



CATÓLICA

ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

PORTO

CONTROLO DA QUALIDADE NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA E BIOFARMACÊUTICA

por

Mariana Vasques de Castro Lencastre

Setembro 2023



CATÓLICA

ESCOLA SUPERIOR DE BIOTECNOLOGIA

PORTO

CONTROLO DA QUALIDADE NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA E BIOFARMACÊUTICA

Relatório de Estágio apresentado à Escola Superior de Biotecnologia da Universidade
Católica Portuguesa para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Biomédica

por

Mariana Vasques de Castro Lencastre

Orientador (Empresa): Dr. José Catita

Tutor (Universidade): Doutora Ana Leite Oliveira

Setembro 2023

Resumo

O Controlo da Qualidade (CQ) na indústria farmacêutica e biofarmacêutica é crucial para a garantia da segurança, eficácia e qualidade de produtos medicinais, sendo altamente regulamentado na União Europeia pelas Boas Práticas de Fabrico.

A realização de análises qualitativas e quantitativas de substâncias presentes num produto medicinal é uma parte fundamental do CQ, permitindo verificar se este se encontra em conformidade com os requisitos de qualidade definidos.

O presente relatório apresenta o trabalho desenvolvido na empresa Paralab durante o período de estágio, em que houve a oportunidade de participar em atividades relacionadas com o CQ na indústria farmacêutica. Foi realizado o desenvolvimento, validação e transferência de um método analítico para a quantificação de etanol num produto farmacêutico, através da técnica de análise de Cromatografia Gasosa (CG) com amostragem por *headspace*. Adicionalmente, foi realizada a qualificação do equipamento de CG e a atualização de um plano de verificação e calibração dos Equipamentos de Medição e Monitorização (EMM) da empresa.

A experiência de estágio proporcionou uma compreensão prática e teórica abrangente do CQ na indústria farmacêutica e biofarmacêutica, desde a conformidade com as normas e diretrizes das Boas Práticas de Fabrico até à aplicação prática das técnicas analíticas no desenvolvimento e validação de um método analítico, reforçando a importância destas etapas na garantia da qualidade dos produtos farmacêuticos.

Palavras-Chave: Boas Práticas de Fabrico, Controlo da Qualidade, Desenvolvimento, Validação

Abstract

Quality Control (QC) in the pharmaceutical and biopharmaceutical industry is essential to ensure the safety, efficacy, and quality of medicinal products and is highly regulated in the European Union by Good Manufacturing Practices.

Conducting qualitative and quantitative analyses of substances found in medicinal products is a fundamental component of QC, ensuring compliance with specified quality standards.

This report presents the work carried out at Paralab during the internship that provided the opportunity to engage in QC related activities in the pharmaceutical industry. The development, validation, and transfer of an analytical method for quantifying ethanol in a pharmaceutical product were undertaken, utilizing Gas Chromatography (GC) with headspace sampling technique. Additionally, the qualification of the GC equipment and the update of a verification and calibration plan for the company's Measurement and Monitoring Equipment were performed.

The internship experience offered a comprehensive practical and theoretical understanding of QC in the pharmaceutical and biopharmaceutical industry, encompassing adherence to Good Manufacturing Practices guidelines and the practical application of analytical techniques in the development and validation of an analytical method, reinforcing the significance of these stages in ensuring the quality of pharmaceutical products.

Keywords: Good Manufacturing Practices, Quality Control, Development, Validation

Agradecimentos

Aproveito este espaço para expressar a minha profunda gratidão a todos aqueles que estiveram ao meu lado durante o meu estágio, contribuindo para o sucesso desta jornada.

Ao Dr. José Catita, por me ter proporcionado a valiosa oportunidade de estagiar na Paralab e pela orientação e disponibilidade ao longo deste projeto.

À Regina Torre, obrigada por todo o apoio, pelo conhecimento transmitido, pelos conselhos, pela companhia e, principalmente, pela paciência para responder a todas as minhas perguntas.

À equipa da Paralab, quero expressar o meu agradecimento por me acolherem tão bem e por todo o carinho e simpatia. A vossa energia positiva tornou tudo mais leve.

Aos meus pais e ao meu irmão, agradeço profundamente pela oportunidade, apoio e incentivo incondicional ao longo de todo o meu percurso académico.

Por fim, quero expressar o meu reconhecimento à Escola Superior de Biotecnologia pela oportunidade de desenvolver este relatório em ambiente empresarial. Esta experiência foi sem dúvida um fator determinante para o meu crescimento pessoal e profissional.

A todos, muito obrigada!

Índice

Resumo	III
Abstract.....	V
Agradecimentos.....	VII
Lista de Figuras	XIII
Lista de Tabelas	XV
Lista de Abreviaturas.....	XVII
1. Introdução	1
1.1. Objetivo do Estágio	2
1.2. A Paralab.....	2
2. Enquadramento Teórico.....	3
2.1. ISO.....	3
2.1.1. Normas ISO 9000.....	3
2.1.1.1. ISO 9000 - Sistemas de Gestão da Qualidade: Fundamentos e vocabulário	3
2.1.1.2. ISO 9001 - Sistemas de Gestão da Qualidade: Requisitos	4
2.2. EudraLex	5
2.2.1. EudraLex Volume 4 – Boas Práticas de Fabrico.....	5
2.2.1.1. Capítulo 1 – Sistema de Qualidade Farmacêutico.....	6
2.2.1.2. Capítulo 2 – Pessoal	6
2.2.1.3. Capítulo 3 – Instalações e equipamento	6
2.2.1.4. Capítulo 4 – Documentação	7
2.2.1.5. Capítulo 5 – Produção.....	8
2.2.1.6. Capítulo 6 – Controlo da Qualidade	8
2.2.1.7. Capítulo 7 – Atividades Subcontratadas	9
2.2.1.8. Capítulo 8 – Reclamações, Defeitos de Qualidade e Retirada de Produtos	9
2.2.1.9. Capítulo 9 – Auditoria Interna.....	9
2.3. Equipamentos de Medição e Monitorização	10
2.3.1. Verificação e Calibração.....	10
2.3.2. Documentação.....	11
2.4. Qualificação de Equipamentos.....	11
	IX

2.5.	Desenvolvimento e Validação de um Método Analítico	13
2.5.1.	Diretrizes ICH	13
2.5.1.1.	ICH Q14 – Desenvolvimento de um Método Analítico	14
2.5.1.2.	ICH Q2(R1) – Validação de Métodos Analíticos: Texto e Metodologia	15
2.5.2.	Desenvolvimento	15
2.5.2.1.	<i>Analytical Target Profile</i>	15
2.5.2.2.	Seleção da Tecnologia	16
2.5.2.3.	Avaliação de risco.....	16
2.5.2.4.	Estratégia de Controlo	16
2.5.2.5.	Testes de Adequabilidade do Sistema	16
2.5.2.6.	Robustez.....	17
2.5.2.7.	Documentação.....	17
2.5.3.	Validação	17
2.5.3.1.	Exatidão	17
2.5.3.2.	Precisão	17
2.5.3.3.	Especificidade.....	18
2.5.3.4.	Limite de Detecção e Limite de Quantificação	18
2.5.3.5.	Gama de trabalho	19
2.5.3.6.	Linearidade	19
2.5.3.7.	Robustez e Efeito da Matriz	19
2.5.3.8.	Documentação.....	19
2.6.	Transferência de um Método Analítico.....	20
2.7.	Cromatografia Gasosa	22
2.7.1.	Injeção	22
2.7.1.1.	<i>Headspace</i>	23
2.7.2.	Coluna Cromatográfica.....	24
2.7.3.	Fase móvel	25
2.7.4.	Detetor	25
2.7.5.	Análise quantitativa dos resultados	25
3.	Componente Prática do Estágio	27

3.1.	EMM	27
3.1.1.	Avaliação da conformidade	28
3.2.	Qualificação de Equipamentos	32
3.2.1.	Qualificação de Instalação	32
3.2.2.	Qualificação de Operação	32
3.2.3.	Qualificação de Desempenho	33
3.3.	Desenvolvimento e Validação de um Método Analítico	33
3.3.1.	Desenvolvimento	34
3.3.1.1.	ATP	34
3.3.1.2.	Seleção da tecnologia	35
3.3.1.3.	Avaliação de risco	35
3.3.1.4.	Estratégia de Controlo	35
3.3.1.5.	Preparação de soluções	36
3.3.1.6.	Curva de Calibração	37
3.3.1.7.	Robustez	38
3.3.2.	Validação	42
3.3.2.1.	Exatidão	42
3.3.2.2.	Precisão	43
3.3.2.3.	Gama de trabalho	46
3.3.2.4.	Linearidade	46
3.3.2.5.	Limite de Detecção e Limite de Quantificação	47
3.3.2.6.	Especificidade	48
3.3.2.7.	Robustez	49
3.3.3.	Transferência	50
4.	Conclusões	51
5.	Anexos	52
5.1.	<i>Site Master File</i> da Paralab	52
6.	Bibliografia	71

Lista de Figuras

Figura 1 – Base de Dados de EMM	27
Figura 2 – Exemplo do registo de resultados do certificado de calibração e determinação da validação da conformidade de um EMM ao longo dos anos.	29
Figura 3 – EMM conforme em toda a escala de calibração.	29
Figura 4 – EMM não conforme em parte da escala de calibração.	30
Figura 5 – Etiquetas utilizadas para identificar o estado dos EMM. Etiqueta verde - "Conforme"; Etiqueta amarela - "Uso Condicionado"; Etiqueta Vermelha - "Não Conforme".	30
Figura 6 – Equipamento Conforme.	31
Figura 7 – Equipamento com Uso Condicionado.	31
Figura 8 – Cromatogramas resultantes do teste de diferentes condições de caudal. Legenda: Cromatograma vermelho – 2,5 ml/min; Cromatograma azul – 3,0 ml/min. 1 – Metanol; 2 – Etanol; 3 – Acetona; 4 – Isopropanol; 5 – Diclorometano.	39
Figura 9 – Cromatogramas resultantes do teste de diferentes temperaturas iniciais do forno. Legenda: Cromatograma azul – 45° C; Cromatograma vermelho – 50° C; Cromatograma verde – 60° C. 1 – Etanol; 2 – Isopropanol.	39
Figura 10 – Curva de calibração obtida utilizando uma razão de <i>split</i> de 1:50.	40
Figura 11 – Curva de calibração obtida utilizando uma razão de <i>split</i> de 1:20.	40
Figura 12 – Curvas de calibração obtidas com padrões preparados a partir as mesmas soluções. ...	41
Figura 13 – Exemplo de uma curva de calibração.	47
Figura 14 – Valores residuais dos pontos da curva de calibração.	47
Figura 15 – Cromatograma representativo da especificidade. Legenda: 1 – Metanol; 2 – Etanol; 3 – Acetona; 4 – Isopropanol; 5 – Diclorometano.	49

Lista de Tabelas

Tabela 1 – ATP.....	34
Tabela 2 – Parâmetros SST e respetivos critérios de aceitação recomendados (CDER, 1994; European Pharmacopoeia, 2010; USP, 2017b).....	36
Tabela 3 – Volumes de solução padrão mãe e solução A a adicionar a cada <i>vial</i> para a preparação dos padrões.....	37
Tabela 4 – Parâmetros analíticos e valores testados.	38
Tabela 5 – Análise da exatidão.	43
Tabela 6 – Análise da repetibilidade.	44
Tabela 7 – Análise da precisão intermédia.	45
Tabela 8 – Parâmetros analisados durante a robustez, respetivo impacto e ações sugeridas.....	49

Lista de Abreviaturas

- APCER – Associação Portuguesa de Certificação
ATP – *Analytical Target Profile*
CA – Critério de Aceitação
CG – Cromatografia Gasosa
cGMP – *Current Good Manufacturing Practices*
CQ – Controlo da Qualidade
CQA – Atributos Críticos de Qualidade, traduzido do inglês *Critical Quality Attributes*
CV – Coeficiente de Variação
DQ – Qualificação de Design do inglês *Design Qualification*
ECD – *Electron Capture Detector*
EMM – Equipamento de Monitorização e Medição
FDA – *Food and Drug Administration*
FID – Detetor de ionização de chama, traduzido do inglês *Flame ionization detector*
FTIR – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*
GMP – *Good Manufacturing Practices*
ICH – *International Council for Harmonisation*
IPQ – Instituto Português da Qualidade
IQ – Qualificação de Instalação, traduzido do inglês *Installation Qualification*
ISO – *International Organization for Standardization*
LAN – *Local Area Network*
LD – Limite de Detecção
LQ – Limite de Quantificação
MS – Espectrometria de Massa, traduzido do inglês *Mass Spectrometry*
OQ – Qualificação de Operação traduzido do inglês *Operation Qualification*
PI – Padrão Interno
PQ – Qualificação de Desempenho traduzido do inglês *Performance Qualification*
SGQ – Sistema de Gestão da Qualidade
SMF – *Site Master File*
SOP – *Standard Operating Procedure*
SQF – Sistema de Qualidade Farmacêutico
SST – *System Suitability Test*
TCD – Detetores de Condutividade Térmica, traduzido do inglês *Thermal Conductivity Detector*
UE – União Europeia
USP – *United States Pharmacopoeia*

1. Introdução

O Controlo da Qualidade (CQ) na indústria farmacêutica e biofarmacêutica é um processo complexo e crucial para a garantia da segurança, eficácia e qualidade de produtos medicinais.

A EudraLex é um conjunto de normas e diretrizes, organizadas em 10 volumes, que visam regulamentar os produtos medicinais para uso humano e veterinário na União Europeia. No Volume 4 da EudraLex encontram-se descritas as diretrizes das “Boas Práticas de Fabrico”, ou *Good Manufacturing Practice* (GMP), em inglês. Estas são aplicadas na indústria farmacêutica e biofarmacêutica com o objetivo de garantir a qualidade, segurança e eficácia dos produtos fabricados. Estas práticas estabelecem requisitos rigorosos para as diversas atividades realizadas durante o fabrico de um produto medicinal, nomeadamente para as instalações onde ocorre a produção, qualificação dos equipamentos utilizados, processos de fabrico, CQ e toda a documentação associada.

Uma etapa essencial do CQ consiste na análise qualitativa e quantitativa de substâncias presentes em produtos medicinais, permitindo determinar se estão em conformidade com os requisitos definidos pelas diretrizes GMP, sendo um fator determinante para a sua comercialização. Para efetuar essa análise, surge a necessidade de desenvolver um método analítico que possibilite a identificação e quantificação de princípios ativos, impurezas ou outras substâncias presentes no produto. Uma das primeiras fases deste processo é a seleção da técnica analítica e a escolha do equipamento ou conjunto de equipamentos que melhor se adequa à análise a realizar, que deve ser previamente qualificado. A qualificação de equipamentos é um passo fundamental para o CQ, tendo como objetivo garantir a confiabilidade e qualidade dos resultados obtidos, demonstrando que o equipamento está apto para realizar uma dada análise. Durante a realização dos testes de qualificação, são utilizados padrões e equipamentos de monitorização e medição (EMM). Assim, para garantir a validade dos resultados obtidos, é essencial assegurar que os EMM utilizados se encontram devidamente verificados e/ou calibrados.

Após o desenvolvimento do método analítico, este deve ser validado. A sua validação garante que este se adequa à finalidade para o qual foi desenvolvido e que cumpre com requisitos de determinados parâmetros analíticos, nomeadamente a precisão, exatidão e linearidade. É com base nas diretrizes Q14 e Q2(R1) da *International Council for Harmonisation* (ICH) que se procede ao desenvolvimento e validação de um método analítico, respetivamente.

Neste relatório, será explorado detalhadamente o processo de desenvolvimento e validação de um método analítico utilizando a técnica de Cromatografia Gasosa (CG), conforme as diretrizes GMP e ICH, em concordância com as farmacopeias Europeia e Americana. A compreensão da relevância do CQ neste setor possibilita a apreciação do papel crucial que desempenha na garantia da segurança e eficácia dos medicamentos disponíveis no mercado.

1.1. Objetivo do Estágio

O estágio curricular integrado no plano de estudos do Mestrado em Engenharia Biomédica da Escola Superior de Biotecnologia da Universidade Católica do Porto tem como objetivo dar a conhecer o funcionamento do mundo empresarial, conferindo experiência profissional e proporcionando a oportunidade de adquirir experiência e competências a nível profissional e pessoal.

O presente relatório apresenta o trabalho desenvolvido na empresa Paralab durante o período de estágio, em que houve a oportunidade de integrar a equipa de laboratório da empresa e de participar no desenvolvimento, validação e transferência de um método analítico e na elaboração dos respetivos relatórios. São abordadas questões relacionadas com o CQ na organização, nomeadamente a elaboração e manutenção de um plano de verificação e calibração de EMM e na qualificação de equipamentos utilizados no desenvolvimento e validação de métodos analíticos.

1.2. A Paralab

Fundada em 1992, a Paralab é uma empresa sediada em Valbom, no concelho de Gondomar, especializada na distribuição de equipamentos científicos para aplicações laboratoriais e industriais. Possui dupla certificação – ISO 9001 pela Associação Portuguesa de Certificação (APCER) e *Current Good Manufacturing Practice* (cGMP) pelo Infarmed. Com uma posição de destaque no setor, a Paralab destaca-se como uma empresa economicamente viável, fornecendo equipamentos científicos e analíticos e potenciando o crescimento dos seus clientes, disponibilizando uma ampla gama de equipamento laboratorial e industrial (Paralab, 2023).

2. Enquadramento Teórico

2.1. ISO

A *International Organization for Standardization* (ISO), criada em 1947 e sediada em Genebra, é uma organização internacional não governamental, da qual fazem parte 168 organizações nacionais de normalização (ISO, 2023a). É responsável pelo desenvolvimento e publicação de normas reconhecidas globalmente que abrangem uma grande variedade de atividades em diversas áreas, como, por exemplo, Gestão da Qualidade (ISO 9001), Gestão Ambiental (ISO 14001), Segurança Alimentar (ISO 22000) e Gestão da Segurança e Saúde no Trabalho (ISO 45001) (ISO, 2023b). A implementação destas normas contribui para a garantia da segurança e qualidade dos produtos adquiridos pelos consumidores (ISO, 2023c).

2.1.1. Normas ISO 9000

A série de normas ISO 9000 é composta por um conjunto de requisitos, princípios e conceitos relacionados com a gestão da qualidade, cujo objetivo é promover a implementação e melhoria de um Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ) numa organização (ISO, 2016).

As normas internacionais da série ISO 9000 são as mais utilizadas globalmente no desenvolvimento de sistemas de gestão. São aplicáveis a organizações pertencentes a diversos setores e a sua adoção possibilita a melhoria da eficiência operacional e do próprio sistema de documentação da organização, garante a conformidade com requisitos regulatórios e, conseqüentemente, aumenta o desempenho da empresa e a satisfação dos seus clientes (Fonseca *et al.*, 2019).

2.1.1.1. ISO 9000 - Sistemas de Gestão da Qualidade: Fundamentos e vocabulário

A norma ISO 9000:2015 disponibiliza os conceitos e vocabulário utilizado nas restantes normas da série ISO 9000, proporcionando conceitos básicos sobre SGQ, sendo recomendada a familiarização com estes termos antes de implementar a ISO 9001 (ISO, 2016).

