lotes em um liofilizador e 01 outro lote pelo outro liofilizador apenas como uma confirmação do uso do equipamento; presume-se a possibilidade de tal estratégia com um racional que não contradiz a legislação, uma vez que ambos os equipamentos são de mesma marca e modelo e, desta forma, semelhantes.

Tratando-se do que consta na regulação, não existe definição clara para tal caso, uma vez que se refere a uma peculiaridade da linha produtiva e do processo. Contudo, é possível avaliar que alguns pontos podem ser considerados. Primeiramente, é importante mencionar que o objetivo da simulação de carregamento em liofilizador não é a análise em si do equipamento e seu desempenho, que seria avaliado em uma QD (realizada para cada equipamento), por exemplo, mas sim avaliar a intervenção e exposição dos frascos à possível contaminação durante o carregamento – visto que haverá uma intervenção humana para carregamento dos carros e abastecimento do liofilizador, conforme item 5.1.3. O processo de carregamento para ambos os liofilizadores será o mesmo, utilizando equipamentos de transporte específicos para tal, segundo documentos internos.

Baseando-se nesse cenário, a aplicação de 04 lotes para a realização dos 03 testes de simulação requeridos – em se tratando dos liofilizadores – demonstra-se aplicável, uma vez que a intervenção mencionada estaria sendo desafiada por quatro vezes consecutivas, sendo três vezes o mínimo requerido pela regulação. Além disso, para dirimir os possíveis questionamentos ou fragilidades, alguns pontos podem ser desafiados em testes de QD dos liofilizadores utilizados. Como exemplo, teste para avaliação do desempenho da esterilização

aplicada a cada liofilizador, de maneira a certificar o fornecimento de um ambiente limpo; usualmente são utilizados indicadores biológicos para validar o ciclo de esterilização em liofilizadores (FDA, 2014). Dessa maneira, com obtenção de resultados favoráveis para esterilização e consequente presença de ambiente limpo, confirmaria que a escolha de um ou de ambos os liofilizadores para o teste de simulação não seria o principal risco para contaminação, mas sim a intervenção de manipulação do carregamento – que é a mesma para ambos.

Ainda acerca do processo de liofilização, por se tratar de uma parte importante do processo de produção do Hemo-8r, a simulação de carregamento ocorre de maneira peculiar. A FDA (2004b) recomenda que os frascos não lacrados sejam expostos à evacuação parcial da câmara do liofilizador, simulando o processo. Contudo, diferentemente do processo produtivo, os frascos não devem ser congelados e devem ser estabelecidas precauções para garantir que o meio se mantenha em estado aeróbico e evitar a inibição do crescimento de microrganismos.

Em relação a situações de pior caso, são usualmente consideradas em termos de tamanho de frasco utilizado e velocidade da linha, de acordo com a ISO 13408-1. Nestes casos, frascos com maior diâmetro de abertura e uma menor velocidade de linha de envase representam o pior cenário devido à maior exposição ao ambiente e, consequentemente, maior risco de contaminação. No processo de envase do Hemo-8r, os frascos para as diferentes concentrações apresentam o mesmo diâmetro. Contudo, se houver alguma alteração futura entre os diâmetros dos frascos, aquele que atender a tais critérios de pior caso é o mais estratégico e aplicável para ser utilizado no teste de simulação. Quanto ao volume de meio envasado, segundo a norma ISO referida, este deve ser suficiente para atingir todas as superfícies de vedação do recipiente quando invertido e para visualizar crescimento microbiano, não necessitando obrigatoriamente do mesmo volume do frasco. Dessa forma, pode-se observar que a estratégia deve abranger e definir tais pontos a partir de um gerenciamento de risco, de maneira a atender e reproduzir as condições e principais parâmetros do processo.

5.2.2 Validação de Filtração Esterilizante

O processo de envase, como referido no item 5.1.2, contará com um sistema de filtragem anterior ao enchimento, composto por dois filtros estéreis 0,22 µm em série. Tal característica da produção encontra respaldo na legislação (Art. 150 da IN 35/2019), que recomenda a

filtração feita por um filtro estéril de 0,22 µm ou com propriedade de retenção microbiana, como maneira de minimizar os potenciais riscos do método de filtração quando comparado a outros métodos de esterilização (BRASIL, 2019). A fim de comprovar a efetividade desta etapa nas condições reais do processo, a filtração esterilizante precisa ser submetida a um estudo de validação.