Segundo a ISO 9000:2015, a qualidade é definida como o “grau de satisfação de requisitos dado por um conjunto de características intrínsecas de um objeto” (ISO 9000, 2015), enquanto o CQ corresponde à parte da gestão da qualidade centrada na satisfação dos requisitos da qualidade. Assim, o foco de uma empresa na qualidade conduz à adoção de comportamentos e realização de atividades que promovam o cumprimento de requisitos de qualidade e a satisfação das expectativas dos clientes (ISO 9000, 2015). Para tal, é fundamental estabelecer um SGQ. Este proporciona o planeamento, execução, monitorização e melhoria do desempenho das atividades de gestão da qualidade. O plano realizado pelo SGQ deve assegurar que os princípios desta norma e os requisitos da ISO 9001 são

tidos em consideração durante as atividades da qualidade da organização. Um SGQ é um sistema dinâmico, estando continuamente sujeito a melhoria, sendo que a sua implementação e desempenho devem ser supervisionados e sujeitos a avaliação através de auditorias. Durante essas auditorias, é avaliado o cumprimento dos requisitos de qualidade e são identificadas não conformidades e aspetos que devem ser melhorados. Posteriormente, devem ser tomadas ações para corrigir e melhorar os aspetos negativos identificados (ISO 9000, 2015).

2.1.1.2. ISO 9001 - Sistemas de Gestão da Qualidade: Requisitos

A ISO 9001:2015 especifica os requisitos a que o SGQ de uma organização deve obedecer para que os seus produtos atendam às necessidades dos clientes e para que cumpram com requisitos regulatórios (ISO, 2016). Esta norma é o referencial mais utilizado no desenvolvimento de um SGQ, podendo ser adaptada a empresas de qualquer setor e dimensão (Barbosa *et al.*, 2022). As organizações que cumprem com estas normas podem receber certificação, havendo o reconhecimento formal de que o SGQ se encontra em conformidade com os requisitos da ISO 9001 (Galletto *et al.*, 2017).

Esta norma não serve somente para certificar o cumprimento de requisitos de qualidade, devendo ser vista como uma forma de incentivar a empresa a “estabelecer, implementar, manter e melhorar de forma contínua” o SGQ (ISO 9001, 2015), o que conduz a uma melhoria geral da qualidade do produto ou serviços prestados (Fonseca e Domingues, 2017). Traz ainda benefícios externos à organização, como o acesso a novos mercados, aumento da satisfação do cliente, redução de reclamações, melhoria da vantagem competitiva e o fortalecimento da sua reputação (Barbosa *et al.*, 2022).

2.2. EudraLex

A EudraLex é um conjunto de normas e diretrizes que regula os produtos medicinais para uso humano e veterinário na União Europeia (UE). Está organizada em 10 Volumes (European Commission, 2011b).

- Volume 1 — Legislação Farmacêutica para produtos medicinais para uso humano.
- Volume 2 — Aviso aos requerentes e diretrizes regulatórias para produtos medicinais para uso humano.
- Volume 3 — Diretrizes científicas para produtos medicinais de uso humano.
- Volume 4 — Boas Práticas de Fabrico.
- Volume 5 — Legislação Farmacêutica para produtos medicinais para uso veterinário.
- Volume 6 — Aviso aos requerentes e diretrizes regulatórias para produtos medicinais para uso veterinário.
- Volume 7 — Diretrizes científicas para produtos medicinais de uso veterinário.
- Volume 8 — Limites máximos de resíduos.
- Volume 9 — Diretrizes de farmacovigilância para produtos medicinais de uso humano e veterinário.
- Volume 10 — Diretrizes para ensaios clínicos.

Nos Volumes 1 e 5 encontra-se compilada a legislação relativa à indústria farmacêutica na UE e nos restantes volumes encontram-se as diretrizes que suportam essa legislação. A EudraLex é atualizada regularmente para acompanhar os avanços científicos e tecnológicos e garantir a segurança, eficácia e a qualidade dos medicamentos na UE.

2.2.1. EudraLex Volume 4 – Boas Práticas de Fabrico

No Volume 4 da EudraLex são descritas as diretrizes e princípios das Boas Práticas de Fabrico, ou GMP. Estas práticas estabelecem requisitos rigorosos para os diversos fatores envolvidos no fabrico de um produto medicinal, como as matérias-primas, as instalações onde ocorre a produção, qualificação dos equipamentos utilizados, formação dos colaboradores, os próprios processos de fabrico e o CQ durante o processo (Poli *et al.*, 2012). Todas as atividades desenvolvidas devem ser devidamente documentadas, servindo como prova do cumprimento dos requisitos em cada etapa do processo de fabrico durante inspeções ou auditorias à organização.

O Volume 4 está dividido em quatro partes, acompanhadas por 21 anexos e um glossário. A Parte I descreve os Requisitos Básicos de Produtos Medicinais, a Parte II descreve os Requisitos Básicos para Substâncias Ativas utilizadas como Materiais Iniciais. A Parte III é constituída por documentos como modelos (*templates*) e diretrizes relacionadas com GMP e a Parte IV contém os requisitos GMP específicos para Produtos Medicinais de Terapia Avançada. A Parte I está dividida em

nove capítulos, descritos nas secções que se seguem.

2.2.1.1. Capítulo 1 – Sistema de Qualidade Farmacêutico

No Capítulo 1 é destacada a aplicação da gestão da qualidade no fabrico de produtos medicinais (European Commission, 2011b). Uma organização com autorização para o fabrico destes produtos deve garantir que a sua qualidade e eficácia são adequadas à finalidade para a qual foram desenvolvidos e que não colocam em risco a segurança dos consumidores. Para alcançar estes objetivos, deve ser desenvolvido e implementado um Sistema de Qualidade Farmacêutico (SQF). Este sistema deve, sobretudo, assegurar que os produtos medicinais são desenvolvidos tendo em conta as diretrizes GMP e desenvolver sistemas de monitorização e controlo para verificar o desempenho do processo de fabrico e a qualidade do produto.

Todas as atividades relacionadas com o SQF devem estar documentadas e a sua eficácia deve ser monitorizada (European Commission, 2013a).

2.2.1.2. Capítulo 2 – Pessoal

Segundo o Capítulo 2 do Volume 4 de GMP, a qualificação do pessoal responsável pela execução das tarefas envolvidas no processo de fabrico é imprescindível. Todo o pessoal cujas atividades possam ter impacto sobre a qualidade do produto deve estar ciente dos princípios das Boas Práticas de Fabrico e deve receber formação contínua, tendo em conta as funções que desempenham na empresa (European Commission, 2014b).

2.2.1.3. Capítulo 3 – Instalações e equipamento

No Capítulo 3 estão descritos os padrões rigorosos de qualidade e segurança a que as instalações e os equipamentos utilizados no fabrico de produtos farmacêuticos devem atender. De um modo geral, a localização e concepção das instalações deve ter em consideração as atividades que lá serão realizadas. As condições de iluminação, temperatura, humidade e ventilação devem ser adequadas à produção e armazenamento de materiais e produtos. As instalações devem ser limpas regularmente e o risco de contaminação deve ser mínimo. São também referidos requisitos relacionados com as seguintes áreas em particular:

- Área de Produção: A separação entre diferentes produtos deve ser assegurada, de modo a evitar contaminação cruzada. As áreas de produção devem ser projetadas de forma a permitir uma sequência lógica de operações.
- Áreas de Armazenamento: A sua capacidade deve ser suficiente para acomodar adequadamente os diferentes materiais e produtos. A temperatura e humidade devem ser monitorizadas e controladas, para preservar a qualidade dos produtos.
- Áreas de CQ: Os laboratórios de CQ devem ser separados das áreas de produção. Devem ser

projetados de modo a evitar a contaminação e fornecer espaço suficiente para realizar as atividades de controlo.

Relativamente aos equipamentos, é importante que a sua localização e instalação seja adequada à sua finalidade. A qualificação, verificação, calibração, manutenção preventiva ou corretiva e limpeza de equipamentos utilizados na produção é essencial (European Commission, 2015b).

2.2.1.4. Capítulo 4 – Documentação

A documentação é fundamental para o cumprimento dos requisitos GMP pelo SGQ. A implementação de um sistema de documentação permite monitorizar e registar todas as atividades com impacto sobre a qualidade dos produtos. Esta documentação pode ser disponibilizada em papel, em suporte digital ou em formato fotográfico (European Commission, 2011a).

Existem três tipos principais de documentação exigidos pelo GMP, sendo estes: Instruções, Registos e o *Site Master File* (SMF). As Instruções incluem descrições dos procedimentos utilizados na realização de determinadas operações — *Standard Operating Procedures* (SOPs) — e indicações para os procedimentos de produção, embalagem, amostragem e teste. Contêm ainda descrições detalhadas acerca dos requisitos de conformidade a que os materiais utilizados e os produtos obtidos durante a produção devem obedecer. Os Registos disponibilizam informações sobre as diversas atividades efetuadas pela organização, nomeadamente certificados de análise, em que são disponibilizados resultados das análises de produtos ou materiais e relatórios, em que são documentados resultados, conclusões e recomendações acerca de investigações ou projetos efetuados (European Commission, 2011a).

O conteúdo da documentação deve ser inequívoco e deve ser definida uma data em que este se torna efetivo, sendo que os documentos devem ser revistos regularmente e, se necessário, atualizados. Adicionalmente, documentos que contém instruções devem ser aprovados, assinados e datados pelo pessoal adequado e autorizado (European Commission, 2011a).

2.2.1.4.1. Site Master File

Tal como é referido no Capítulo 4, é requerido que o SMF faça parte da documentação do SGQ da organização e deve ser revisto com regularidade e atualizado quando necessário. Este documento possui informações detalhadas acerca de fatores críticos envolvidos no fabrico de um produto, nomeadamente processos, equipamentos, infraestrutura, pessoal, CQ, distribuição e documentação numa determinada instalação (*site*). Este deve transmitir informações às autoridades reguladoras sobre atividades relacionadas com as Boas Práticas de Fabrico, para poder ser avaliada a conformidade das instalações e a qualidade dos produtos fabricados com os requisitos GMP (European Commission, 2010).

O SMF deve incluir uma breve introdução da organização, com as informações de contacto e as atividades efetuadas nas instalações. Deve ser feita uma descrição das instalações e equipamentos

da organização. Para além disso, deve ser abordado o SGQ da organização, fornecendo uma descrição do mesmo e das atividades para as quais as instalações se encontram certificadas. Deve expor a estrutura organizacional relacionada com a gestão da qualidade e a forma como é controlada a documentação relacionada com a qualidade. Adicionalmente, deve referir o processo de distribuição dos produtos e da forma como a organização lida com reclamações e produtos com defeito. No Anexo 1 encontra-se o SMF da Paralab.

2.2.1.5. Capítulo 5 – Produção

As operações de produção devem seguir procedimentos bem definidos e cumprir com os princípios de GMP, levando à obtenção de produtos eficazes, seguros e conforme os requisitos de qualidade exigidos. De um modo geral, o Capítulo 5 recomenda que a produção seja realizada e supervisionada por pessoal com competência para tal e que todas as ações que envolvam o produto ou as suas matérias-primas, como a sua amostragem, armazenamento ou processamento, devem ser efetuadas de acordo com protocolos ou instruções específicas. Adicionalmente, de modo a evitar contaminações, não é recomendado que se realizem operações em produtos diferentes em simultâneo ou no mesmo espaço (European Commission, 2015c).

2.2.1.6. Capítulo 6 – Controlo da Qualidade

O CQ é um conjunto de processos e atividades cujo objetivo é garantir que os produtos disponibilizados ou serviços prestados por uma organização cumpram com os requisitos de qualidade estabelecidos, sendo uma função essencial em organizações dos mais diversos setores. Segundo o Capítulo 6 das GMP, o CQ relaciona-se com a “amostragem, especificações e testes, assim como a documentação da organização que garante que os testes necessários e relevantes são realizados”, assegurando que nenhum produto é comercializado nem nenhum material é utilizado enquanto a sua qualidade não for satisfatória. Adicionalmente, o CQ não se limita às operações no laboratório, “devendo estar envolvido em todas as decisões que digam respeito à qualidade de um produto” (European Commission, 2014c). Assim, o CQ consiste na implementação de procedimentos para monitorizar e validar a conformidade dos produtos ou serviços prestados pela organização, em relação a especificações predefinidas, através de testes e verificações frequentes.

A documentação relacionada com o CQ deve seguir os requisitos descritos no Capítulo 4 das GMP e deve incluir relatórios e certificados de análise, registos de calibração, qualificação e manutenção de equipamentos, registos de desenvolvimento e validação de métodos, assim como dados da monitorização das condições de temperatura e humidade das instalações (European Commission, 2014c).

2.2.1.7. Capítulo 7 – Atividades Subcontratadas

Qualquer atividade abrangida pelo guia de GMP que seja subcontratada deve ser devidamente definida, acordada e controlada, evitando assim erros que resultem num produto ou operação com qualidade inaceitável. Deve ser escrito um contrato entre a organização contratada e a organização que a contrata, em que são estabelecidos os deveres dos intervenientes (European Commission, 2013b).

2.2.1.8. Capítulo 8 – Reclamações, Defeitos de Qualidade e Retirada de Produtos

Segundo o Capítulo 8, deve estar em vigor um sistema para registar, avaliar e investigar reclamações e potenciais defeitos de qualidade e, se necessário, proceder rapidamente à retirada de produtos medicinais da rede de distribuição. As autoridades competentes e de relevância devem ser informadas caso se confirme um defeito de qualidade num produto medicinal que exija a interrupção da sua distribuição (European Commission, 2015d).

2.2.1.9. Capítulo 9 – Auditoria Interna

Devem ser realizadas auditorias internas periodicamente, de modo a supervisionar o cumprimento dos princípios das GMP e, se necessário, implementar medidas corretivas. As observações feitas durante a auditoria e as eventuais medidas corretivas propostas devem ser documentadas (European Commission, n.d.).

2.3. Equipamentos de Medição e Monitorização

Segundo a norma ISO 9000:2015, um EMM é um “instrumento de medição, *software*, padrão de medição, material de referência ou aparelho auxiliar ou uma combinação desses elementos, necessários à concretização de um processo de medição” (ISO 9000, 2015), fornecendo valores ou resultados exatos e precisos sobre uma grandeza como, por exemplo, temperatura, pressão, distância, massa ou potência. O estado destes equipamentos tem influência direta sobre a exatidão, precisão e, conseqüentemente, validade do resultado de uma medição. Por este motivo, surge a necessidade de adotar procedimentos que garantam que estes equipamentos se encontrem sempre aptos a serem utilizados e em conformidade com os requisitos de qualidade. Estes procedimentos devem ser adequados ao tipo de equipamento e medição a realizar e devem ser efetivados com regularidade e de forma continuada. O controlo dos EMM é fundamental para SGQ certificados (ISO 9001, 2015). Este controlo baseia-se na verificação, calibração, manutenção e no estabelecimento de critérios de aceitação (CA) para garantir a conformidade dos equipamentos e validade dos resultados das medições efetuadas.

2.3.1. Verificação e Calibração

Durante a verificação, o EMM é examinado, verificando-se se o seu erro de medição é inferior ou não ao erro máximo permissível, definido pela organização como o erro máximo que está disposta a aceitar (Losada-Urzáiz *et al.*, 2015).

A calibração consiste em estabelecer uma relação entre os valores indicados pelo equipamento de medição com valores de referência “rastreadáveis a padrões de medição internacionais ou nacionais” (ISO 9001, 2015) numa dada gama de medição. Tendo em conta a incerteza, o erro do equipamento e o CA definido, é verificada a existência de desvios significativos entre os valores medidos e os valores aceites como verdadeiros, e, caso existam, o equipamento deve ser ajustado (ISO 9001, 2015). As calibrações são efetuadas por laboratórios devidamente qualificados e acreditados, sendo estes responsáveis pela emissão do certificado de calibração, em que é documentada a informação relativa ao processo efetuado (Losada-Urzáiz *et al.*, 2015). Os equipamentos devem ser verificados e/ou calibrados em intervalos de tempo regulares e pré-definidos (European Commission, 2015b). Não devem ser utilizados equipamentos que não cumpram com os critérios de calibração (European Commission, 2014a). Quando se verifica esta não conformidade, a organização deve avaliar a validade dos resultados de medições efetuadas com esse equipamento desde a data da sua última calibração bem-sucedida (ISO 9001, 2015).

Para além da verificação e calibração, a manutenção dos equipamentos é também necessária. A reparação ou substituição de peças quando necessário, a limpeza e o manuseamento correto do equipamento são ações que contribuem para o seu bom funcionamento e prolongamento da vida útil (European Commission, 2014a).

2.3.2. Documentação

A documentação das ações relativas ao controlo dos EMM é indispensável para o SGQ, pois permite conferir a rastreabilidade e evidência da conformidade dos resultados das medições com os requisitos técnicos pré-estabelecidos (ISO 9001, 2015). Assim, a organização deve assegurar que são mantidos todos os registos de verificações, calibrações, intervenções técnicas e respetivos relatórios, assim como certificados de calibração relacionados com os EMM (European Commission, 2011a).

2.4. Qualificação de Equipamentos

Segundo as diretrizes GMP, antes de proceder ao desenvolvimento e validação de um método analítico, é indispensável garantir que os resultados obtidos a partir do equipamento utilizado são consistentes e confiáveis. Para tal, é necessário realizar a sua qualificação (European Commission, 2014a), que consiste num conjunto de ações e documentação que evidencia que o equipamento foi devidamente instalado e que funciona corretamente e em conformidade com os requisitos estabelecidos pelo fabricante e utilizador (USP, 2016a). A qualificação garante que o equipamento se encontra apto a desempenhar a sua função, sendo um fator determinante na qualidade e validade dos resultados obtidos através de um método analítico (USP, 2016a). Este processo é geralmente dividido em quatro atividades: Qualificação de *Design* (DQ), Qualificação de Instalação (IQ), Qualificação Operacional (OQ) e Qualificação de *Performance* (PQ) ou Desempenho.

A DQ é efetuada antes da compra ou instalação do equipamento (USP, 2016a) e consiste na verificação de que o planeamento e *design* das infraestruturas, sistemas e equipamentos são adequados à finalidade pretendida (European Commission, 2015a). A documentação associada a esta etapa prova que os requisitos de qualidade foram obedecidos durante a fase de planeamento.

A IQ é realizada durante a instalação do equipamento ou sistema (USP, 2016a) e verifica se as infraestruturas cumprem com o *design* pré-aprovado e se a instalação dos sistemas e equipamentos é feita conforme com as recomendações e requisitos do fabricante (European Commission, 2015a). As atividades e documentação relativas à IQ abrangem a descrição do equipamento e dos seus componentes (USP, 2016a), a instalação do equipamento por pessoal qualificado e a realização de testes de diagnóstico para verificar o seu funcionamento após a instalação (European Commission, 2015a).

A OQ deve ser efetuada após a instalação ou reparação significativa do equipamento (USP, 2016a) e consiste na verificação do cumprimento dos seus requisitos operacionais. Este procedimento inclui testes para garantir que as configurações e os parâmetros operacionais do equipamento estão corretamente configurados e dentro dos limites especificados pelo fabricante (European Commission, 2015a).

A PQ é realizada após o IQ e OQ e consiste na verificação de que o equipamento tem um desempenho consistente com os requisitos definidos pelo utilizador e que se encontra apto para

desempenhar a sua finalidade de forma adequada e reprodutível (European Commission, 2015a). Geralmente, realiza-se através da análise de substâncias conhecidas ou padrões. Podem também ser analisados alguns parâmetros dos Testes de Adequabilidade do Sistema, do inglês *System suitability Tests* (SST), que permitem avaliar o desempenho do equipamento e dos seus componentes acessórios num determinado método de análise.

Esta verificação de desempenho deve ser efetuada com regularidade, de modo a assegurar a aptidão do equipamento durante o período de tempo que decorre entre duas OQs (USP, 2016a).

A realização de determinados testes descritos nos procedimentos de IQ, OQ e PQ pode exigir a utilização de EMM. Assim, é preciso garantir que todos os EMM utilizados estejam, à data destes procedimentos, devidamente verificados e/ou calibrados.

Quando um equipamento não cumpre com os requisitos de algum dos testes de PQ, terá de ser submetido a manutenção corretiva ou reparação, sendo necessária a repetição de determinados testes para completar a qualificação do equipamento (USP, 2016a). Quando um equipamento é reparado, modificado ou movido, devem ser repetidos os testes de OQ e PQ de maior relevância que permitam confirmar que o equipamento continua a funcionar corretamente (USP, 2016a). Deve haver uma requalificação periódica de equipamentos, sistemas e infraestruturas, assegurando que continuam em bom estado de funcionamento (European Commission, 2015a). É da responsabilidade do SGQ garantir que os equipamentos se mantêm qualificados ao longo do seu ciclo de vida (WHO, 2019).

A qualificação de equipamentos é fundamental para o desenvolvimento e validação de um método analítico, garantindo que estes estão aptos a desempenhar uma dada análise e que geram resultados precisos, confiáveis e consistentes.

2.5. Desenvolvimento e Validação de um Método Analítico

A realização de análises qualitativas e/ou quantitativas a uma ou mais substâncias presentes num produto medicinal é uma parte fundamental do CQ na indústria farmacêutica, permitindo verificar se este se encontra em conformidade com os requisitos de qualidade definidos. Em certos casos, não existe um procedimento analítico já desenvolvido e documentado que possa ser reutilizado para a análise que se pretende efetuar, e, por isso, surge a necessidade de desenvolver um novo método que possibilite a identificação e quantificação de princípios ativos, impurezas ou outras substâncias presentes no produto medicinal.

Antes de se iniciar o desenvolvimento de um método analítico, deve haver a garantia de que os equipamentos envolvidos no processo estejam devidamente qualificados (WHO, 2019). Após o desenvolvimento, o método deve ser validado. É importante ter em conta que o conceito de “validação” é utilizado em métodos analíticos e processos de fabrico, enquanto o termo “qualificação” é aplicado a instrumentos ou equipamentos (WHO, 2019). A validação permite admitir que o método se adequa à finalidade para a qual foi desenvolvido e que cumpre com requisitos de determinadas características de desempenho, como, por exemplo, a precisão ou exatidão (FDA, 2015). A validação é crucial para o cumprimento das GMP, sendo um elemento essencial do SQF (WHO, 2019).

2.5.1. Diretrizes ICH

A ICH, fundada em 1990, é uma iniciativa global que reúne organizações, autoridades regulatórias e a indústria farmacêutica, para desenvolver diretrizes internacionais que promovem a uniformização dos regulamentos para o desenvolvimento, registo e controlo de produtos medicinais (ICH, 2023b). Esta uniformização permite um uso mais eficiente de recursos humanos, animais e materiais, evitando testes desnecessários. Possibilita o acesso rápido a novos produtos medicinais (Branch, 2005), salvaguardando a sua eficácia, segurança e qualidade (Haleem *et al.*, 2015).

Estas diretrizes são desenvolvidas por um conjunto de especialistas da indústria e da regulamentação e encontram-se agrupadas em quatro categorias: Qualidade, Segurança, Eficácia e Multidisciplinar (ICH, 2023a). As diretrizes Q14 – “Desenvolvimento de um Método Analítico” e Q2(R1) – “Validação de Métodos Analíticos: Texto e Metodologia” fazem parte da categoria de Qualidade e é com base nestas diretrizes que se deve proceder ao desenvolvimento e validação de um método analítico.

2.5.1.1. ICH Q14 – Desenvolvimento de um Método Analítico

A diretriz ICH Q14 reúne os princípios científicos relacionados com o desenvolvimento de um método analítico, permitindo a criação de um método mais eficiente e cientificamente correto para avaliar a qualidade de substâncias ou produtos medicinais (ICH, 2022).

A ICH Q14 complementa a ICH Q2(R1), na medida em que, para além da submissão da informação relativa à validação de um método a agências reguladoras, poderá também ser útil demonstrar informação e conhecimento acerca do seu desenvolvimento. O objetivo do desenvolvimento é a obtenção de um procedimento adequado para a identificação e/ou quantificação de substâncias num dado produto com especificidade, exatidão e precisão apropriadas, numa dada gama de trabalho (ICH, 2022).

O desenvolvimento de um método analítico pode ser abordado de uma forma simplificada ou de uma forma avançada. Uma abordagem simplificada deve incluir:

- Identificação dos atributos da amostra do produto medicinal que devem ser testados;
- Seleção de uma tecnologia adequada à análise dos atributos identificados;
- Realização de estudos de desenvolvimento adequados para avaliar características de desempenho do método como a exatidão, precisão, especificidade, robustez e linearidade ao longo da gama de trabalho;
- Descrição adequada do método analítico e da estratégia de controlo, referindo os parâmetros analíticos que necessitam de controlo e os testes de adequabilidade do sistema ou SST.

Numa abordagem avançada estão incluídos todos os aspetos da abordagem simplificada, acrescentando-se um ou mais dos seguintes elementos:

- Avaliação das propriedades e da variabilidade da amostra, tendo em conta o processo de fabrico;
- Definição de um *Analytical Target Profile* (ATP);
- Realização de uma avaliação de risco e consulta de conhecimentos prévios para identificar parâmetros do método analítico que tenham influência sobre o seu desempenho;
- Realização de experiências uni ou multivariadas para verificar interações entre os parâmetros analíticos;
- Definição de uma estratégia de controlo que inclua intervalos e/ou pontos de referência adequados para os parâmetros analíticos.

2.5.1.2. ICH Q2(R1) – Validação de Métodos Analíticos: Texto e Metodologia

De acordo com a *Food and Drug Administration* (FDA), a ICH Q2(R1) é considerada a principal referência para orientações sobre a validação de métodos analíticos (FDA, 2015). A validação demonstra que o desempenho de um método se adequa à finalidade para a qual foi desenvolvido.

Geralmente, as características de desempenho avaliadas durante a validação são a exatidão, precisão (verificada através da repetibilidade, precisão intermédia e/ou reprodutibilidade), especificidade, limite de deteção (LD), limite de quantificação (LQ), linearidade e gama de trabalho (ICH, 2005). A robustez, apesar de ser uma característica utilizada para avaliar a aptidão do método, é normalmente testada durante a fase de desenvolvimento (ICH, 2005).

Após a validação, caso ocorram mudanças no processo de síntese ou na composição do produto, que levem a que sejam feitos ajustes nos parâmetros analíticos do método, poderá haver a necessidade de executar uma revalidação, total ou parcial (ICH, 2005).

A adoção da ICH Q2(R1) assegura a fiabilidade do método analítico, contribuindo para a segurança, eficácia e qualidade dos produtos medicinais.

2.5.2. Desenvolvimento

O desenvolvimento de um método é um processo complexo. Nas secções seguintes estão descritas as diversas etapas que constituem este processo, tendo por base os princípios e recomendações da ICH Q14.

2.5.2.1. Analytical Target Profile

No ATP é definido o objetivo do método analítico e são descritas as amostras e analitos que serão analisados. Definem-se ainda os Atributos Críticos de Qualidade (CQA), que são as “propriedades físicas, químicas, biológicas ou microbiológicas” de um produto que “devem estar dentro de um determinado limite de modo a assegurar a sua qualidade” (ICH, 2022). Adicionalmente, o ATP deve incluir a descrição das características de desempenho (como a exatidão ou precisão, por exemplo) e respetivos CA, que serão avaliados durante a validação do método analítico (ICH, 2022). Desta forma, o ATP auxilia a seleção da tecnologia a utilizar no desenvolvimento do método e facilita a monitorização do seu desempenho.

2.5.2.2. Seleção da Tecnologia

A seleção da tecnologia e dos parâmetros analíticos iniciais deve ter como ponto de partida uma combinação entre conhecimento básico acerca da metodologia associada à análise que se pretende efetuar e conhecimento prévio (FDA, 2015). A pesquisa bibliográfica de publicações relacionadas com o analito e metodologia, assim como o conhecimento sobre as melhores técnicas analíticas auxiliam a tomada de decisões durante esta fase inicial do desenvolvimento (Doltade e Saudagar, 2019; ICH, 2022).

2.5.2.3. Avaliação de risco

A avaliação de risco durante o desenvolvimento permite identificar parâmetros analíticos com influência sobre o desempenho do método e avaliar o seu impacto. As ações que devem ser tomadas de modo a minimizar o impacto destes parâmetros devem ser definidas na Estratégia de Controlo (ICH, 2022).

2.5.2.4. Estratégia de Controlo

A Estratégia de Controlo do método analítico é definida com base na avaliação de risco, análise da robustez, conhecimentos prévios e dados obtidos durante o desenvolvimento. Nesta devem estar descritos os parâmetros analíticos com impacto no desempenho do método e as ações a realizar para os manter sob controlo. Devem também estar descritos os parâmetros dos SST e os testes a executar para avaliar estes parâmetros. A implementação desta estratégia ajuda a garantir o bom desempenho do procedimento e a qualidade dos resultados obtidos. Deve ser estabelecida antes da validação e confirmada após esta estar finalizada (ICH, 2022).

2.5.2.5. Testes de Adequabilidade do Sistema

Os SST são realizados para avaliar o estado e desempenho de um equipamento, verificando se se encontra adequado ao método de análise que será efetuado (ICH, 2022), através da comparação dos valores obtidos com CA pré-estabelecidos (FDA, 2015). Dependendo da tecnologia utilizada no método, os parâmetros testados pelos SST podem variar, sendo recomendada a consulta de farmacopeias para mais informações (ICH, 2005). Se a técnica a utilizar for a CG, a resolução, fator de simetria dos picos cromatográficos e número de pratos teóricos devem ser alguns dos parâmetros a avaliar (USP, 2017b).

2.5.2.6. Robustez

A robustez de um método consiste na capacidade de o seu desempenho se manter inalterado quando os seus parâmetros analíticos são sujeitos a variações propositadas (ICH, 2022). É uma medida da estabilidade do método, geralmente avaliada durante o desenvolvimento (USP, 2016b). Para a testar, fazem-se variar as condições experimentais dos parâmetros analíticos e avalia-se a influência destas variações sobre parâmetros de adequabilidade do sistema, como, por exemplo, a resolução e sobre as características de desempenho, como a precisão ou linearidade (ICH, 2005). Aqueles com maior impacto sobre o desempenho do método – parâmetros críticos – devem ser devidamente identificados (Kalra, 2011) e deve ser feita uma advertência na estratégia de controlo (ICH, 2022), de modo a alertar para a sua criticidade, recomendando ações para mitigar o seu impacto.

2.5.2.7. Documentação

A descrição do método analítico deve incluir as condições de todos os parâmetros analíticos e instruções para a preparação de reagentes e soluções necessárias, informação sobre parâmetros de adequabilidade de sistema e como os avaliar, procedimento para obter a curva de calibração (se aplicável) e ainda fórmulas matemáticas utilizadas no cálculo de resultados. A descrição deve ser detalhada ao ponto de este poder ser replicado por uma pessoa com competência na área (FDA, 2015).

2.5.3. Validação

A validação de um método analítico demonstra que este se encontra apto a desempenhar a função para a qual foi desenvolvido (ICH, 2005), através da avaliação das suas características de desempenho e verificação do cumprimento dos CA definidos (USP, 2016b). Geralmente, estas características são a exatidão, precisão, especificidade, LD, LQ, linearidade e gama de trabalho (ICH, 2005).

2.5.3.1. Exatidão

A exatidão é a medida da aproximação entre o valor do resultado obtido e o valor aceite como verdadeiro (ICH, 2005). A exatidão é geralmente calculada através da percentagem de recuperação de uma quantidade adicionada e conhecida do analito de interesse a soluções padrão e deve ser analisada ao longo da gama de trabalho (USP, 2016b).

2.5.3.2. Precisão

A precisão é a medida da concordância entre os resultados obtidos em repetições da análise de uma amostra ou padrão sob as mesmas condições (ICH, 2005). Avalia a dispersão entre os resultados obtidos a partir da repetição de ensaios independentes com as mesmas condições, sobre

uma determinada amostra ou padrão (Relacre, 2000).

A precisão deve ser expressa em termos de desvio-padrão ou Coeficiente de Variação (CV) (ICH, 2005). O desvio-padrão é uma medida da dispersão dos valores em torno da média, enquanto o CV é uma medida relativa que expressa o desvio-padrão como uma percentagem da média.

A precisão pode ser avaliada através da repetibilidade, precisão intermédia e/ou reprodutibilidade (ICH, 2005).

A repetibilidade exprime a variação dos resultados obtidos sob as mesmas condições e num curto intervalo de tempo. Deve ser analisada utilizando, no mínimo, nove determinações com valores de concentração incluídos na gama de trabalho ou utilizando, pelo menos, seis determinações com concentração igual ao valor de concentração limite, que é a concentração esperada de uma determinada substância numa amostra que se pretende quantificar por meio de um método analítico (ICH, 2005).

A precisão intermédia exprime a variação dos resultados obtidos quando o mesmo procedimento é executado por diferentes analistas, em diferentes dias e em diferentes condições atmosféricas (como temperatura ou humidade), no mesmo laboratório, podendo ser utilizado o mesmo equipamento ou não (ICH, 2005). Além de fornecer informações sobre a precisão dos resultados, contribui ainda para a análise da robustez do método (ICH, 2022).

A reprodutibilidade está relacionada com a precisão interlaboratorial (ICH, 2005), ou seja, com a variação dos resultados obtidos quando o mesmo procedimento é executado sobre a mesma amostra, mas num laboratório diferente, havendo variação dos analistas, do equipamento, dos dias em que é realizada a análise e das condições atmosféricas (Relacre, 2000).

2.5.3.3. Especificidade

Especificidade é a capacidade do método de discernir e identificar inequivocamente a presença de um analito na matriz de uma amostra (ICH, 2005). Para avaliar esta característica, é preciso verificar a existência de outras substâncias, como impurezas, produtos de degradação ou componentes da matriz da amostra (ICH, 2005) que possam interferir com a deteção e quantificação do analito de interesse (Relacre, 2000).

2.5.3.4. Limite de Deteção e Limite de Quantificação

O LD é a quantidade mínima de um analito numa amostra que pode ser detetada pelo método analítico, mas não necessariamente quantificada como valor exato (ICH, 2005).

O LQ é a quantidade mínima de um analito numa amostra que pode ser quantificada, com graus de precisão e exatidão aceitáveis (ICH, 2005) sendo esta geralmente muito próxima do padrão de menor concentração.

2.5.3.5. Gama de trabalho

A gama de trabalho de um método analítico é o intervalo entre o valor mais elevado e o valor mais baixo da concentração de um analito numa amostra, para o qual é possível demonstrar a exatidão, precisão e linearidade do método (ICH, 2005). Geralmente, esta gama de valores é obtida com base nos estudos da linearidade (ICH, 2005; WHO, 2019). Em análises de amostras de produtos medicinais, a gama de trabalho, normalmente, está compreendida entre 80 e 120 % do valor de concentração limite da amostra.

2.5.3.6. Linearidade

Num método analítico, existe linearidade quando se verifica uma relação de proporcionalidade direta entre a concentração do analito e o sinal medido, numa determinada gama de trabalho (ICH, 2005). A linearidade de um método deve ser verificada através da análise do gráfico do sinal obtido pelo equipamento em função da concentração do analito – curva de calibração. Ao verificar-se a existência de linearidade entre os valores, deve efetuar-se a regressão linear através, por exemplo, do método dos mínimos quadrados, em que o eixo das ordenadas representa a resposta obtida pelo equipamento após a análise do padrão, enquanto o eixo das abcissas representa os valores das concentrações dos padrões (Relacre, 2000).

2.5.3.7. Robustez e Efeito da Matriz

Apesar de a robustez do método analítico ser analisada durante o seu desenvolvimento, é também uma característica importante para a sua validação, proporcionando informações acerca do impacto de diferentes parâmetros analíticos sobre o desempenho do método.

Para além das características mencionadas, é também recomendada a realização de testes de efeito da matriz, em que é avaliada a influência da matriz de uma amostra sobre os resultados obtidos (González e Herrador, 2007).

2.5.3.8. Documentação

Para demonstrar como o processo de validação de um determinado método analítico é realizado, deve ser criado um Protocolo de Validação. Neste são definidos os equipamentos utilizados e o seu estado de qualificação, os procedimentos para preparar as amostras e padrões (WHO, 2019), os parâmetros analíticos críticos, as características de desempenho do método, parâmetros dos SST e respetivos CA, assim como os procedimentos e testes estatísticos a realizar para avaliar esses aspetos (European Commission, 2015a). Os resultados dos testes devem ser documentados num Relatório de Validação (WHO, 2019).

2.6. Transferência de um Método Analítico

O processo de desenvolvimento e validação de um método analítico utilizado para análise e CQ de um ou mais produtos medicinais, é, frequentemente, efetuado num laboratório distinto do local de produção e/ou teste do produto. Para que o método possa ser executado por outros laboratórios, é necessário proceder à sua transferência. A transferência é um processo que qualifica uma unidade recetora a utilizar um procedimento originalmente desenvolvido e validado numa unidade de transferência, garantindo que a unidade recetora adquire os conhecimentos e capacidades necessárias para executar o método analítico com sucesso (USP, 2017a) cumprindo os CA definidos para os diversos parâmetros e características de desempenho (Ermer *et al.*, 2013). Deve ser planeada e executada por pessoal qualificado e com experiência, tendo por base a documentação relativa ao desenvolvimento, validação, produção e CQ do produto medicinal (WHO, 2019). O objetivo da transferência está, portanto, relacionado com a avaliação do desempenho do método analítico no laboratório recetor e não com o processo de fabrico (USP, 2017a).

Para que a transferência do método seja bem-sucedida, é preciso garantir que a unidade recetora está pronta para o processo de transferência. Para tal, deve ser realizada uma verificação das instalações, da qualificação dos equipamentos que serão utilizados, dos procedimentos de CQ e de toda a documentação relevante. Esta verificação pode ser feita pela unidade de transferência ou por terceiros. É fundamental que os equipamentos e instalações da unidade de transferência e da recetora tenham condições de operação semelhantes, o que facilita a transição e minimiza a necessidade de introduzir alterações no método analítico (WHO, 2019).

A disponibilização de pessoal qualificado e treinado ou o fornecimento de treino aos funcionários da unidade recetora é essencial (WHO, 2019). Deve haver uma transferência efetiva de conhecimento relacionado com o método analítico, que consiste na partilha de informação acerca do seu desenvolvimento e validação, nomeadamente os parâmetros analíticos críticos e respetivas estratégias de controlo, características de desempenho e os seus CA recomendados (WHO, 2019). Uma boa comunicação entre as duas unidades é um dos fatores mais importantes durante todo o processo (Ermer *et al.*, 2013).

Quando ocorre a transferência de um método previamente validado, é necessário assegurar que o seu estado de validação se mantém inalterado, demonstrando assim que o seu desempenho no laboratório recetor é equivalente àquele observado na unidade de transferência. Para tal, ocorre a repetição total ou parcial dos testes realizados durante a validação e comparam-se os resultados obtidos pelos dois laboratórios. As diferenças entre os resultados devem estar dentro de limites de aceitação pré-definidos (WHO, 2019). Quaisquer desvios devem ser documentados e justificados, sendo que as falhas no cumprimento dos CA devem ser investigadas e corrigidas, através da adoção de medidas como, por exemplo, a formação complementar do pessoal (USP, 2017a).

Os limites de aceitação, os parâmetros que devem ser testados, requisitos a que a unidade recetora deve atender e todas as informações e atividades relativas ao processo de transferência do

método analítico devem estar devidamente descritas no Protocolo de Transferência.