Segundo a FDA (2004b), a validação deve incluir desafios microbiológicos – para simular condições de pior caso para o material a ser filtrado – e estabelecer a relação deste desafio com o teste de integridade, servindo como base para os testes realizados antes e depois do uso dos filtros na produção. O objetivo dos estudos de validação de retenção bacteriana consiste na obtenção de evidências documentadas que demonstrem que o processo de filtração removerá efetivamente um alto nível de biocarga.

Neste mesmo guia, a FDA (2004b) recomenda que, na realização da validação, é importante abordar o efeito dos fatores extremos de processamento na capacidade da filtração de produzir efluentes estéreis. Dentre esses fatores que podem afetar o desempenho do processo, tem-se: pH e viscosidade do fluido a ser filtrado, vazão e pressão, temperatura, compatibilidade filtro-produto, adsorção e extraíveis. Acerca da compatibilidade entre o filtro e o fluido, o teste deve abranger todo o dispositivo e dependerá do fluido, da temperatura e do tempo de contato (PDA, 2008).

Em se tratando da estratégia para validação de filtração esterilizante, conforme Quadro 12, propôs-se a incorporação dos estudos dos filtros, realizados pelo transferidor de tecnologia. Tais estudos consistem nos testes aplicados principalmente para avaliação da integridade do filtro, compatibilidade química, adsorção e extraíveis. Por se tratar do mesmo produto e do mesmo filtro utilizado no envase do Hemo-8r, a incorporação dos estudos mostra-se aplicável e não apresenta inconformidade regulatória. A especificação regulatória no Art. 158 da IN 35/2019 apenas define que “o filtro não deve afetar o produto, seja pela remoção de seus ingredientes ou pela adição de outras substâncias”.

Além disso, torna-se importante destacar que a incorporação dos estudos referentes aos filtros não substituirá a realização dos testes para a validação do processo de filtração, uma vez que a realização da validação é fundamental para obtenção de evidências quanto à capacidade do processo. Somado a isso, em termos de especificação regulatória, parâmetros como tempo

de filtração e diferença de pressão devem ser definidos durante a validação, conforme IN 35/2019 regulamenta:

Art. 154. O tempo requerido para se filtrar um volume conhecido da solução a granel e a diferença de pressão a ser usada através do filtro devem ser determinados durante a validação, sendo que quaisquer diferenças significativas que aconteçam durante a fabricação de rotina devem ser registradas e investigadas.

Por se tratar de um elemento crítico da qualidade do produto e do processo, a esterilidade deve ser avaliada a partir de parâmetros bem definidos. Dessa maneira, a fim de trazer efetividade ao estudo de validação da filtração esterilizante para o envase do Hemo-8r, sugere-se que sejam efetuados testes para determinação de parâmetros recomendados pela FDA (2004) e detalhados pela PDA (2008), de acordo com as situações de pior caso, que estão descritos na Quadro 13.

Contudo, é válido destacar que certos parâmetros não apresentam uma especificação padrão para os cenários de pior caso devido às particularidades de cada produto, como o pH, cuja variação se torna mais criteriosa pela natureza proteica do ativo do Hemo-8r (fator VIII). Por sua vez, outros parâmetros são especificados, como o uso do microrganismo *Brevundimonas diminuta* (ATCC 19146), tendo em vista o seu tamanho pequeno (FDA, 2004b); e filtros de baixo ponto de bolha, pela relação inversa entre o ponto de bolha e tamanho do poro (pressões de ponto de bolha mais altas indicam tamanhos de poros menores) (PDA, 2008).

Quadro 13 – Situações de pior caso para os diferentes parâmetros abordados em validação de filtração esterilizante

Aspecto	Parâmetros	Proposta Pior-Caso
Biocarga do Produto	Tamanho do microrganismo	Concentração desafio de 10^7 cfu/cm ² de <i>Brevundimonas diminuta</i>
	Concentração	
	Forma	
Solução-desafio analisada	Osmolaridade	Fatores processados no limite (máximo ou mínimo) permitido pelo processo
	pH	
	Viscosidade	
	Força Iônica	
Filtro	Tamanho do Poro	Filtro utilizado no processo com baixo ponto de bolha
	Estrutura/Adsorção	
	Compatibilidade química	
Processo	Tempo de Filtração	Parâmetros de processo mais elevados para desafio
	Pressão e vazão	
	Temperatura	