O Protocolo de Transferência descreve detalhadamente todo o processo e deve incluir o objetivo da transferência, uma descrição detalhada do método analítico e da preparação dos padrões e amostras que serão testados e das suas condições de armazenamento (WHO, 2019). Pode incluir também uma comparação entre os materiais e equipamentos dos dois laboratórios (WHO, 2011). São definidas as responsabilidades de cada unidade (WHO, 2019), assim como os requisitos de formação e competência dos funcionários envolvidos no processo (European Commission, 2014c). São identificados os parâmetros críticos do método e respetiva estratégia de controlo (WHO, 2011) e também são estabelecidos os CA que permitem avaliar os parâmetros de desempenho do método (European Commission, 2014c) juntamente com os procedimentos a adotar caso se verifiquem diferenças significativas entre os resultados dos laboratórios (WHO, 2019).

O resultado deste processo deve ser apresentado no Relatório de Transferência, compilado pela unidade de transferência. Neste devem estar descritos os procedimentos efetuados e todos os resultados obtidos pelo laboratório recetor, sendo estes avaliados através da comparação com os CA definidos no protocolo (Ermer *et al.*, 2013). Se existirem desvios ao protocolo, estes devem ser investigados e documentados (European Commission, 2014c). Por fim, deve ser incluída uma conclusão, que determina que a transferência foi concluída com sucesso e que a unidade recetora está autorizada a executar o método ou que, devido ao incumprimento dos CA, a transferência não foi concluída com sucesso e terá de ser repetida, devendo ser implementadas medidas corretivas visando assegurar a conformidade dos resultados obtidos com os CA (USP, 2017a).

2.7. Cromatografia Gasosa

A CG é uma técnica analítica utilizada para separar, identificar e quantificar componentes volatilizáveis de amostras líquidas ou sólidas (Blumberg, 2021; Christian *et al.*, 2013). A separação ocorre devido à distribuição diferencial dos componentes de uma amostra entre uma fase móvel gasosa (gás de arraste) e uma fase estacionária, que se encontra dentro da coluna cromatográfica (European Pharmacopoeia, 2019a).

Para realizar uma análise recorrendo a esta técnica, utiliza-se um cromatógrafo. Este equipamento é composto por uma fonte de gás de arraste, um injetor, uma coluna cromatográfica inserida num forno, um detetor e um sistema de aquisição de dados, em que são registados os dados da análise (European Pharmacopoeia, 2019a; USP, 2017b).

A amostra é vaporizada e injetada na coluna, através da qual os seus componentes são transportados pelo fluxo de gás de arraste. À medida que ocorrem interações entre os compostos e a fase estacionária, estes adquirem diferentes velocidades de migração, resultando na sua separação (Lundanes *et al.*, 2013). São separados consoante as suas propriedades, como o ponto de ebulição, afinidade com a fase estacionária e tamanho molecular (Lakka e Kuppan, 2019). Após a eluição dos analitos na coluna, estes são transportados até ao detetor e a sua interação gera uma resposta que é representada num cromatograma. Neste gráfico encontram-se os picos cromatográficos correspondentes aos analitos detetados, em função do tempo.

Os dados registados após a análise consistem na área dos picos, obtida por integração, ou na sua altura e o tempo de retenção de cada analito (USP, 2017b) que corresponde ao intervalo de tempo entre o momento em que a amostra é injetada e o momento em que surge o pico no cromatograma. O tempo de retenção contribui para a análise qualitativa dos compostos (Christian *et al.*, 2013). A dimensão dos picos destes compostos é proporcional à quantidade presente na amostra. Esta relação possibilita quantificação dos analitos (Pierce *et al.*, 2021).

2.7.1. Injeção

Existem diversos tipos de injetores e técnicas de injeção, mas o injetor *split/splitless* é o mais utilizado atualmente (Tipler, 2021). Na injeção com *split*, apenas é injetada uma pequena fração da amostra na coluna, sendo que a restante porção transportada pelo gás de arraste é descartada (Tipler, 2021). É possível controlar a proporção entre a quantidade de amostra que passa pela coluna e a que é descartada. A esta proporção dá-se o nome de razão de *split*. Quanto maior for esta razão, menor será a quantidade de amostra injetada na coluna e vice-versa. Como a amostra é diluída, este tipo de injeção é mais utilizado em amostras com concentrações mais elevadas. Desta forma, evita-se a sobrecarga da coluna e a separação dos picos é otimizada, aumentando a resolução. Em contrapartida, recorre-se à injeção *splitless* quando se pretende analisar amostras de baixa concentração, pois toda a amostra é injetada na coluna, o que maximiza a sensibilidade da análise (Tipler, 2021).

2.7.1.1. *Headspace*

A introdução adequada da amostra no sistema de CG é fundamental para a integridade e eficiência da análise. A volatilização da amostra durante a injeção deve ser instantânea e os analitos da amostra devem ser volatilizáveis (Kolb e Ettre, 2006). A existência de partículas sólidas no sistema de injeção prejudica a separação dos componentes, dando origem a picos alargados no cromatograma, o que afeta a resolução. Adicionalmente, pode ocorrer contaminação da coluna cromatográfica caso as partículas não volatilizadas se depositem na sua superfície interna, comprometendo o desempenho da coluna e os resultados de análises futuras (Kolb e Ettre, 2006). Por este motivo, amostras complexas com componentes não voláteis requerem uma etapa de preparação, em que os componentes com potencial para interferir com a análise são removidos e os analitos de interesse são isolados (Lundanes *et al.*, 2013). Neste processo, são frequentemente utilizados solventes orgânicos para extrair os analitos (Lundanes *et al.*, 2013), mas, apesar da sua eficácia, o processo de extração é, por vezes, uma etapa demorada. Além disso, o solvente utilizado durante a extração e as impurezas nele presentes podem interferir com a análise cromatográfica (Kolb e Ettre, 2006), provocando sobreposição entre os picos que resultam destas interferências e os picos dos analitos, o que dificulta a sua integração e prejudica a análise (Woolfenden, 2021). Contudo, se os analitos forem altamente voláteis, é recomendada a técnica de amostragem por *headspace*, em que é utilizado um gás inerte como solvente. Esta pode ser realizada através da extração dos componentes voláteis da amostra numa única etapa (*headspace* estático), através de múltiplas repetições da etapa de extração (extração múltipla de *headspace*) ou recorrendo a um fluxo contínuo de gás inerte para extrair os analitos voláteis (*headspace* dinâmico) (Kolb e Ettre, 2006).

A amostragem por *headspace* estático é a técnica de *headspace* utilizada mais frequentemente (Lundanes *et al.*, 2013), e baseia-se na partição de um analito entre a amostra (líquida ou sólida) e uma fase gasosa (Sours e Bezabeh, 2021). A amostra é colocada num *vial* selado hermeticamente e é aquecida a uma temperatura que possibilite a vaporização dos seus componentes voláteis, enquanto os restantes compostos se mantêm no estado líquido ou sólido (Kolb e Ettre, 2006; Sithersingh e Snow, 2021). Após um determinado tempo de incubação, o sistema alcança o estado de equilíbrio, em que o coeficiente de partição é constante e proporcional à concentração do analito na amostra (Kolb e Ettre, 2006; Sours e Bezabeh, 2021). De seguida, o *vial* é pressurizado através da injeção de um gás inerte, geralmente o azoto, hélio ou hidrogénio (Kolb e Ettre, 2006), garantindo que as condições de pressão e volume são as mesmas para todos os padrões e amostras (Lundanes *et al.*, 2013). Depois, um volume pré-definido da fase gasosa é transferido para a coluna cromatográfica, ocorrendo a separação e análise dos componentes voláteis da amostra, enquanto os componentes não voláteis ou menos voláteis permanecem no *vial* (Sithersingh e Snow, 2021).

Uma das vantagens da amostragem por *headspace* é a preservação da integridade da amostra, pois o *vial* é selado de imediato após a colocação da amostra e permanece assim até ao momento da injeção na coluna cromatográfica, evitando perdas que possam comprometer a precisão dos resultados da análise (Kolb e Ettre, 2006). Além disso, as amostras com matrizes complexas, que dificilmente

seriam analisadas diretamente sem preparação e extração prévia dos analitos, são ideais para a amostragem por *headspace*, pois podem ser colocadas diretamente no *vial* com pouca ou nenhuma preparação (Kolb e Ettre, 2006; Sithersingh e Snow, 2021). Isto elimina a necessidade de utilizar solventes orgânicos, evitando-se assim as interferências por eles geradas durante a análise cromatográfica (Woolfenden, 2021). Adicionalmente, os solventes gasosos são fáceis de manusear e têm uma pureza muito elevada, sendo úteis em análises de amostras em que a concentração do analito de interesse é reduzida (Kolb e Ettre, 2006). Contudo, os longos tempos necessários para atingir o equilíbrio da concentração dos analitos entre a amostra e a fase gasosa (Kolb e Ettre, 2006) e o facto de a amostragem por *headspace* adequar-se somente a amostras com analitos altamente voláteis são fatores que podem limitar a utilização desta técnica.

2.7.2. Coluna Cromatográfica

Numa coluna capilar, a fase estacionária reveste a superfície interna da coluna cromatográfica e é responsável pela separação dos componentes de uma amostra. Por este motivo, a seleção de uma fase estacionária adequada à análise que se pretende efetuar é um dos fatores mais importantes na CG e depende principalmente das propriedades dos componentes da amostra (Christian *et al.*, 2013).

Deve ser quimicamente inerte e termicamente estável (Lundanes *et al.*, 2013). A temperatura da coluna controla a retenção dos compostos, tendo influência sobre a resolução e sensibilidade da análise (Lakka e Kuppan, 2019). Deve ser escolhida uma temperatura que assegure a separação dos compostos da amostra e que, simultaneamente, permita minimizar o tempo de análise (Lundanes *et al.*, 2013). A temperatura selecionada depende principalmente do ponto de ebulição de cada componente da amostra, visto que, para que a análise seja bem-sucedida, estes devem estar na fase gasosa. Se a temperatura for elevada, ocorre a eluição rápida dos componentes da amostra, diminuindo o seu tempo de retenção, o que pode prejudicar a resolução. A temperaturas baixas, os compostos ficam retidos na fase estacionária durante mais tempo, o que aumenta a resolução, mas diminui a sensibilidade, uma vez que se obtêm picos mais largos (Christian *et al.*, 2013). A utilização de programas de temperatura é frequente em CG, pois permite otimizar a separação dos componentes de uma amostra (Christian *et al.*, 2013; Lundanes *et al.*, 2013).

2.7.3. Fase móvel

Os gases de arraste são gases quimicamente inertes, utilizados para transportar a amostra ao longo da coluna. Geralmente, os gases mais utilizados são o hélio, o azoto e o hidrogénio (Christian *et al.*, 2013). A escolha do gás de arraste depende da coluna e do detetor utilizado (USP, 2017b).

O caudal do gás de arraste dentro da coluna influencia o tempo de retenção dos componentes da amostra, tendo um grande impacto sobre a resolução dos picos cromatográficos. Assim, para otimizar este parâmetro, deve optar-se por um caudal que proporcione os melhores resultados em termos de resolução e simetria dos picos cromatográficos (Lakka e Kuppan, 2019).

2.7.4. Detetor

A escolha do detetor depende dos compostos que se pretende identificar e quantificar (USP, 2017b). Os detetores de ionização de chama (FID), geralmente, são os mais utilizados, mas conforme a substância a analisar, podem também ser utilizados detetores de condutividade térmica (TCD), captura eletrónica (ECD) e ainda detetores espectrais, como a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) e espetrometria de massa (MS) (European Pharmacopoeia, 2019a; Poole, 2021).

Para além do tipo de detetor utilizado, é também preciso ter em atenção a sua temperatura. Esta deve ser elevada o suficiente para evitar a condensação dos componentes da amostra no detetor (Christian *et al.*, 2013).

2.7.5. Análise quantitativa dos resultados

Para determinar a quantidade de um analito numa amostra, geralmente recorre-se à construção de uma curva de calibração. Para tal, são preparados e analisados padrões de concentrações conhecidas do composto a quantificar. É construído um gráfico – curva de calibração – a partir dos sinais obtidos pelo equipamento, sendo estes as áreas ou alturas dos picos cromatográficos (Christian *et al.*, 2013), em função das concentrações de cada padrão. Posteriormente, a amostra de concentração desconhecida é analisada e o valor do sinal obtido é utilizado para interpolar o valor de concentração a partir da equação da curva de calibração (USP, 2017b).

Contudo, a CG é suscetível a diversas fontes de variabilidade, muitas vezes relacionadas com a eficiência do processo de injeção e com o volume da amostra. Como os volumes utilizados são, geralmente, muito reduzidos, a incerteza associada à injeção desses volumes prejudica a repetibilidade da análise (Christian *et al.*, 2013; Ligiero *et al.*, 2009). De modo a minimizar os efeitos da variabilidade das condições de análise e assegurar a precisão e confiabilidade dos resultados, surge a necessidade de recorrer a métodos de análise quantitativa. Os mais comuns são o método do padrão interno, método do padrão externo e normalização das áreas (Lakka e Kuppan, 2019), sendo o padrão interno o mais

utilizado. Este consiste na adição de uma quantidade fixa de um composto – o padrão interno (PI) – aos padrões utilizados para construir a curva de calibração e às amostras cuja concentração se pretende determinar (Christian *et al.*, 2013; Lundanes *et al.*, 2013).

O PI deve ser quimicamente semelhante ao analito a quantificar (Christian *et al.*, 2013) e inerte em relação aos componentes dos padrões e da amostra. A sua pureza deve ser elevada e o seu tempo de retenção deve ser próximo ao tempo de retenção do analito, sem ocorrer sobreposição dos picos (Lundanes *et al.*, 2013). Após a análise, são registadas as áreas ou alturas dos picos dos analitos e do PI (Christian *et al.*, 2013). A curva de calibração é construída a partir da razão entre o sinal dos analitos e o sinal do PI nos padrões em função da razão entre a concentração dos padrões e a concentração do PI utilizada. Através do gráfico obtido, é possível interpolar a concentração do analito na amostra (USP, 2017b). Este método evita que a análise seja afetada por pequenas variações das condições cromatográficas (Christian *et al.*, 2013).

3. Componente Prática do Estágio

Neste capítulo encontram-se as atividades desenvolvidas no âmbito do CQ, como a atualização do plano de EMM da Parlab e qualificação de equipamentos laboratoriais, assim como todos os processos e informações acerca do desenvolvimento e validação de um método analítico abordados no decorrer do estágio curricular na empresa. Algumas informações estão omitidas por questões de confidencialidade empresarial.

3.1. EMM

O estado do funcionamento dos EMM tem influência sobre a precisão e exatidão dos resultados das medições efetuadas durante as atividades da empresa, particularmente durante os testes de qualificação de equipamentos, pelo que, para garantir a sua validade, os EMM devem ser verificados e, se necessário, calibrados periodicamente.

A documentação das ações relativas ao controlo dos EMM, como os registos de verificações, intervenções técnicas e certificados de calibração devem ser mantidos. Informações como o estado dos equipamentos e as datas de verificação ou calibração devem ser monitorizadas e atualizadas frequentemente. O registo das informações relativas a todos os EMM existentes na Parlab encontra-se num documento denominado “Base de Dados de EMM”, representado na Figura 1.

The table displays a comprehensive list of laboratory equipment used for monitoring and measurement. Each row represents a specific piece of equipment, detailing its identification, technical specifications, and maintenance status. The 'Estado de Verificação' column uses color-coded indicators (green for 'OK', yellow for 'Atenção', red for 'Não conformidade') to show the current compliance status of each item. The 'Data de Registo' column indicates the date of the last update or verification.

Figura 1 – Base de Dados de EMM

Neste ficheiro estão registadas as características de cada EMM da empresa, sendo estas:

- O número do EMM: Referência interna utilizada para identificar o EMM.
- O número de série, a marca e o modelo.
- O intervalo de medição e a resolução.
- A data de aquisição.
- A variável a calibrar/verificar.

- O critério de aceitação (CA): Erro máximo aceitável durante a utilização do EMM. É definido internamente e determina o estado da calibração do equipamento.
- O local de calibração/verificação: Identifica a entidade acreditada pelo Instituto Português da Qualidade (IPQ) que calibra o EMM.
- Periodicidade de calibração/verificação: Frequência com a qual o EMM deve ser verificado/calibrado. Esta periodicidade define-se atendendo ao histórico de dados do equipamento, da finalidade e frequência de uso. Geralmente, encontra-se entre os 12 e os 24 meses, podendo este período ser alterado sempre que se verifique necessário.
- A data de calibração: É a partir desta data que começa a contar o tempo até que o equipamento seja novamente enviado para calibrar, tendo em conta a sua periodicidade de calibração.
- O número do certificado de calibração: Os certificados de calibração são impressos e mantidos num arquivo próprio. O registo do número do certificado auxilia a sua consulta nesse arquivo, em caso de necessidade.
- O estado da calibração: Permite verificar se o equipamento está “Conforme”, com “Uso Condicionado” ou “Não Conforme”.

A atualização deste documento é essencial para acompanhar o estado dos EMM.

3.1.1. Avaliação da conformidade

O facto de um EMM ter sido calibrado não significa que reúna todas as condições para que possa ser utilizado novamente. O certificado de calibração apenas compara os valores obtidos pelo EMM com valores padrão, fornecendo dados relativos ao erro de medição e incerteza. No entanto, o estado da calibração depende da conformidade dos resultados com o CA, sendo este determinado pela organização, tendo em conta as especificações e a finalidade do equipamento.

A validação da conformidade com o CA é registada no documento de controlo dos EMM. Este possui um ficheiro para cada equipamento, no qual são registados os dados provenientes do certificado de calibração e se verifica se o equipamento se encontra “Conforme”, com “Uso Condicionado” ou “Não Conforme”. Esta verificação consiste na comparação entre a soma dos valores absolutos do erro e da incerteza com o valor do CA definido

Na Figura 2 está exemplificado o registo de resultados e validação de conformidade de um equipamento.

ANÁLISE DE RESULTADOS							
Equipamento: Termobarómetro Digital							
Marca: N/A							
Modelo: N/A							
Nº Série: GTD1100							
Data de Calibração	Valor Nominal (°C)	Valor Medido (°C)	Erro (°C)	Incerteza (± °C)	Cálculo da Validação (°C)	Critério de Aceitação (°C)	Validação da Conformidade
31/03/2023	-10,15	-10,2	0,0	0,12	0,12	0,4	CONFORME
	19,99	19,9	-0,1	0,12	0,22	0,4	CONFORME
	45,07	44,9	-0,2	0,13	0,33	0,4	CONFORME
ANTIGAS							
Data de Calibração	Valor Nominal (°C)	Valor Medido (°C)	Erro (°C)	Incerteza (± °C)	Cálculo da Validação (°C)	Critério de Aceitação (°C)	Validação da Conformidade
15/02/2011	-5,08	-5,0	0,1	0,27	0,37	0,4	CONFORME
	20,36	20,3	-0,1	0,27	0,37	0,4	CONFORME
	45,00	44,5	-0,5	0,27	0,77	0,4	NÃO CONFORME
Data de Calibração	Valor Nominal (°C)	Valor Medido (°C)	Erro (°C)	Incerteza (± °C)	Cálculo da Validação (°C)	Critério de Aceitação (°C)	Validação da Conformidade
26/04/2012	-5,09	-4,8	0,3	0,15	0,45	0,4	NÃO CONFORME
	19,97	20,4	0,4	0,15	0,55	0,4	NÃO CONFORME
	45,06	44,8	-0,3	0,15	0,45	0,4	NÃO CONFORME
Data de Calibração	Valor Nominal (°C)	Valor Medido (°C)	Erro (°C)	Incerteza (± °C)	Cálculo da Validação (°C)	Critério de Aceitação (°C)	Validação da Conformidade
19/09/2014	-10,21	-10,1	0,1	0,20	0,30	0,4	CONFORME
	20,01	20,0	0,0	0,20	0,20	0,4	CONFORME
	44,56	44,4	-0,6	0,20	0,80	0,4	NÃO CONFORME
Data de Calibração	Valor Nominal (°C)	Valor Medido (°C)	Erro (°C)	Incerteza (± °C)	Cálculo da Validação (°C)	Critério de Aceitação (°C)	Validação da Conformidade
19/10/2016	-10,18	-10,2	0,0	0,20	0,20	0,4	CONFORME
	20,06	19,9	-0,2	0,20	0,40	0,4	CONFORME
	45,04	44,7	-0,3	0,20	0,50	0,4	NÃO CONFORME
Data de Calibração	Valor Nominal (°C)	Valor Medido (°C)	Erro (°C)	Incerteza (± °C)	Cálculo da Validação (°C)	Critério de Aceitação (°C)	Validação da Conformidade
29/10/2018	-9,90	-9,7	0,2	0,14	0,34	0,4	CONFORME
	20,10	19,9	-0,2	0,14	0,34	0,4	CONFORME
	44,45	44,6	0,1	0,14	0,24	0,4	CONFORME

Figura 2 – Exemplo do registo de resultados do certificado de calibração e determinação da validação da conformidade de um EMM ao longo dos anos.