Fonte: Adaptado de FDA (2004)

5.2.3 Validação de Processo

A atual estrutura de qualidade baseia-se em conhecimento e aprendizado contínuo dos processos, o que sustenta o princípio do gerenciamento de risco (GORSKY, 2020). O ICH vem direcionando esforços para elaboração de um plano harmonizado que estabeleça tal abordagem integrada de gestão de risco e ciência. O guia proposto, ICH Q8, evidenciou que a concepção de fabricação farmacêutica atual admite a qualidade e o desempenho do produto alcançados correlacionados a um projeto e controle dos processos de fabricação robustos e consistentes (FDA, 2004). Nessa perspectiva, insere-se a avaliação das expectativas regulatórias quanto à validação de processo aplicada ao envase do Hemo-8r.

A validação de processos trata-se de uma importante evidência de que o processo desempenha suas funções efetiva e reprodutivamente para a produção dentro de suas especificações e atributos (BRASIL, 2022b). Para tal etapa, como descrito no Quadro 12, foi proposta a produção de 03 lotes consecutivos de cada dosagem para a execução. Tal estratégia apresenta conformidade com o direcionamento regulatório, conforme IN 138/2022 regulamenta:

Art. 47. A validação de processo de novos produtos deve cobrir todas as dosagens comercializadas e todos os locais de fabricação pretendidos.

Art. 66. [...] geralmente é considerado aceitável que um mínimo de três lotes consecutivos, fabricados sob condições de rotina, constituam uma validação do processo.

Como especificado, todos os locais de fabricação devem ser validados. Neste caso, insere-se o mesmo racional delineado para o media fill quanto aos 02 liofilizadores que compõem a linha produtiva; isto é, produção de 03 lotes consecutivos por um dos liofilizadores, sem ser mandatória a utilização do outro liofilizador, uma vez que ambos equipamentos são de mesma marca e modelo, apresentando as mesmas características.

A normativa referida também especifica quanto ao tamanho do lote que deve ser produzido. Em seu Art. 51, refere que os lotes produzidos na validação do processo devem ser do mesmo volume do lote comercial – admite-se outro volume para o lote produzido caso se apresente justificativa ou seja especificado em legislação específica. Além do volume, é

importante avaliar a abordagem que será utilizada para a validação. No caso do que se propõe pela estratégia de validação do Hemo-8r, existe conformidade regulatória. Contudo, em situações futuras de desenvolvimento da Hemobrás, em que se espera a produção de diferentes dosagens para contemplar as necessidades do SUS, tem-se a necessidade de avaliação de uma estratégia de validação que incorpore as modificações futuras no processo produtivo.

A estratégia atual de validação é proposta apenas para as dosagens inicialmente projetadas (250 e 1.000 UI). No caso em questão, a empresa definiu as apresentações de menor e maior concentração como forma de atribuir os extremos de produção para linha, desafiando de forma mais consistente o processo. Segundo propostas da empresa, serão produzidas, além das apresentações já mencionadas, o medicamento Hemo-8r em concentrações de 500 UI e 1500 UI. Todavia, a validação mencionada na estratégia atual não alcançará uma dessas dosagens, requerendo uma validação prospectiva ou concorrente para esta dosagem (1.500 UI) que não conseguirá ser validada nesta estratégia atual.

Para tal estratégia, definiu-se a validação com abordagem por agrupamento. Nesse tipo de abordagem, os fatores de concepção – previamente determinados – serão avaliados a partir de seus extremos, de maneira que todos os níveis intermediários sejam representados por esses extremos (BRASIL, 2022b). Tal desenho de estudo, como mencionado em parágrafo anterior, é aplicável para as duas apresentações projetadas (250 UI e 1.000 UI) e para uma das dosagens que será futuramente adicionada (500 UI). A IN 138/2022 traz o seguinte detalhamento para tal abordagem:

Art. 48. § 2º Diferentes dosagens, tamanhos de lotes e tamanhos e/ou tipos de embalagens podem adicionalmente justificar uma abordagem por agrupamento.

Numa validação de processo, serão avaliados os parâmetros críticos do processo (PCP), que apresentam impacto em seus respectivos atributos críticos de qualidade (ACQ), bem como a adequabilidade da estratégia de controle empregada. Para fins de controle, a tecnologia PAT tem sido bastante utilizada para monitoramento de tais parâmetros do processo. Trata-se de uma tecnologia analítica de grande importância com alta empregabilidade em indústrias internacionais, tendo em vista a maior maturidade analítica e regulatória internacionais, que já apresentam tendência para implementação mandatória desta técnica (FDA, 2004c).

Em se tratando de medicamentos estéreis, o nível de criticidade da qualidade e segurança do processo torna-se ainda maior. Tal tecnologia, apesar de elevado custo, permite um maior controle do processo, conforme FDA (2004c). A partir dela, constrói-se gráficos de tendência que possibilitam a observação de possíveis deflagrações de desvios. Apesar de a aplicação da tecnologia PAT não ser mandatória, seu uso é capaz de fornecer maior controle do processo e, dessa forma, sugere-se para aplicação no processo asséptico do Hemo-8r.

Além dos parâmetros previamente definidos para avaliação da validação de processo, na sua etapa de execução – ou também nomeada de Qualificação de Desempenho do Processo – também pode ser inserido um estudo de holding times. É importante mencionar que tal estudo não faz parte categoricamente de uma validação de processo; todavia, usualmente admite-se a sua aplicação prática em conjunto com uma validação de processo. Dessa forma, sugere-se a incorporação deste estudo na etapa de validação de processo como forma de otimização de tempo.

Os momentos de parada no processo devem ser avaliados a fim de não apresentarem efeitos deletérios para os produtos intermediários que estão sendo processados. Dessa maneira, os estudos de tempo de espera (*holding time*) visam estabelecer os limites de tempo dos materiais em diferentes etapas da produção a fim de garantir que a qualidade não seja afetada. Segundo a WHO (2015), recomenda-se que os fabricantes construam um fluxograma do processo a partir do qual os estágios críticos do processo sejam evidenciados, baseando-se, neste caso, no período de tempo necessário para tais etapas específicas.

Outra abordagem que também pode ser avaliada concomitante à realização da validação de processo, especificamente em sua fase de qualificação de operação, é a validação de limpeza. Segundo a IN 138/2022, deve ser realizada para confirmar a eficiência dos procedimentos aplicados para limpeza dos equipamentos em contato direto com o produto. Esta mesma normativa menciona que um programa de validação pode necessitar de um período considerável para ser concluído. Dessa maneira, admite análises exaustivas a fim de gerar dados robustos acerca do processo de limpeza e, por isso, pode ser inserido no momento de validação de processo nos 03 lotes consecutivos utilizados.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos resultados obtidos, pode-se perceber que a estratégia evidenciada de validação apresenta condução adequada do ponto de vista regulatório, sendo possível trazer melhoramentos em seu processo de execução a partir das análises propostas e do gerenciamento de risco. Além disso, consegue contemplar os pontos críticos do processo, oferecendo maior garantia de controle, qualidade e segurança do processo de envase asséptico do medicamento Hemo-8r.

Os objetivos alcançados por meio deste estudo estão esboçados no Quadro 14. A partir disso, percebe-se que os itens evidenciados atentam adequadamente para a legislação. Algumas situações definidas na estratégia não estão descritas diretamente na regulamentação, mas puderam ser descritas a partir de um racional cabível ou análise de risco – como a incorporação de estudos para os filtros, realizados pelo transferidor de tecnologia. Outras situações, entretanto, são diretamente descritas – como a produção de, no mínimo, 03 lotes com mesmo tamanho do comercial na validação de processo – e foram adequadamente definidas na estratégia de acordo com a regulação.

Acerca da validação de processo para as apresentações do Hemo-8r, destaca-se que a apresentação de 1.500 UI não poderá ser produzida sem uma validação adequada e que a contemple, uma vez que, na estratégia analisada, esta apresentação não atendeu ao critério de agrupamento definido pela Hemobrás. Dessa maneira, para validação específica que a contemple, propõe-se a produção de 03 lotes comerciais por meio de uma validação prospectiva ou concomitante.