Se $|\text{erro}| + |\text{incerteza}| < |\text{CA}|$, significa que, para aquele valor ou gama de valores, o EMM encontra-se “Conforme”, não estando sujeito a nenhuma restrição de medição naquele intervalo. Na Figura 3 está exemplificado um EMM cujos resultados estão conforme o CA em toda a escala.

ANÁLISE DE RESULTADOS							
Equipamento: Simulador de PT 100							
Marca: Burster							
Modelo: 4512							
Nº Série: 341706							
Data de Calibração	Valor Nominal (V)	Valor Medido (V)	Erro (V)	Incerteza (± V)	Cálculo da Validação (V)	Critério de Aceitação (V)	Validação da Conformidade
29/03/2023	GAMA de -20°C a 300°C						
	-20	-19,983	0,017	0,032	0,049	1,0000	CONFORME
	0	0,009	0,009	0,030	0,039	1,0000	CONFORME
	10	9,999	-0,001	0,031	0,032	1,0000	CONFORME
	20	20,027	0,027	0,032	0,059	1,0000	CONFORME
	40	39,989	-0,011	0,034	0,045	1,0000	CONFORME
	60	60,026	0,026	0,036	0,062	1,0000	CONFORME
	80	79,835	-0,165	0,038	0,203	1,0000	CONFORME
	100	100,012	0,012	0,040	0,052	1,0000	CONFORME
	150	149,954	-0,046	0,045	0,091	1,0000	CONFORME
	200	200,019	0,019	0,050	0,069	1,0000	CONFORME
	300	299,931	-0,069	0,060	0,129	1,0000	CONFORME

Figura 3 – EMM conforme em toda a escala de calibração.

Se $|\text{erro}| + |\text{incerteza}| > |\text{CA}|$, significa que, para aquele valor ou gama de valores, o EMM encontra-se “Não Conforme”, ou seja, a sua utilização está condicionada, sendo que não pode ser utilizado em medições cujo resultado esteja contido naquele intervalo. Na Figura 4 está exemplificado um EMM cujos resultados não estão conforme o CA em parte da escala.

ANÁLISE DE RESULTADOS							
Equipamento: Flowmeter							
Marca: Cole Parmer							
Nº Série: EMM20							
Data de Calibração	Valor Nominal (LPM)	Valor Medido (LPM)	Erro (LPM)	Incerteza (\pm LPM)	Cálculo da Validação (LPM)	Critério de Aceitação (LPM)	Validação da Conformidade
29/03/2023	9,10	10,0	-0,9	0,18	1,08	10,0	CONFORME
	19,70	20,0	-0,3	0,24	0,54	10,0	CONFORME
	39,80	40,0	-0,2	0,39	0,59	10,0	CONFORME
	61,40	60,0	1,4	0,46	1,86	10,0	CONFORME
	85,70	80,0	5,7	0,63	6,33	10,0	CONFORME
	114,10	100,0	14,1	0,83	14,93	10,0	NÃO CONFORME

Figura 4 – EMM não conforme em parte da escala de calibração.

Após esta verificação da conformidade com o CA, o estado dos EMM é determinado e devidamente identificado recorrendo às etiquetas representadas na Figura 5.

Caso o equipamento esteja conforme o CA em toda a escala para o qual foi calibrado, o seu estado no ficheiro da Figura 1 é definido como “Conforme” e é assinalado a verde. No equipamento, é colocada a etiqueta verde representada na Figura 5 e este pode ser utilizado sem restrições.

Se o equipamento não estiver conforme em parte da escala para o qual foi calibrado, o seu estado passa a “Uso Condicionado” e é assinalado a amarelo no ficheiro da Figura 1. No equipamento, é colocada a etiqueta amarela representada na Figura 5 e o seu uso fica sujeito a restrições, não podendo ser utilizado para medir valores inseridos na gama para a qual o estado do EMM não está conforme o CA.

Caso o equipamento não esteja conforme em toda a escala para o qual foi calibrado, é definido como “Não Conforme” e é assinalado a vermelho no ficheiro da Figura 1. No equipamento, é colocada a etiqueta vermelha representada na Figura 5 e o equipamento não pode ser utilizado, devendo ser sujeito a reparação ou substituição.

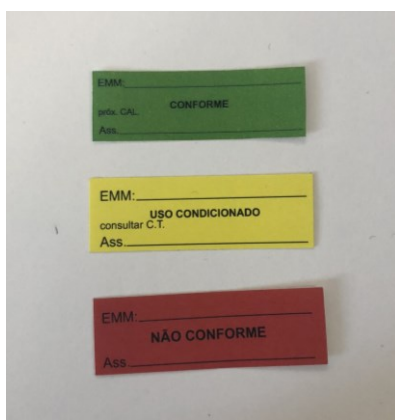


Figura 5 – Etiquetas utilizadas para identificar o estado dos EMM. Etiqueta verde - "Conforme"; Etiqueta amarela - "Uso Condicionado"; Etiqueta Vermelha - "Não Conforme".

Na Figura 6 encontra-se o exemplo de um equipamento “Conforme” e na Figura 7 está representado um equipamento identificado com a etiqueta de “Uso Condicionado”.



Figura 6 – Equipamento Conforme.



Figura 7 – Equipamento com Uso Condicionado.

3.2. Qualificação de Equipamentos

Antes de se iniciar o desenvolvimento e validação do método analítico, foram realizadas as IQ, OQ e PQ do equipamento de CG utilizado - YL 6500 da YOUNG IN Chromass - seguindo-se as especificações do fabricante e respetivos modelos de relatório. As IQ, OQ e PQ foram realizadas pelo técnico responsável pela marca, seguindo os SOP respetivos. Todas as etapas da qualificação do equipamento foram concluídas e qualificação do equipamento foi bem-sucedida.

3.2.1. Qualificação de Instalação

O objetivo do SOP para IQ é a confirmação de que o equipamento foi devidamente instalado. Iniciou-se com a verificação da existência dos vários componentes do equipamento mediante uma lista com o nome, descrição e número de referência de cada componente a verificar.

Depois, passou-se à verificação das especificações do equipamento, em que se compararam as especificações de componentes, como o forno da coluna capilar ou o FID, com aquelas descritas no SOP. Por exemplo, relativamente ao forno da coluna, foi realizada a verificação de aspetos como o seu volume útil, a gama de temperaturas de operação e taxa de aquecimento máxima.

Seguiu-se a verificação da adequabilidade das instalações elétricas, condições de humidade, temperatura, luminosidade e ventilação da área. Verificou-se também se o espaço físico e suporte disponibilizados estavam em conformidade com os requisitos. Adicionalmente, foi verificada a pureza dos gases utilizados pelo FID.

Seguiram-se todos os passos descritos no procedimento de instalação realizar a instalação do equipamento, iniciando-se pela ligação dos tubos dos gases e posterior verificação de existência de fugas de gás. Seguiu-se a ligação dos cabos de *input* e *output*, relacionados com a conexão à LAN (*Local Area Network*) e ao computador onde são registados os resultados, a instalação do sistema da entrada do capilar, o teste do FID e a instalação da coluna capilar. Por fim, foi executado um teste geral ao equipamento para confirmar se a instalação de todos os componentes foi bem-sucedida.

3.2.2. Qualificação de Operação

A OQ consiste na verificação do funcionamento do equipamento após instalação efetuada de acordo com o SOP de IQ. Durante este procedimento, ocorreu a verificação do funcionamento das luzes LED do equipamento que indicam que este está pronto a ser utilizado e a verificação das gamas operacionais e CA para cada parâmetro do equipamento. O procedimento iniciou-se com um teste ao terminal de *input* e *output*, em que foi testada a comunicação entre o equipamento e o computador a ele conectado. Depois, foram testados diversos parâmetros relacionados com a temperatura do forno, com o caudal de gás na coluna e no FID e verificou-se se os valores observados cumpriam com os CA definidos no SOP.

3.2.3. Qualificação de Desempenho

A PQ consiste na demonstração do funcionamento consistente do equipamento de acordo com as especificações definidas para o seu uso de rotina.

O procedimento iniciou-se com um teste à exatidão da temperatura do forno. Para tal, foi instalado um termómetro na base do forno e definiu-se a temperatura para 100° C. Após a indicação de que o forno chegou à temperatura definida, apontou-se o valor registado pelo termómetro a cada 1 minuto, durante 3 minutos, obtendo-se três valores. Foi calculada a média e o CV e verificou-se se os resultados obtidos cumpriam com os CA definidos no SOP. Repetiu-se o processo, desta vez, para uma temperatura de 230° C. Testou-se ainda a exatidão e a estabilidade do caudal de gases à entrada do capilar e no FID. Efetuaram-se três medições para cada e foi calculado o CV, verificando-se se cumpria com os CA.

Por fim, foi testada a repetibilidade da injeção de uma solução que continha metanol, etanol e isopropanol, em que foram definidas condições para a temperatura do forno, do injetor e do detetor, para o caudal do gás de arraste e do gás do detetor, assim como para a razão de *split*. Estas condições correspondiam às especificações definidas para o uso de rotina do equipamento. Após as injeções das amostras e registo dos resultados, foi determinado o CV do tempo de retenção e da área dos picos de cada substância da solução, sendo estes valores comparados com CA pré-definidos.

3.3. Desenvolvimento e Validação de um Método Analítico

Nesta secção, estão descritas as atividades efetuadas no âmbito do desenvolvimento e a validação de um método analítico. Este foi desenvolvido com o objetivo de quantificar etanol numa amostra sólida de um produto farmacêutico, recorrendo à técnica de análise de CG, utilizando amostragem por *headspace* e detetor de ionização por chama, ou FID.

O desenvolvimento do método foi feito de acordo com a diretriz ICH Q14 e teve por base os conhecimentos presentes na Farmacopeia Europeia, nas secções 2.2.46 (2010) e 2.9.10 (2019b) e no artigo “*A Static Headspace GC–MS Method for the Determination of Ethanol in Solid or Semi-solid Consumer Goods*”, publicado por Sours e Bezabeh (2021).

A validação foi elaborada com base em diretrizes internacionais, nomeadamente a ICH Q2(R1) (2005) e a USP <1225> (2016b).

3.3.1. Desenvolvimento

3.3.1.1. ATP

Para dar início ao desenvolvimento do método, começou-se por definir o ATP do procedimento. Neste passo, foi descrito o objetivo do método, a CQA do analito e as características de desempenho a avaliar, tal como se observa na Tabela 1.

Tabela 1 – ATP

Objetivo	
Quantificação de etanol numa amostra sólida de um produto farmacêutico.	
CQA	
Limite de concentração deve ser igual ou inferior a XXX% (m/m).	
Características dos Resultados	
Característica	CrITÉrios de Aceitação Sugeridos
Exatidão	A exatidão é calculada através da percentagem de recuperação de uma quantidade adicionada e conhecida de etanol em soluções padrão. A recuperação (%) deve estar entre 98 e 102 %.
Precisão (Repetibilidade e Precisão intermédia)	O desvio-padrão e CV devem ser calculados para cada tipo de precisão abordada. O CV da repetibilidade deve ser igual ou inferior a 2 %. O CV da precisão intermédia deve ser igual ou inferior a 3 %.
Especificidade	Não deve haver sobreposição entre os picos cromatográficos pertencentes ao analito de interesse (etanol) e a picos que correspondam a outros solventes orgânicos que possam estar presentes na amostra.
Linearidade	A linearidade deve verificar-se ao longo da gama de trabalho. É avaliada através do coeficiente de correlação (r^2) da curva de calibração. O coeficiente de correlação deve ser superior a 0,99.
Gama de trabalho	A gama de trabalho deve incluir a concentração limite estabelecida. Os valores do limite mínimo e máximo devem corresponder a 80 % e 120 % da concentração limite, respetivamente.
Limite de Deteção	Calculado de acordo com a Equação 6, definida pela ICH Q2(R1).
Limite de Quantificação	Calculado de acordo com a Equação 7, definida pela ICH Q2(R1).
Robustez	Avaliada no desenvolvimento. Devem ser estabelecidos procedimentos para controlar os parâmetros com impacto sobre o desempenho do método.

3.3.1.2. Seleção da tecnologia

Com base nos capítulos 2.2.28 e 2.9.10 da Farmacopeia Europeia, procedeu-se à seleção da tecnologia CG com *headspace*. Utilizou-se um cromatógrafo de fase gasosa YL6500 GC YOUNG IN Chromass, um equipamento de amostragem *headspace* Master DHS DANI e uma coluna cromatográfica DB – 624 Agilent, com as seguintes dimensões: 30 m x 0,32 mm x 1,80 µm. O *software* utilizado para o registo e tratamento de resultados foi YL-Clarity, Versão 8.1.0.77.

3.3.1.3. Avaliação de risco

Tendo por base o artigo publicado por Sours e Bezabeh (2021) e o capítulo 2.2.46 da Farmacopeia Europeia (2010), foram identificados os seguintes parâmetros que poderiam ter impacto significativo sobre o desempenho do método e que, conseqüentemente, influenciariam a qualidade dos resultados obtidos:

- Efeito da matriz;
- Selagem dos *vials*;
- Temperaturas de operação;
- Degradação da coluna cromatográfica;
- Caudal do gás de arraste, dimensões, temperatura e pressão da coluna cromatográfica;
- Razão de *split*;
- Estabilidade das soluções;
- Incerteza elevada das micropipetas na medição de volumes baixos de compostos voláteis.

Partindo da análise de risco efetuada e a literatura consultada, definiram-se as condições iniciais dos diferentes parâmetros analíticos, tanto do cromatógrafo, como do *headspace*.

3.3.1.4. Estratégia de Controlo

Definiu-se uma estratégia de controlo, em que foram estabelecidos os parâmetros dos SST e os respetivos CA baseados nas recomendações da FDA (CDER, 1994), Farmacopeia Europeia (European Pharmacopoeia, 2010) e a Farmacopeia dos Estados Unidos (USP, 2017b), que permitiram a avaliação do desempenho do método ao longo do seu desenvolvimento. Os parâmetros escolhidos e os CA encontram-se na Tabela 2.

Tabela 2 – Parâmetros SST e respetivos critérios de aceitação recomendados (CDER, 1994; European Pharmacopoeia, 2010; USP, 2017b).

Parâmetros	Crítérios de Aceitação Recomendados
Resolução (Rs)	Rs > 2
Número de pratos teóricos (N)	N > 2000
Fator de Assimetria (As)	0,8 < As < 1,8

Adicionalmente, na estratégia de controlo são referidos procedimentos e recomendações que devem ser adotados para controlar os parâmetros identificados na análise de risco, tendo em vista a minimização dos seus efeitos negativos.

3.3.1.5. Preparação de soluções

Antes de se proceder aos testes de robustez, foi necessário definir um procedimento para a preparação das amostras, soluções padrão e brancos. Para a análise cromatográfica, recorreu-se ao método do Padrão Interno (PI). O PI utilizado foi o isopropanol.

Foram preparados dois tipos de padrões: um com uma mistura em pó que simulava a matriz da amostra, à qual se adicionou água, etanol e PI e um que continha apenas água, etanol e PI. Para cada tipo, foram preparados cinco padrões com concentrações diferentes.

Para obter os padrões, foram preparadas duas soluções, a solução A e a solução padrão mãe. A solução A foi preparada diluindo X,XX mL de isopropanol num balão volumétrico de 20,00 mL (0,X % (V/V)), completando-se o volume com água. Para preparar a solução padrão mãe, foram colocadas 0,0X0 g de etanol num balão volumétrico de 10,00 mL e completou-se o volume com Solução A. Devido à elevada incerteza das micropipetas na medição de volumes baixos de líquidos voláteis, optou-se por pesar a massa de etanol adicionada, de modo a minimizar o erro no cálculo da concentração de etanol. Assim, registou-se a massa pesada para posterior cálculo da concentração de etanol, expressa em % (m/m).

Os padrões que continham mistura da matriz foram preparados através da adição dos volumes da Tabela 3 à mistura. Registou-se a massa da mistura pesada para posterior cálculo da concentração de etanol nos padrões.

Os padrões que continham apenas água, etanol e isopropanol foram preparados adicionando somente os volumes que se encontram na Tabela 3 aos *via*/s. De seguida, os *via*/s foram devidamente selados.

Tabela 3 – Volumes de solução padrão mãe e solução A a adicionar a cada *vial* para a preparação dos padrões.

Padrão	Volume da solução padrão mãe (mL)	Volume de solução A (mL)	Volume final (mL)	Etanol Final %(m/m)
1	0,250	1,750	2,000	0,0XX
2	0,500	1,500		0,0XX
3	1,000	1,000		0,XX
4	1,500	0,500		0,XX
5	2,000	0,000		0,XX

Para preparar os brancos, adicionou-se, num *vial*, a mistura da matriz, isopropanol e água, ou somente isopropanol e água, sem a presença de etanol.

Para preparar as amostras, adicionaram-se 2,00 mL de solução A a uma determinada quantidade de amostra num *vial*. Registou-se a massa da amostra para posterior cálculo da concentração de etanol na amostra.

3.3.1.6. Curva de Calibração

Para construir a curva de calibração utilizaram-se três repetições de cada um dos cinco padrões com diferentes concentrações. Como se recorreu ao método do PI, a curva de calibração é obtida por regressão linear entre a razão das concentrações de etanol e isopropanol e a razão das áreas dos picos de etanol e isopropanol, como se pode observar na Equação 1.

$$\frac{A_{Etanol}}{A_{Isopropanol}} = m \times \frac{C_{Etanol} \% (w/w)}{C_{Isopropanol} \% (V/V)} + b \quad (\text{Eq. 1})$$

em que:

m é o declive da curva de calibração

b é a ordenada na origem da curva de calibração

O valor da concentração de etanol é interpolado a partir da Equação 1. Para se obter a concentração de etanol (%m/m) na amostra é utilizado um fator (f), como se observa na Equação 2.

$$C_{Etanol} \% (w/w) = \frac{y-b}{m} \times f \times C_{Isopropanol} \% (V/V) \quad (\text{Eq. 2})$$

Em que:

f é um fator de correção relacionado com a massa da matriz da amostra

3.3.1.7. Robustez

Durante a análise da robustez, efetuaram-se análises univariadas, em que se verificaram as consequências de variações dos parâmetros analíticos sobre os resultados obtidos. Na Tabela 4, estão representados os parâmetros avaliados, assim como as condições experimentais testadas para cada um. Conforme o impacto das variações sobre o desempenho do método, estes parâmetros foram definidos como críticos ou não críticos.

Tabela 4 – Parâmetros analíticos e valores testados.

Parâmetro	Valor
Headspace	
Tempo de incubação	5, 10, 15, 20, 40 min
Tempo de injeção	0,5; 1,0; 1,5 min
Tempo de amostragem	0,3; 0,5; 1,0 min
Cromatógrafo	
Razão de <i>Split</i>	1:20, 1:50
Temperatura inicial do forno	45, 50, 60° C
Caudal do gás de arraste	2,5; 3 mL/min

Verificou-se que o caudal do gás de arraste, a temperatura inicial do forno e a razão de *split* tinham impacto significativo sobre as áreas dos picos, resolução e linearidade.

As diferentes condições de caudal foram testadas através da injeção de uma solução com a mesma concentração (0,X %(m/m)) de metanol, etanol, acetona, isopropanol e diclorometano. Na Figura 8, estão representados os cromatogramas obtidos após a análise da solução utilizando caudais de 2,5 ml/min e 3,0 ml/min. Observou-se uma distância maior entre os picos correspondentes às diferentes substâncias da solução quando se utilizou um caudal de 2,5 ml/min, o que se traduz numa maior resolução entre picos. Uma maior resolução evita a ocorrência de sobreposição de picos, caso estejam presentes outros solventes na amostra para além do etanol e isopropanol.

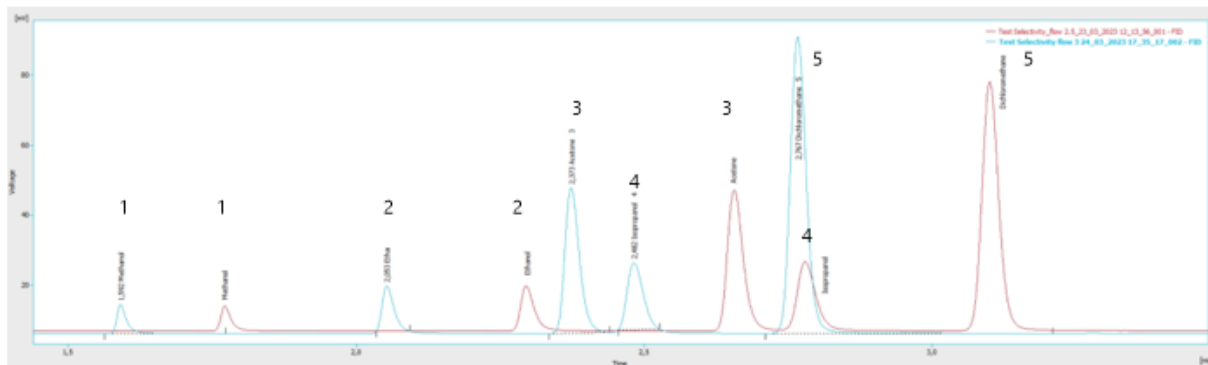


Figura 8 – Cromatogramas resultantes do teste de diferentes condições de caudal. Legenda: Cromatograma vermelho – 2,5 ml/min; Cromatograma azul – 3,0 ml/min. 1 – Metanol; 2 – Etanol; 3 – Acetona; 4 – Isopropanol; 5 – Diclorometano.

Foram testadas três temperaturas iniciais do forno diferentes. Os cromatogramas obtidos durante a análise deste parâmetro estão representados na Figura 9. Verificou-se que, quanto menor a temperatura, maior o tempo de retenção do etanol e PI. O aumento do tempo de retenção das duas substâncias levou a uma melhor separação ou resolução dos picos. Assim, concluiu-se que uma temperatura inicial de 45° C permite obter melhores resultados em termos de resolução.

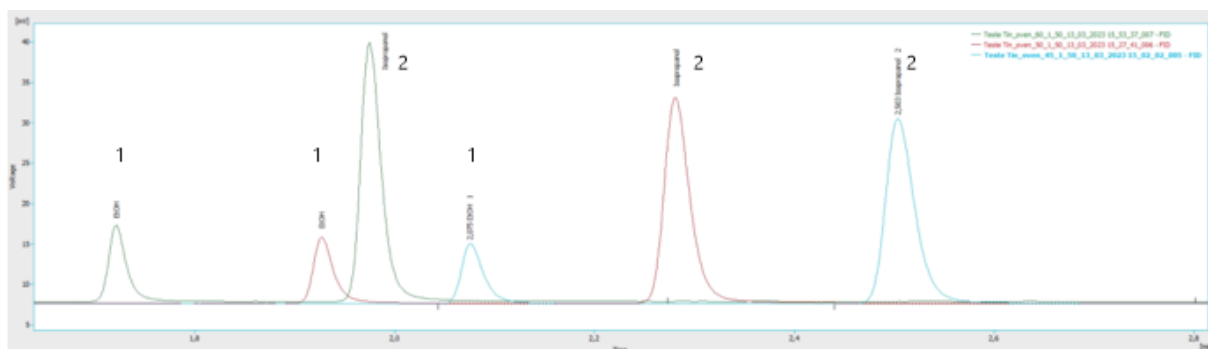


Figura 9 – Cromatogramas resultantes do teste de diferentes temperaturas iniciais do forno. Legenda: Cromatograma azul – 45° C; Cromatograma vermelho – 50° C; Cromatograma verde – 60° C. 1 – Etanol; 2 – Isopropanol.

Relativamente à análise da razão de *split*, foram testadas as razões de 1:20 e 1:50. Utilizando uma razão de 1:50, construiu-se a curva de calibração representada na Figura 10 e determinou-se o seu coeficiente de correlação ($r^2 = 0,9991$). De acordo com os CA sugeridos no ATP, este coeficiente deve ser superior a 0,99, logo, verifica-se a existência de uma relação de linearidade nestas condições. Na Figura 11 encontra-se a curva de calibração obtida utilizando uma razão de 1:20. Verificou-se uma diminuição da linearidade, evidenciada pelo coeficiente de correlação obtido ($r^2 = 0,9756$), que é inferior ao limite estabelecido. Por este motivo, a utilização de uma razão de *split* de 1:20 não é adequada.

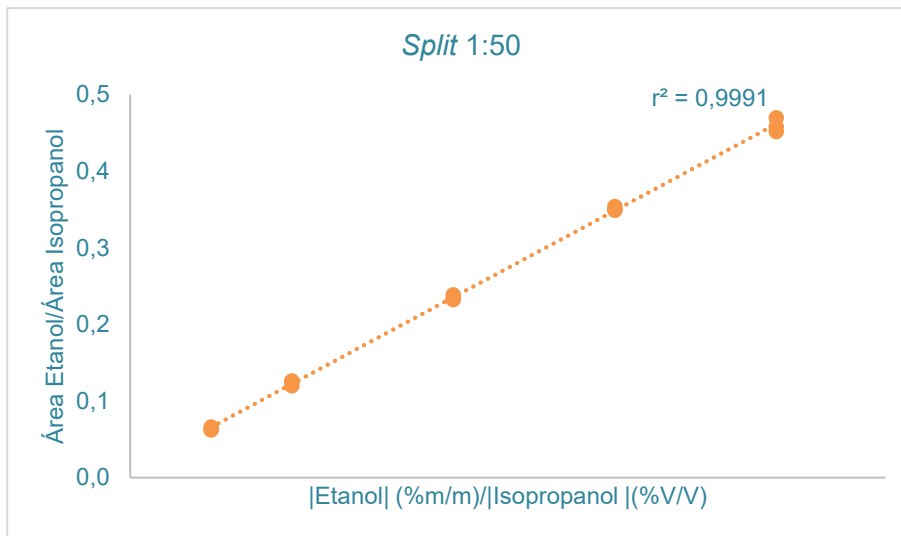


Figura 10 – Curva de calibração obtida utilizando uma razão de *split* de 1:50.

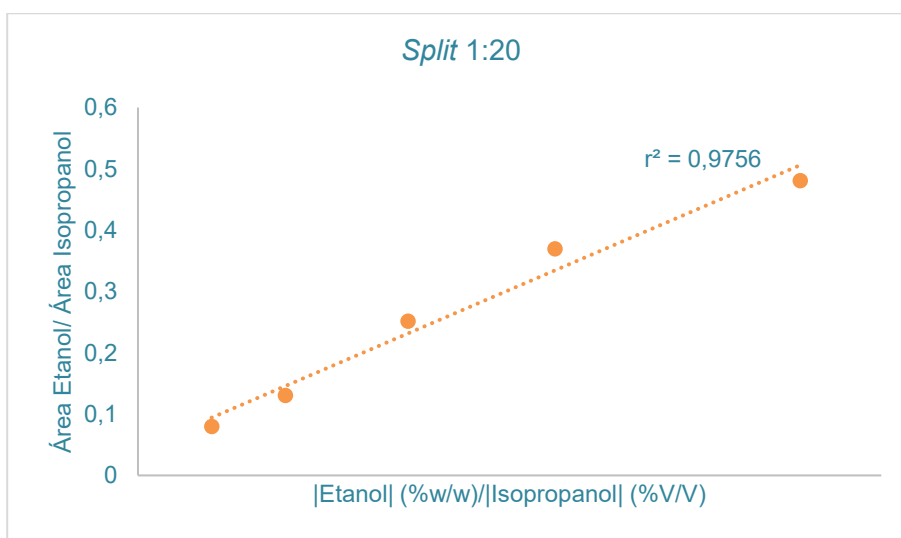


Figura 11 – Curva de calibração obtida utilizando uma razão de *split* de 1:20.

Assim, a razão de *split*, a temperatura inicial do forno e o caudal do gás de arraste foram definidos como parâmetros críticos. As condições que conduziram aos melhores resultados foram estabelecidas como condições ótimas.

A variação do tempo de incubação, tempo de injeção e tempo de amostragem não provocaram diferenças significativas nos resultados, sendo estes definidos como fatores não críticos.

Para além destes parâmetros, foi também avaliado o efeito da matriz, através da comparação entre a curva de calibração obtida a partir dos padrões preparados com e sem a mistura que simula a matriz da amostra. Recorrendo à análise estatística, verificou-se que as equações das curvas de calibração obtidas eram significativamente diferentes, o que significa que os padrões não podiam ser preparados simplesmente a partir de uma mistura de etanol, isopropanol e água, devendo sempre ser incluída a mistura durante a preparação dos padrões.

Adicionalmente, testou-se a estabilidade das soluções preparadas. Para tal, verificou-se se os resultados de padrões obtidos a partir de soluções preparadas imediatamente antes da análise seriam semelhantes àqueles obtidos por padrões preparados a partir das mesmas soluções 24 horas depois.

Posto isto, foram preparadas a solução A e solução padrão mãe e a partir destas foi obtida e analisada a primeira série de padrões. As soluções foram armazenadas a, aproximadamente, 5° C durante 24 horas. No dia seguinte, foi preparada e analisada uma nova série de padrões a partir das mesmas soluções. Após a construção das curvas de calibração para cada série, representadas na Figura 12, verificou-se a existência de diferenças significativas entre as suas equações, pelo que se concluiu que a solução A e a solução padrão mãe teriam de ser preparadas de novo sempre que fosse necessária a construção de uma curva de calibração.

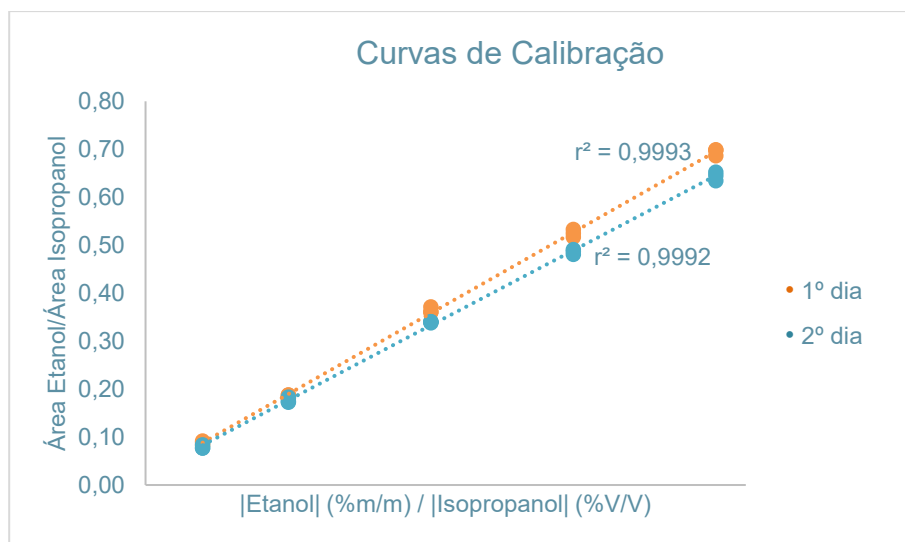


Figura 12 – Curvas de calibração obtidas com padrões preparados a partir as mesmas soluções.

Estas observações decorrentes dos testes de robustez foram incluídas na análise de risco. As recomendações e ações a tomar para controlar estes fatores foram estabelecidas na estratégia de controlo.

Após o estabelecimento das condições ótimas para cada parâmetro analítico, foram realizados os SST. Os valores dos parâmetros destes testes foram calculados recorrendo ao *software* YL-Clarity e verificou-se que os resultados obtidos estavam dentro dos limites estabelecidos na Tabela 2.

Depois, procedeu-se à elaboração do Relatório de Desenvolvimento do método, em que foram descritos todos os procedimentos mencionados e registados todos os resultados obtidos durante o desenvolvimento.

3.3.2. Validação

A validação do método foi elaborada segundo a diretriz ICH Q2(R1) (2005) e a USP <1225> (2016b). Durante a validação, foram avaliadas as características de desempenho e os parâmetros críticos do método.

3.3.2.1. Exatidão

A ICH Q2(R1) (2005) recomenda que a exatidão seja analisada através da análise de pelo menos nove determinações em três ou mais níveis de concentrações diferentes, dentro da gama de trabalho. Portanto, para a determinação da exatidão foram testadas três réplicas de três soluções padrão com diferentes concentrações, fortificadas com uma quantidade conhecida de etanol.

A exatidão foi calculada através da percentagem de recuperação da quantidade de etanol adicionada às soluções padrão. Após o cálculo da concentração de etanol real na solução fortificada (a partir da massa de etanol adicionada) e o cálculo do valor da concentração interpolado a partir da equação da curva de calibração (Equação 2), utilizou-se a Equação 3 para calcular a percentagem de recuperação.

$$\text{Recuperação (\%)} = \frac{|Etanol|_{interpolada}}{|Etanol|_{real}} \times 100 \text{ (Eq. 3)}$$

Na Tabela 5 encontram-se os valores da razão entre as áreas dos picos registados, os valores de concentração interpolados a partir de uma curva de calibração obtida anteriormente e as percentagens de recuperação calculadas, para os quais se determinou a média, desvio-padrão e CV.

Tabela 5 – Análise da exatidão.

Padrão Fortificado	Etanol adicionado (g)	Etanol %(m/m) / Isopropanol %(V/V) (Fortificado)	Área Etanol/Área Isopropanol	Etanol %(m/m)/ Isopropanol %(V/V) (Interpolado)	Recuperação (%)
2	XXX	XXX	0,798	4,450	94,7
			0,807	4,499	95,7
			0,801	4,464	95,0
3	XXX	XXX	0,879	4,911	102,3
			0,897	5,012	104,4
			0,885	4,941	102,9
4	XXX	XXX	0,798	6,804	95,6
			0,807	6,915	97,1
			0,801	6,749	94,8
				Média	98,1
				Desvio-padrão	3,7
				CV (%)	3,8

Segundo o ATP definido para este método, a percentagem de recuperação deveria estar incluída entre 98 e 102 %. Como o valor médio obtido (98,1 %) está dentro do limite estabelecido, concluiu-se que o método é exato na gama de concentrações analisada.

3.3.2.2. Precisão

A precisão pode ser avaliada através da repetibilidade, precisão intermédia e/ou reprodutibilidade. A reprodutibilidade não foi avaliada durante a validação deste método analítico.

Repetibilidade

A repetibilidade foi avaliada através da análise de seis determinações em que se utilizou um padrão de concentração intermédia, aproximadamente igual ao valor limite estabelecido para a concentração de etanol no produto farmacêutico.

Na Tabela 6 encontram-se os valores obtidos para os tempos de retenção e áreas dos picos de etanol e PI, assim como as razões entre os valores das áreas desses picos, para as quais se determinou a média, desvio-padrão e CV.

Tabela 6 – Análise da repetibilidade.

Tempo de Retenção Etanol (s)	Área Etanol	Tempo de Retenção Isopropanol (s)	Área Isopropanol	Área Etanol/Área Isopropanol
2,307	10,673	2,790	45,760	0,2332
2,310	11,248	2,793	48,775	0,2306
2,328	11,212	2,813	46,917	0,2390
2,333	10,620	2,817	45,557	0,2331
2,313	10,458	2,798	44,052	0,2374
2,320	10,882	2,805	45,671	0,2383
			Média	0,2353
			Desvio-padrão	0,003
			CV (%)	1,32

Através desta análise, confirmou-se a repetibilidade do método, visto que o CV obtido (1,32 %) é inferior ao valor limite estabelecido no ATP (2 %).

Precisão Intermédia

A avaliação da precisão intermédia envolveu a variação dos analistas que preparam as soluções padrão e do dia da realização da análise, não havendo variação do equipamento. Os cinco padrões foram preparados por três analistas diferentes em sete dias distintos. Na Tabela 7 encontram-se os dias em que os padrões foram preparados, o analista que os preparou, a razão das concentrações de etanol e PI e o valor da razão entre as áreas dos picos de etanol e PI, cuja média foi calculada para cada padrão.

Tabela 7 – Análise da precisão intermédia.

Padrão	Analista	Dia	Etanol %(m/m) / Isopropanol %(V/V)	Área Etanol/Área Isopropanol	Média
1	R	1	0,375	0,073	0,077
	H	2	0,356	0,074	
	F	7	0,380	0,083	
2	R	3	0,480	0,134	0,135
	H	4	0,572	0,132	
	F	5	0,597	0,138	
3	R	4	1,090	0,246	0,254
	H	5	1,194	0,272	
	F	3	1,144	0,245	
4	R	5	1,635	0,374	0,376
	H	3	1,791	0,401	
	F	4	1,713	0,353	
5	R	6	2,848	0,523	0,540
	H	1	3,036	0,556	
	F	2	3,000	0,541	

Os valores médios das razões entre as áreas dos picos foram utilizados para calcular o desvio-padrão da precisão intermédia através da Equação 4 (Relacre, 2000).

$$S_{i(a,d)} = \sqrt{\frac{1}{t(n-1)} \sum_{j=1}^t \sum_{k=1}^n (y_{jk} - \bar{y}_j)^2} \text{ (Eq. 4)}$$

Em que:

t é o número de amostras analisadas

n é o número de análises por amostras

j é o número da amostra (1 a t)

k é o número do resultado obtido para a amostra j (que vai de 1 a n)

y_{jk} é o resultado individual (k) para a amostra j de 1 a t

\bar{y}_j é a média aritmética dos resultados da amostra j de 1 a t.

Assim, tem-se que:

$$S_{i(a,d)} = 0,01$$

O CV da precisão intermedia é calculado utilizando a Equação 5.

$$CV (\%) = \frac{S_i}{\bar{y}_j} \text{ (Eq. 5)}$$

Em que:

\bar{y}_j representa a média aritmética de todos os resultados.

Desta forma, determinou-se que o CV das 15 determinações é 5,32 %. Embora este valor seja mais elevado que o CA definido (3 %), concluiu-se que é um valor aceitável, tendo em conta todos os parâmetros variados.