Por conseguinte, fica evidente que o conhecimento do processo é fundamental para manutenção da qualidade e efetividade do produto fabricado. A análise estratégica a nível de projeto constitui-se como elemento altamente relevante e recomendado para o monitoramento dos parâmetros e diminuição dos riscos, uma vez que se analisa as possíveis situações e se propõe previamente as condutas adequadas para controle, caso estes riscos ocorram. Dessa maneira, tal análise possibilitou o maior aprofundamento nos principais pontos do processo, garantindo o entendimento dos seus princípios e das suas possíveis variações, além de contribuir para instauração de uma estratégia de validação robusta, que culmina em um processo altamente eficaz e adequado para fabricação dos produtos com os requisitos especificados.

Quadro 14 – Resultados alcançados para os respectivos objetivos do presente estudo

Estratégia de Validação	Critérios	Descrição	Especificação Regulatória	Resultados
Media Fill	Número de corridas	04 testes/turno, com produção de 1 lote a cada corrida	03 testes consecutivos/turno (Art. 95; IN 35/2019).	Atende à regulação
	Volume de lote	Mesmo volume do lote comercial será utilizado	Suficiente para permitir uma avaliação válida (Art. 96; IN 35/2019).	Atende à regulação
Validação de Filtração Esterilizante	Propriedades de retenção e tamanho do poro	Filtração por meio de dois filtros em série de 0,22 µm	Poros ≤ 0,22 µm ou propriedade de retenção microbiana (Art. 150; IN	Atende à regulação
	Condições operacionais	Determinação de: tempo de filtração, pressão, desafio microbiológico	Tempo de filtração e a diferença de pressão devem ser determinados durante a validação (Art.154; IN 35/2019)	Atende à regulação
	Interação filtro-produto	Verificação de compatibilidade química, integridade, adsorção e extraíveis por meio de testes específicos	O filtro não deve afetar o produto, seja pela remoção de seus ingredientes ou pela adição de outras substâncias (Art. 158; IN 35/2019)	Atende à regulação
Validação de Processo	Diferentes apresentações do medicamento	Estratégia por agrupamento (250 UI e 1.000 UI)	A validação de processo de novos produtos deve cobrir todas as dosagens comercializadas (Art. 47; IN 138/2022)	Não incorpora a dosagem de 1.500 UI
	Quantidade e volume de lotes	03 lotes consecutivos com mesmo volume comercial	Mesmo volume do lote comercial e mínimo de três lotes consecutivos (Art. 51 e Art. 66; IN 138/2022)	Atende à regulação

Fonte: Autora (2023).

REFERÊNCIAS

ABNT, “NBR ISO 13408: Processamento Asséptico de Produtos de Saúde”. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**. Rio de Janeiro, 2015.

ABNT, “NBR ISO 14644-1: Salas limpas e ambientes controlados associados – Parte 1 Classificação da Limpeza do Ar”. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**. Rio de Janeiro, 2005.

ABNT, “NBR ISO 14644-2: Salas limpas e ambientes controlados associados – Parte 2 Especificações para testes e monitoramento para provar a conformidade contínua com ISO 14644-1”. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**. Rio de Janeiro, 2001.

ABNT, “NBR ISO 14644-5: Salas limpas e ambientes controlados associados – Parte 5 Operações”. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**. Rio de Janeiro, 2004.

ABNT, “NBR ISO 16401-3: Instalações de ar-condicionado Sistemas Centrais e Unitários – Parte 3 Qualidade do Ar interior”. **Associação Brasileira de Normas Técnicas**. Rio de Janeiro, 2008.

AMANN, Thomas et al. Genetic engineering approaches to improve posttranslational modification of biopharmaceuticals in different production platforms. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 116, n. 10, p. 2778-2796, 2019.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia da Qualidade para Sistemas de Tratamento de Ar e Monitoramento Ambiental na Indústria Farmacêutica**. 1. ed. – Brasília, DF: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2013. 56 p

ANVISA. Agência Nacional De Vigilância Sanitária. **Perguntas & Respostas: Diretrizes sobre Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos** – Consulta Pública nº 653, Brasília, DF, 2019a.

ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira**, volume 1. 6ª Ed. Brasília, 2019b.

ASSIS, Machado de. Dom Casmurro. 1899, p. 167. Rio de Janeiro, RJ. Disponível em: <https://play.google.com/books/reader?id=GZBcAAAAQBAJ&pg=GBS.RA2-PT99&hl=pt>. Acesso em: 24 abr. 2023.