3.3.2.3. Gama de trabalho

A gama de trabalho inclui a concentração limite de etanol na amostra (X% (m/m)), estando entre X-Y % (m/m) e X+Y % (m/m). Ao longo desta gama, a relação entre a razão da concentração de etanol e de PI e a razão entre as áreas dos picos de etanol e PI é linear.

3.3.2.4. Linearidade

A linearidade foi verificada através da análise do gráfico do sinal obtido pelo equipamento em função da concentração do analito – curva de calibração. Efetuou-se a regressão linear através do método dos mínimos quadrados (Relacre, 2000), em que o eixo das coordenadas corresponde à razão entre a área do pico de etanol e a área do pico do PI e o eixo das abcissas corresponde à razão entre a concentração de etanol no padrão e a concentração do PI. A partir da regressão linear, obtiveram-se valores para o coeficiente de correlação (r^2) e para os valores residuais da reta, que permitiram retirar conclusões acerca do grau de linearidade do método (ICH, 2005). Na Figura 13 está representado um exemplo de uma curva de calibração e na Figura 14 encontra-se o gráfico dos valores residuais da reta.

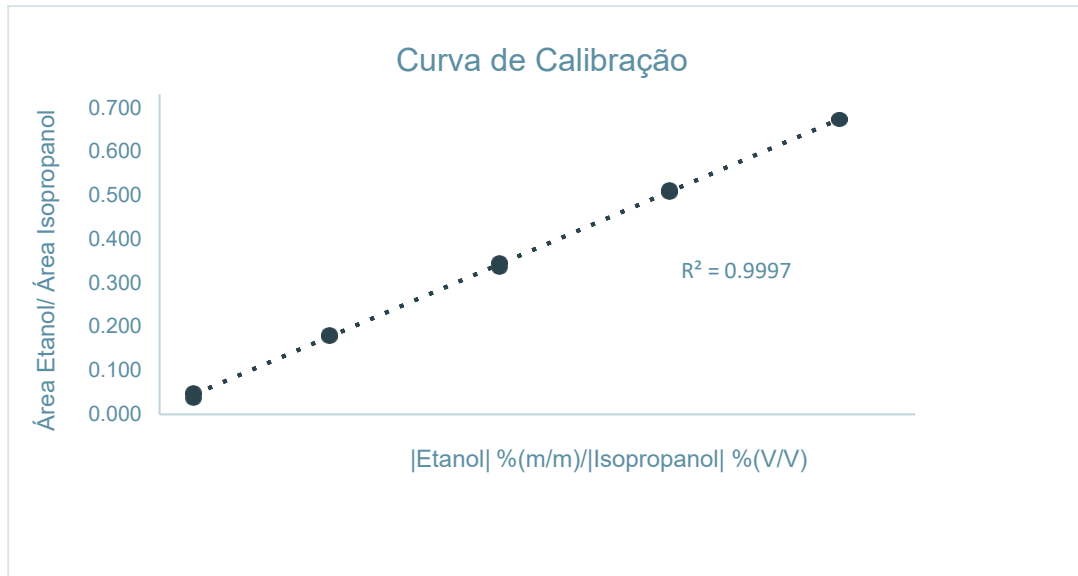


Figura 13 – Exemplo de uma curva de calibração.

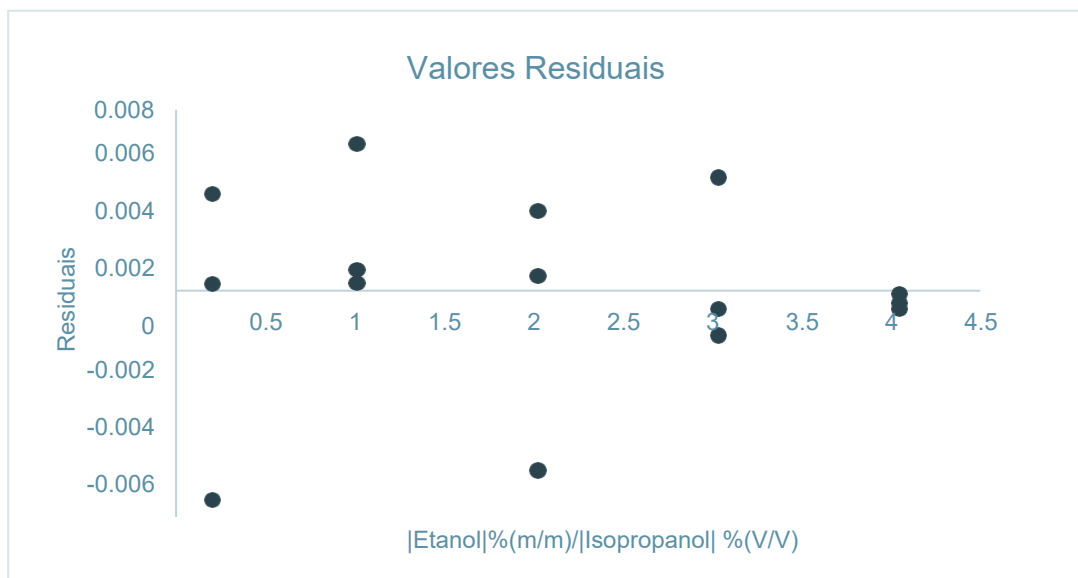


Figura 14 – Valores residuais dos pontos da curva de calibração.

3.3.2.5. Limite de Detecção e Limite de Quantificação

Segundo a ICH Q2(R1) (2005), o LD pode ser determinado visualmente, sendo esta abordagem mais utilizada quando se trata de um método não instrumental. Pode também ser determinado através da relação sinal-ruído, mas apenas se o método analítico apresentar ruído na linha de base. No caso deste método, que requer a utilização de uma curva de calibração, o LD foi determinado através do declive da curva de calibração obtido por regressão linear e do desvio-padrão da resposta, utilizando a Equação 6.

$$LD = \frac{3,3 \times \sigma}{m} \text{ (Eq. 6)}$$

Em que:

σ é o desvio-padrão da resposta, que consiste no desvio-padrão residual da curva de calibração (Relacre, 2000).

Tal como o LD, o LQ pode ser determinado visualmente, ou através da relação sinal-ruído. Neste método, o LD foi determinado através do declive da curva de calibração obtido por regressão linear e do desvio-padrão da resposta, utilizando a Equação 7.

$$LQ = \frac{10 \times \sigma}{m} \text{ (Eq. 7)}$$

É necessário ter em conta que a curva de calibração relaciona a razão entre áreas dos picos de etanol e PI com a razão entre o valor de concentração de etanol e PI. Por este motivo, para se obter os valores corretos para os LD e LQ, foi necessário multiplicar os valores obtidos através das Equações 6 e 7 pela concentração de PI.

Após o cálculo do LD e LQ para cada curva de calibração construída, foi determinada a média para cada limite. Estes valores médios foram definidos como os LD e LQ definitivos do método. À medida que são construídas novas curvas de calibração, podem ser calculados os respetivos LD e LQ e pode ser feito o acompanhamento e registo das variações destes valores (Relacre, 2000).

3.3.2.6. Especificidade

Numa análise cromatográfica, por se tratar de uma técnica de separação, a especificidade pode ser demonstrada por meio de cromatogramas representativos devidamente legendados, em que se possa verificar a resolução entre picos de compostos com tempos de retenção próximos (ICH, 2005). Tendo isto em consideração, foi preparada e analisada uma solução com a mesma percentagem de metanol, etanol, acetona, isopropanol e diclorometano. Na Figura 10 encontra-se o cromatograma representativo da especificidade resultante da análise dessa solução.

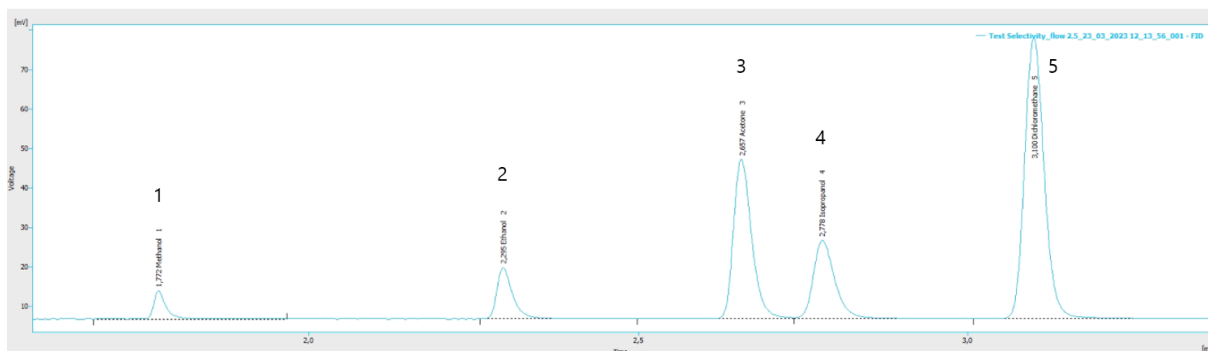


Figura 15 – Cromatograma representativo da especificidade. Legenda: 1 – Metanol; 2 – Etanol; 3 – Acetona; 4 – Isopropanol; 5 – Diclorometano.

3.3.2.7. Robustez

A partir dos dados obtidos através da análise da robustez durante o desenvolvimento, foram definidos os parâmetros com impacto sobre o desempenho do método, o seu nível de impacto e as ações a realizar para o minimizar. Estes dados estão representados na Tabela 8.

Tabela 8 – Parâmetros analisados durante a robustez, respetivo impacto e ações sugeridas.

Parâmetro	Impacto	Nível de impacto	Ações sugeridas
Tempo de Incubação	Não	-	
Tempo de Injeção	Não	-	
Tempo de Amostragem	Não	-	
Selagem dos <i>vials</i>	Sim	++	Garantir selagem correta dos <i>vials</i>
Elevada incerteza das micropipetas em volumes baixos	Sim	+	Pesar as quantidades de etanol a adicionar
Efeito da matriz	Sim	++	Preparação de padrões utilizando uma mistura que simula a matriz da amostra
Razão de <i>Split</i>	Sim	+	Condições definidas no desenvolvimento do método
Temperatura inicial do forno	Sim	+	
Caudal do gás de arraste	Sim	+	
Estabilidade da solução A e solução padrão mãe	Sim	++	Preparar as soluções de novo sempre que necessário

3.3.3. Transferência

Está a ser realizado um Protocolo de Transferência do método analítico que inclui as responsabilidades da unidade de transferência (Paralab) e da unidade recetora, a descrição do método analítico e da preparação dos padrões e das amostras, assim como os equipamentos e reagentes utilizados. Neste protocolo constam os valores obtidos e recomendados para os parâmetros dos SST e para as características de desempenho do método avaliadas durante a validação. Este protocolo ficará concluído quando a unidade recetora o preencher com os valores obtidos pelos seus analistas. Posteriormente, será compilado um Relatório de Transferência, em que os resultados obtidos pelo laboratório recetor serão comparados com os CA definidos no protocolo. Se os resultados estiverem dentro dos limites definidos, conclui-se que a transferência do método foi bem-sucedida. Caso se verifiquem desvios entre os resultados e os CA estabelecidos, devem ser implementadas medidas corretivas, de modo a garantir o cumprimento dos CA.

4. Conclusões

Durante o estágio na Paralab, tive a oportunidade de participar em atividades relacionadas com o CQ, como o desenvolvimento, validação e transferência de um método analítico para quantificar etanol num produto farmacêutico, através da técnica de análise de CG, a qualificação do equipamento de CG utilizado e ainda a atualização do plano de verificação e calibração de EMM da Paralab.

A revisão e atualização do plano de EMM demonstrou a relevância da gestão proativa desses equipamentos na minimização de medições imprecisas. A verificação e calibração regular é vital na obtenção de resultados confiáveis e consistentes.

A qualificação de equipamentos reforçou a noção de que a integridade dos dispositivos e a conformidade com os padrões exigidos são aspetos fundamentais para a credibilidade das análises efetuadas.

A participação no desenvolvimento e validação do método analítico, em conformidade com diretrizes Q14 e Q2(R1) da ICH, deu a conhecer o processo rigoroso que é preciso realizar para garantir a qualidade de produtos medicinais. Características como a precisão, exatidão, linearidade, especificidade e robustez foram elementos incontornáveis para avaliar a aptidão do método e assegurar a validade dos resultados, evidenciando que a validação não é apenas uma formalidade, mas sim uma etapa fundamental para que os produtos medicinais atendam aos padrões de qualidade, garantindo a sua segurança e eficácia.

Apesar de não ter sido finalizada durante o período de estágio, é importante reconhecer que a transferência do método analítico é também uma etapa essencial, que requer uma abordagem cuidadosa de modo a garantir que o método possa ser aplicado eficazmente em diferentes ambientes laboratoriais, preservando a integridade dos resultados.

Ao longo do estágio, aprendi que a combinação de conhecimentos teóricos e práticos é essencial para enfrentar os desafios do CQ, desde a compreensão das normas e diretrizes das Boas Práticas de Fabrico até à aplicação prática das técnicas analíticas no desenvolvimento de um método. Os conhecimentos adquiridos relativamente à manutenção de um plano de verificação e calibração de EMM e à qualificação de equipamentos proporcionou uma perspetiva ampla das etapas cruciais para a obtenção de resultados precisos e confiáveis, o que contribuiu para o sucesso do desenvolvimento e validação de um método analítico.

Este estágio proporcionou-me uma visão valiosa sobre a importância crítica do CQ na indústria farmacêutica e biofarmacêutica. As atividades desenvolvidas permitiram adquirir uma compreensão profunda dos processos que garantem a segurança e eficácia dos produtos medicinais, mostrando que a qualidade não é apenas um objetivo, mas sim uma responsabilidade.

5. Anexos

5.1. *Site Master File* da Paralab



Site Master File

Revisão Nº 03

Pág. 2 de 19

Índice

Índice	2
Introdução	3
1. Informações Gerais	3
1.1. Contactos	3
1.2. Atividades de fabrico solicitadas	4
1.3. N/A	5
2. Sistema de Gestão da Qualidade	5
2.1. Sistema de Gestão da Qualidade	5
2.2. N/A	5
2.3. Gestão de fornecedores e subcontratados	6
2.4. Gestão do Risco da Qualidade	6
2.5. N/A	7
3. Colaboradores e Estrutura Organizacional	8
4. Instalações e Equipamentos	8
4.1. Instalações	8
4.1.1. Sistemas HVAC	10
4.1.2. Sistemas de Água	11
4.1.3. Outros	11
4.2. Equipamentos	11
4.2.1. Lista de Equipamentos	11
4.2.3. Sistemas informatizados de gestão	12
5. Documentação	13
6. Produção	13
7. Controlo de Qualidade (CQ)	14
8. Distribuição, reclamações, defeitos de produto e devoluções	17
9. Auditoria Interna	18
Revisões	19
Inclusão dos pontos:	19
4.1.2. Sistemas de Água	19
4.2.2. Limpeza e higienização	19
6.1. Tipo de Produtos	19
6.2. Processo de Validação	19
Revisão dos pontos:	19
4.2.3. Sistemas informatizados de gestão	19

Elaborado por: Regina Torre
Data: 03/05/2022

Revisto: José Catita
Data: 03/05/2022

Aprovado por: José Paulo Silva
Data: 03/05/2022

Introdução

Este documento contém as informações específicas sobre as políticas e atividades de gestão de qualidade das operações relacionadas com as BPF.

Este Site Master File contém a informação no âmbito do Capítulo 6 - Controlo de Qualidade, da Parte I Volume 4 das Boas Práticas de Fabrico (Eudralex), e foi elaborado seguindo o documento "Explanatory notes on the preparation of a Site Master File" (Eudralex)


1. Informações Gerais

1.1. Contactos

PARALAB – EQUIPAMENTOS INDUSTRIAIS E DE LABORATORIO S.A identificada por:
PARALAB, S.A.

Sede/Instalação de Fabrico

Rua Dr. Joaquim Manuel Costa, 946 B
4420-437 Valbom, Gondomar

 41°08'28.2"N 8°33'48.2"W

Telefone Geral: +351 22 4664320

Fax Geral: 22 4664321

Pessoa de Contacto: Dr. José Catita: jose.catita@paralab.pt; +351 939771044

A PARALAB foi fundada em 1992 dedicando-se à distribuição de equipamento científico para aplicações laboratoriais e industriais. Adicionalmente, a PARALAB realiza atividades de ensaio e análises técnicas, investigação e desenvolvimento em ciências físicas e naturais, e atividades de consultoria científica e técnica.

Elaborado por: Regina Torre
Data: 03/05/2022

Revisto: José Catita
Data: 03/05/2022

Aprovado por: José Paulo Silva
Data: 03/05/2022

1.2. Atividades de fabrico solicitadas

Este Site Master File é parte de processo de obtenção de autorização para o exercício da atividade de fabrico de medicamentos, especificamente para o Capítulo 6 - Controlo de Qualidade, da Parte I Volume 4 das Boas Práticas de Fabrico (Eudralex).

Pretende-se conseguir certificação GMP para realização de ensaios de controlo de qualidade às seguintes formas farmacêuticas:

- Adesivos transdérmicos;
 - Cápsulas (duras, moles, de libertação modificada, gastro-resistentes, hóstias);
 - Comprimidos (não revestidos, revestidos, efervescentes, solúveis, dispersíveis, orodispersíveis, de libertação modificada, gastro-resistentes, para utilizar na cavidade bucal, liofilizados orais);
 - Espumas medicamentosas;
 - Gomas para mascar medicamentosas;
 - Granulados (efervescentes, revestidos, de libertação modificada, gastro-resistentes);
 - Pós-orais;
 - Pré-misturas para alimentos medicamentosos para uso veterinário;
 - Preparações bucais (soluções para gargarejar, soluções para lavagem da boca, soluções gengivais, soluções bucais e suspensões bucais, preparações bucais semi-sólidas, preparações líquidas para instilação bucal ou pulverização sub-lingual, pastilhas e pastilhas moles, comprimidos para chupar, comprimidos sub-linguais e comprimidos bucais, cápsulas bucais, preparações muco-adesivas);
 - Preparações líquidas orais (soluções, emulsões e suspensões orais; pós e granulados para soluções ou suspensões orais; pós para gotas orais; xaropes; pós e granulados para xaropes);
 - Preparações para inalação (preparações líquidas para inalação; pós para inalação);
 - Preparações retais (supositórios; cápsulas retais; soluções, emulsões e suspensões retais; pós e comprimidos para soluções e suspensões retais; preparações retais semi-sólidas; espumas retais; tampões retais);
 - Preparações semi-sólidas cutâneas (pomadas, cremes, geles, pastas, cataplasmas, emplastos medicamentosos);
 - Preparações vaginais (óvulos; comprimidos vaginais; cápsulas vaginais; soluções, emulsões e suspensões vaginais; comprimidos para soluções ou suspensões vaginais; preparações vaginais semi-sólidas; espumas vaginais; tampões vaginais medicamentosos).

Elaborado por: Regina Torre
Data: 03/05/2022

Revisto: José Catita
Data: 03/05/2022

Aprovado por: José Paulo Silva
Data: 03/05/2022

1.3. N/A

2. Sistema de Gestão da Qualidade

2.1. Sistema de Gestão da Qualidade

O sistema de Gestão da Qualidade está estabelecido, documentado e aplicado desde 2010, está acreditado pela norma NP EN ISO 9001:2015 – Sistema de Gestão da Qualidade. Requisitos. Antes de 2015, a acreditação tinha como referencial a NP EN ISO 9001:2008 (vide anexo 10).

A Direção da empresa é responsável pela implementação da política de qualidade, tendo nomeado como Diretor da Qualidade a Eng^a Luísa Cruz (luisa.cruz@paralab.pt; 224664320).