BRASIL. Lei Nº 10.972, de 02 de dezembro de 2004. Autoriza o Poder Executivo a criar a empresa pública denominada Empresa Brasileira de Hemoderivados e Biotecnologia - HEMOBRÁS e dá outras providências. Brasília, DF: **Diário Oficial da União**, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fator VIII de origem recombinante para tratamento de pacientes com hemofilia A. Relatório nº 48. **Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS (CONITEC)**. Brasília, DF. 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 658, de 30 de março de 2022, dispõe sobre Boas

Práticas de Fabricação de Medicamentos. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 de mar. 2022a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instrução Normativa da Diretoria Colegiada – IN nº 138, de 30 de março de 2022, dispõe sobre Boas Práticas de Fabricação complementares às atividades de qualificação e validação. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 31 de mar. 2022b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Relação Nacional de Medicamentos Essenciais Rename 2022 [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. – Brasília : Ministério da Saúde, 2022c

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instrução Normativa da Diretoria Colegiada – IN nº 35, de 21 de agosto de 2019, dispõe sobre Boas Práticas de Fabricação complementares a Medicamentos Estéreis. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 22 de ago. 2019.

BRITTO, JFB. Projeto básico de salas limpas–Parte 1. **SBCC, São Paulo**, 2011.

BURNETT, Matthew JB; BURNETT, Angela C. Therapeutic recombinant protein production in plants: Challenges and opportunities. **Plants, People, Planet**, v. 2, n. 2, p. 121-132, 2020.

CHOW, Shein-Chung; LIU, Jen-Pei. **Statistical design and analysis in pharmaceutical science: validation, process controls, and stability**. CRC Press, 2018.

CROTEAU, Stacy E. Evolving complexity in hemophilia management. **Pediatric Clinics**, v. 65, n. 3, p. 407-425, 2018.

DIN EN 779:2012 – Particulate air filters for general ventilation – **Determination of the filtration performance**.

EUROPEAN UNION – EU. **Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use**. Annex 1: Manufacture of Sterile Medicinal Products. Bruxelas, 2022.

FDA, 2004a. Report Pharmaceutical CGMPs for the 21st Century—A Risk-Based Approach, Final Report, Department of Health and Human Services, **US Food and Drug Administration**, September.

FDA. Guidance for industry, sterile drug products produced by aseptic processing-current good manufacturing practice, **US Food and Drug Administration**, 2004b. Disponível em: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/sterile-drug-products-produced-aseptic-processing-current-good-manufacturing-practice>. Acesso em: 17 de abr. 2023.

FDA. Guidance for industry PAT – A framework of innovative pharmaceutical development, manufacturing, and quality assurance, **US Food and Drug Administration**, 2004c. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/71012/download>. Acesso em: 17 abr. 2023.

FRANCHINI, Massimo. Plasma-derived versus recombinant Factor VIII concentrates for the treatment of haemophilia A: recombinant is better. **Blood Transfusion**, v. 8, n. 4, p. 292, 2010.

HAYASHI, Kazutaka; DOUHARA, Kazumasa; KASHINO, Genro. Evaluation of the bubble point test of a 0.22- μ m membrane filter used for the sterilizing filtration of PET radiopharmaceuticals. **Annals of nuclear medicine**, v. 28, p. 586-592, 2014.

HU, Shih-Cheng; SHIUE, Angus. Validation and application of the personnel factor for the garment used in cleanrooms. **Building and Environment**, v. 97, p. 88-95, 2016.

ICH Harmonised Tripartite et al. Pharmaceutical development. **Q8 (2R). As revised in August**, 2009.

LABEDAN, M. Sistemas de Transferência Asséptica e Tecnologias Single-Use: otimizando a segurança da esterilidade em processos assépticos. **Parenteral Drug Association**. São Paulo, 2016. Disponível em: https://www.pda.org/docs/default-source/website-document-library/chapters/presentations/brazil/pharma-trends-day-1/sistemas-de-transfer%C3%A2ncia-ass%C3%A9ptica-e-tecnologias-single-use.pdf?sfvrsn=37f5838e_6. Acesso em: 17 abr. 2023.

LICINA, Dusan; TIAN, Yilin; NAZAROFF, William W. Emission rates and the personal cloud effect associated with particle release from the perihuman environment. **Indoor air**, v. 27, n. 4, p. 791-802, 2017.

LINDSKOG, Eva K. et al. Host Cells. In: **Biopharmaceutical Processing**. Elsevier, 2018. p. 111-130.

PDA. Relatório Técnico nº 26, "Sterilizing Filtration of Liquids", **Parenteral Drug Association**, PDA, Inc. 2008. Disponível em: <https://www.pda.org/publications/pda-technical-reports>. Acesso em: 17 abr. 2023.

PIC/S Validation of Aseptic Processing. Genebra: **Secretariat of the Pharmaceutical Inspection Convention**; 2011. Disponível em: https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/PI_007-6_Recommendation_on_Aseptic_Processes.pdf. Acesso em: 21 nov. 2022.

RAJNIAK, P. et al. Sterilizing filtration—principles and practice for successful scale-up to manufacturing. **Journal of Membrane Science**, v. 325, n. 1, p. 223-237, 2008.

RAMSTORP, Mats; GUSTAVSSON, Markus; GUDMUNDSSON, Anders. Particle generation from humans-a method for experimental studie in cleanroom technology. In: **10th International Conference on Indoor Air Quality and Climate (Indoor Air 2005)**. Tsinghua University Press, 2005. p. 1572-1576.

ROKEMBACH, Cecília de Fátima Queiroz. Proposta para elaboração de um plano mestre de validação de processos farmacêuticos. 2004.

ROMANO, Francesco; MILANI, Samanta; JOPPOLO, Cesare M. Airborne particle and microbiological human emission rate investigation for cleanroom clothing combinations. **Building and Environment**, v. 180, p. 106967, 2020.

SANDLE, T. Cleanrooms, Isolators and Cleanroom Technology. **Sterility, Sterilisation and Sterility Assurance for Pharmaceuticals**, p. 189-207, 2013.

SANDLE, Tim. Application of quality risk management to set viable environmental monitoring frequencies in biotechnology processing and support areas. **PDA journal of pharmaceutical science and technology**, v. 66, n. 6, p. 560-579, 2012.

VAN DEN BERG, H. M. et al. Assessments of outcome in haemophilia—what is the added value of QoL tools?. **Haemophilia**, v. 21, n. 4, p. 430-435, 2015

WALSH, Gary; WALSH, Eithne. Biopharmaceutical benchmarks 2022. **Nature Biotechnology**, p. 1-39, 2022.

WHITE, Ed. Aseptic process simulation. **Journal of Validation Technology**, v. 16, n. 1, p. 39, 2010.

WHO. Report on the 12th Expert Committee on the Selection and Use of Essential Medicines. Technical Report Series No. 914. Geneva: **World Health Organization**, 2002. Disponível em: <https://www.who.int/publications-detail-redirect/9241209143>. Acesso em: 17 abr. 2023.

WHO. Quality assurance of pharmaceuticals: a compendium of guidelines and related materials. Good manufacturing practices and inspection. **World Health Organization**, 2007. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/43532/9789241547086_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em: 17 abr. 2023.

WHO. Environmental Monitoring of Clean Rooms in Vaccine Manufacturing Facilities: Points to consider for manufacturers of human vaccines. World Health Organization. Geneva, 2012. Disponível em: https://www.who.int/docs/default-source/biologicals/gmp/annex-2-who-good-manufacturing-practices-for-biological-products.pdf?sfvrsn=995d5518_2&download=true. Acesso em: 17 abr. 2023.

WHO. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. **Technical Report Series**, No. 961, p. 1, 2011. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/285925/retrieve>. Acesso em: 17 abr. 2023.

WHO. General guidance on hold-time studies. Annex 4. **Technical Report Series**, No. 992, 2015. Disponível em: https://www.who.int/docs/default-source/medicines/norms-and-standards/guidelines/distribution/trs992-annex4.pdf?sfvrsn=2a1980f0_2. Acesso em: 17 abr. 2023.

WHO. Guidelines on the quality, safety and efficacy of biotherapeutic protein products prepared by recombinant DNA technology. Annex 4. **Technical Report Series**, No. 987, 2014. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/recombinant-dna-annex-4-trs-no-987>. Acesso em: 17 abr. 2023.

YOU, Ruoyu et al. Measuring the short-term emission rates of particles in the “personal cloud” with different clothes and activity intensities in a sealed chamber. **Aerosol and Air Quality Research**, v. 13, n. 3, p. 911-921, 2013.