Este sistema é avaliado através da recolha, medição e análise de informação externa (satisfação do cliente, reclamações e auditorias externas) e interna (não conformidades, indicadores de desempenho dos processos, auditorias internas e satisfação dos colaboradores) de forma a lançar as necessárias ações de correção, corretivas e identificar oportunidades de melhoria. Periodicamente o Sistema é auditado internamente e externamente pela entidade certificadora (Apcer).

A PARALAB é certificada no âmbito das seguintes atividades: desenvolvimento, comercialização, instalação e manutenção de equipamentos industriais e de laboratório assim como fornecimento de consumíveis, peças e serviços complementares.

2.2. N/A

Elaborado por: Regina Torre
Data: 03/05/2022

Revisto: José Catita
Data: 03/05/2022

Aprovado por: José Paulo Silva
Data: 03/05/2022

2.3. Gestão de fornecedores e subcontratados

De acordo com a ISO 9001:2015, a PARALAB estabelece e aplica critérios para a avaliação, seleção, monitorização do desempenho e reavaliação de fornecedores externos com base na respetiva capacidade para fornecer produtos e serviços de acordo com requisitos. Os fornecedores são categorizados e classificados constando esta informação na Ficha de cada fornecedor (Software de gestão/ERP).

Nesse sentido existem Instruções de Trabalho para Receção do produto e avaliação de fornecedores (Anexo 9)

2.4. Gestão do Risco da Qualidade

A PARALAB planeia e implementa ações para tratar os riscos e as oportunidades para aumentar a eficácia do sistema de gestão da qualidade, obter melhores resultados e prevenir efeitos negativos. Nesse sentido, recolhem-se periodicamente informações provenientes de inquéritos de satisfação de clientes, fornecedores e colaboradores, dos indicadores de monitorização dos processos, das reuniões da qualidade, das auditorias internas e externas. Adicionalmente a Paralab considera os desvios, os resultados fora de especificação e as reclamações. Os riscos são identificados e procede-se à sua análise recorrendo às seguintes ferramentas: diagramas de espinha de peixe (diagrama de Ishikawa), análise SWOT e análise FMEA - *Failure Mode effects Analysis*. De seguida os dados são avaliados e categorizados em risco elevado, médio ou fraco. Consequentemente são definidas ações para: Evitar o risco, Assumir o risco para seguir uma oportunidade, Eliminar a fonte de risco, Alterar a probabilidade ou consequências, e Partilhar o risco ou manter o risco através de uma decisão informada, e Adoção de novas práticas.

Elaborado por: Regina Torre
Data: 03/05/2022

Revisto: José Catita
Data: 03/05/2022

Aprovado por: José Paulo Silva
Data: 03/05/2022

Site Master File

Revisão Nº 03

Pág. 7 de 19

Este sistema de gestão de risco existente no âmbito do sistema de gestão da qualidade, abrange todas as áreas da Paralab, incluindo o laboratório de controlo de qualidade. A Administração/direção é diretamente incluída ou informada durante as reuniões do SGQ ou por e-mail se justificável.

Os riscos associados à realização de análises instrumentais são considerados minimizados com as seguintes atividades: qualificação dos equipamentos, qualificação de armazenamento levando em consideração as condições climáticas exigidas, validação dos procedimentos analíticos e limpeza, qualificação de fornecedores e contratação de pessoal qualificado.

O sistema de gestão do risco é da responsabilidade de vários intervenientes nomeadamente: Diretor da Qualidade, Gestor de Processo, Coordenador de Análises Formação e Consultadoria, Diretor Técnico e Diretor Técnico GMP (*Qualified Person*).

2.5. N/A

Elaborado por: Regina Torre
Data: 03/05/2022

Revisto: José Catita
Data: 03/05/2022

Aprovado por: José Paulo Silva
Data: 03/05/2022

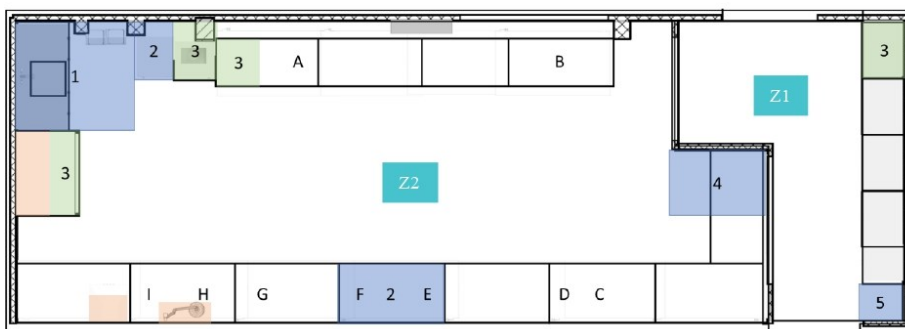
3. Colaboradores e Estrutura Organizacional

Cada função e respetivas competências estão descritas no Organigrama e documento de competências (Anexo 5A e anexo 5B).

4. Instalações e Equipamentos

4.1. Instalações

O laboratório do Serviço de Análises (SA) encontra-se no rés-do-chão das instalações da PARALAB, e pode ser dividido em dois espaços distintos. O espaço Z1 (15m²), onde se encontram os armários exteriores e o espaço Z2 (50m²), que corresponde à área principal do laboratório. Na figura está representado um esquema com a indicação destes espaços.



Site Master File

Revisão Nº 03

Pág. 9 de 19

Assim, o espaço Z1 é um local de apoio ao laboratório, onde se encontram os Armários Exteriores (AE) onde são armazenados os stocks de material, alguns padrões, os acessórios de equipamentos e material informático pertencente ao laboratório.

O espaço Z2 está dividido em diferentes áreas:

- Área 1: Zona de lavagens de material;
- Área 2: Armazenamento de amostras (à temperatura ambiente e refrigeradas);
- Área 3: Armazenamento de reagentes;
- Área 4: Zona de pesagens;
- Área 5: Armazenamento de EPI's.

Os equipamentos de âmbito GMP estão identificados com letras:

- Equipamento A: Microscópio Eletrónico de Varrimento
- Equipamento B: Difração de Raio X
- Equipamento C: Calorímetro diferencial de varrimento
- Equipamento D: Análise Térmica
- Equipamento E: Analisador de Azoto
- Equipamento F: Analisador Elementar
- Equipamento G: Reómetro
- Equipamento H: Granulómetro de difração laser
- Equipamento I: Granulómetro DLS

O serviço a desenvolver no âmbito do Capítulo 6 - Controlo de Qualidade, da Parte I Volume 4 das Boas Práticas de Fabrico (Eudralex) decorrerá nas instalações laboratoriais acima descritas e nas restantes instalações da PARALAB para utilização de gabinetes, sala de reuniões, e áreas comuns (sanitárias, cozinha, receção).

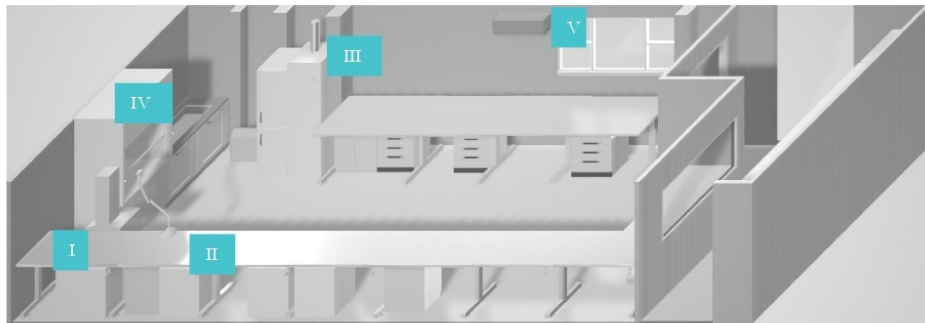
Elaborado por: Regina Torre
Data: 03/05/2022

Revisto: José Catita
Data: 03/05/2022

Aprovado por: José Paulo Silva
Data: 03/05/2022

4.1.1. Sistemas HVAC

O laboratório está equipado com vários sistemas de Extração, nomeadamente um extrator fixo (I), um extrator com braço articulado (II), um sistema de extração para armário de reagentes (III) e uma Hotte (IV). Possui um sistema de ar condicionado (V) que permite um aquecimento, arrefecimento e recirculação de ar no laboratório e sistema de registo de temperatura e humidade.



O tipo de análises realizado pelo SA da Paralab não pressupõe até à data necessidade de controlo de temperatura e humidade. Os intervalos de temperatura considerados adequados são os seguintes (Intervalos para períodos de laboração e não laboração):

Laboratório, temperatura confortável de trabalho $15-25\pm 2^{\circ}\text{C}$. Humidade $30-65\pm 5\%$.

Frigorífico, armazenamento de amostras com necessidade de refrigeração $2-8\pm 2^{\circ}\text{C}$. Humidade $35-75\pm 5\%$.

Armário de reagentes, no local de armazenagem dos reagentes $15-25\pm 2^{\circ}\text{C}$. Humidade $30-65\pm 5\%$.

Armário de Amostras AO2, armário onde ficam as amostras armazenadas até o seu registo $15-25\pm 2^{\circ}\text{C}$. Humidade $30-65\pm 5\%$.

Elaborado por: Regina Torre
Data: 03/05/2022

Revisto: José Catita
Data: 03/05/2022

Aprovado por: José Paulo Silva
Data: 03/05/2022

4.1.2. Sistemas de Água

O SA da Paralab não dispõe de sistemas de produção de água, uma vez que a generalidade das análises efetuadas não pressupõe a utilização de reagentes aquosos. Adquire externamente água destilada, e quando necessário, água de qualidade específica. Sempre que é necessário a aquisição da mesma a fornecedor é seguida a “IT58 - Serviço de Análises – Monitorização do Sistema de água”.

4.1.3. Outros

Estão disponíveis vários gases, nomeadamente: Acetileno, Ar, Árgon, Azoto, Hélio, Hidrogénio, Oxigénio e P10 (Mistura de Ar/CH₄).

4.2. Equipamentos

4.2.1. Lista de Equipamentos

O laboratório possui todos os equipamentos necessários para a realização das análises que se executam. Todos os equipamentos (não inclui material geral de laboratório) e os seus principais constituintes estão apresentados em anexo 8.

Para todos os equipamentos existem procedimentos predefinidos para a sua instalação (IQ), qualificação (OQ), utilização e verificação periódica. Estas operações, tal como as manutenções, as intervenções corretivas e o planeamento de qualificação/verificação estão devidamente registadas em documentos internos (vide ponto 7).

4.2.2. Limpeza e higienização

A limpeza e higienização do laboratório são asseguradas pelo Assistente Limpeza e Manutenção e pelo analista previamente formados para desempenharem as funções atribuídas a cada um.

Elaborado por: Regina Torre
Data: 03/05/2022

Revisto: José Catita
Data: 03/05/2022

Aprovado por: José Paulo Silva
Data: 03/05/2022

O plano de limpeza e o responsável atribuído estão descritos na “IT60 - Serviço de análises - Limpeza do Laboratório”.

4.2.3. Sistemas informatizados de gestão

Os dois softwares mais importantes na gestão do laboratório são o PHC (Software de gestão/ERP) e o Microsoft 365, para os quais todos os acessos são regulados por perfis de utilizador com diferentes níveis de acesso e palavras-passe.

O sistema informático é constituído por 3 módulos, devidamente validados e distintos: Cópia de Segurança dos Dados em Bruto, Documentos do Site SharePoint “Analysis” e Aplicação (App) de Monitorização do Laboratório, tal como descrito em “Gestão dos Sistemas Informáticos”.

Não são utilizados registos em papel, exceto nos cadernos de laboratório, que estão devidamente identificados. Os dados obtidos em cada equipamento são guardados e avaliados utilizando o respetivo software específico. Todos os equipamentos estão ligados a uma rede sendo o arquivo de dados em bruto definido numa Instrução de Trabalho (vide ponto 7).

No laboratório os computadores são utilizados como soluções complementares, principalmente para controlar equipamentos e para avaliar/tratar os resultados das análises. A gestão de substâncias de referência, produtos químicos, reagentes e soluções-padrão é feita utilizando as aplicações disponíveis na Microsoft Power Apps.

Elaborado por: Regina Torre
Data: 03/05/2022

Revisto: José Catita
Data: 03/05/2022

Aprovado por: José Paulo Silva
Data: 03/05/2022

5. Documentação

A estrutura documental interna da PARALAB é a referida na seguinte figura.



A documentação da PARALAB é maioritariamente eletrónica estando suportada no sistema de gestão PHC e integrada em cada um dos processos do SGQ. Existe documentação também disponibilizada em rede, como é o caso dos manuais da qualidade, das boas práticas de laboratório, de acolhimento entre outros, procedimentos de operação de equipamentos e auxiliares, instruções de trabalho e outros, respeitando o regulamento geral sobre proteção de dados.

Todos os relatórios de análises e os dados obtidos nestas são também arquivados eletronicamente em pastas com acesso controlado.

6. Produção

6.1. Tipo de Produtos

Os produtos aos quais se prevê a realização de ensaios de controlo de qualidade estão descritos no ponto 1.2: Atividades de fabrico solicitadas.

Elaborado por: Regina Torre
Data: 03/05/2022

Revisto: José Catita
Data: 03/05/2022

Aprovado por: José Paulo Silva
Data: 03/05/2022

6.2. Processo de Validação

Como descrito no “Plano Mestre de Validação”, os métodos analíticos, bem como a sua validação, são da responsabilidade do contratante da Paralab. Contudo, deverá realizar-se um procedimento analítico de transferência, também referido como transferência de método, que qualifique o laboratório da Paralab (a unidade recetora) para utilizar um procedimento analítico que teve origem noutra laboratório (a unidade transferidora), assegurando assim que a unidade recetora tenha os conhecimentos processuais e a capacidade para realizar o procedimento analítico transferido como pretendido. O tipo de transferência será decidido e delineado em conjunto com a unidade transferidora sendo elaborado o relatório de transferência. O procedimento de transferência analítica será apenso ao contrato de análises celebrado.

6.3. N/A

7. Controlo de Qualidade (CQ)

Os processos de controlo de qualidade são regulados sob a forma de Instruções de Trabalho, Procedimentos Operacionais de Equipamentos e Procedimentos Auxiliares, nomeadamente:

- a) documentos de gestão

Manual Boas Práticas Laboratoriais

Manual de Segurança do Laboratório

Relatório de Não Conformidade

Folha de Controlo - Reagentes

Elaborado por: Regina Torre
Data: 03/05/2022

Revisto: José Catita
Data: 03/05/2022

Aprovado por: José Paulo Silva
Data: 03/05/2022

Site Master File

Revisão Nº 03

Pág. 15 de 19

Folha de Controlo - Material de Laboratório e outros
INDEX ISO, EN, IEC, ASTM e FP
Registo - Amostras de Controlo (QC)
Logbook de Equipamento
Planeamento de Qualificações e Verificações
Checklist de verificação do relatório de análises
 b) instruções de trabalho
Receção de amostras
Processamento de amostras
Registo de amostras
Acondicionamento e identificação de Reagentes e Padrões
Armazenamento dos dados em bruto
Comunicação e Arquivo dos Resultados Finais
Eliminação dos resíduos
Manutenção do inventário
Níveis de Acesso aos documentos eletrónicos
Planeamento das Análises
Preparação de soluções
Rastreamento das Condições Ambientais
Registos no Caderno de Laboratório
Verificação dos Equipamentos
Backup Diário do Servidor
Amostras de Uso Interno
 c) procedimentos operacionais de equipamentos
POE - Density Meter DDM 2911
POE - Elementar rapid MAX N Exceed

Elaborado por: Regina Torre
Data: 03/05/2022

Revisto: José Catita
Data: 03/05/2022

Aprovado por: José Paulo Silva
Data: 03/05/2022

Site Master File

Revisão Nº 03

Pág. 16 de 19

POE - Elementar VarioMACRO
POE - Elementar VarioTOC
POE – NETZSCH Kinexus - Reómetro
POE - Malvern MasterSizer 3000
POE - Malvern ZetaSizer nano ZS
POE - NETZSCH DSC 204 F1 Phoenix
POE - NETZSCH STA 449 Jupiter
POE - Optika B500
POE - Refratrometro J457- Rudolph
POE - Rigaku MiniFlex 600
POE - Rigaku Supermini 200
POE - SEM PHENOM PRO X
POE – Espectrofotómetro de Absorção Atómica GBC
POE – Microviscosímetro Rheosense micro Visc
POE - Microviscosímetro Rheosense m-VROC
POE – Viscosímetro Lamy Rheology
POE – Tensiometro Biolin Atension Theta flex
d) procedimentos auxiliares
Verificação das balanças
Verificação das micropipetas
e) folhas de controlo
Folha de controlo Micropipetas
Folha de controlo Rudolph Density Meter DDM 2911
Folha de controlo Rudolph J457 - Refractómetro

Elaborado por: Regina Torre
Data: 03/05/2022

Revisto: José Catita
Data: 03/05/2022

Aprovado por: José Paulo Silva
Data: 03/05/2022

Site Master File

Revisão Nº 03

Pág. 17 de 19

Os documentos contendo instruções estão sujeitos a um ciclo de aprovação e distribuição.

As especificações dos métodos de análise são definidas pelo cliente.

Os resultados das análises laboratoriais são incluídos no respetivo relatório de análise, o qual é verificado segundo a Instrução de trabalho (Checklist de verificação do relatório de análises) e revisto pelo Diretor Técnico GMP.

As análises são realizadas utilizando equipamento qualificado, para o qual a operação, limpeza, manutenção, verificação da função e a calibração são definidas nos planeamentos de verificação e qualificação, e nos procedimentos operacionais de equipamentos.

São realizados, entre outros, os seguintes procedimentos de análise:

medição da densidade, determinação da viscosidade, granulometria, difração de raio-X de pós, análise térmica.

O sistema de documentação é gerido através do "P01 - Procedimento de Gestão Documental (de acordo com o sistema SGQ)" e "P02 - Procedimento de Gestão Documental do Laboratório".

8. Distribuição, reclamações, defeitos de produto e devoluções

8.1. N/A

8.2. Reclamações, defeitos de produto e devoluções

Elaborado por: Regina Torre
Data: 03/05/2022

Revisto: José Catita
Data: 03/05/2022

Aprovado por: José Paulo Silva
Data: 03/05/2022

A gestão eficaz das reclamações de clientes é uma parte essencial de qualquer sistema de gestão de qualidade. A gestão das reclamações é assegurada pelo sistema de Gestão da Qualidade, acreditado pela norma NP EN ISO 9001:2015.

O procedimento a adotar aquando da receção de uma reclamação está descrito na "IT57 – Reclamações/Não conformidades".

9. Auditoria Interna

A auditoria interna é realizada a todas as atividades que têm influência no cumprimento dos requisitos do âmbito do SGQ incluindo as análises laboratoriais.

Relativamente às áreas de auditoria previstas nas BPF como a Gestão documental, Instalações/Equipamentos, registo e preparação da amostra, procedimentos de ensaio, relatórios de ensaio, arquivo e reclamações; realiza-se inspeção periódica.

A periodicidade e ensaios a auditar são definidos no Plano de Ações e Melhoria no âmbito do SGQ.

Elaborado por: Regina Torre
Data: 03/05/2022

Revisto: José Catita
Data: 03/05/2022

Aprovado por: José Paulo Silva
Data: 03/05/2022

Site Master File

Revisão Nº 03

Pág. 19 de 19

Revisões

Rev. Nº	Descrição	Data
01	Inclusão das ferramentas de risco utilizadas no ponto 2.4. Gestão do Risco da Qualidade	24-02-2022
02	Inclusão dos pontos: 4.1.2. Sistemas de Água. 4.2.2. Limpeza e higienização 6.1. Tipo de Produtos 6.2. Processo de Validação Revisão dos pontos: 4.2.3. Sistemas informatizados de gestão	11-03-2022
03	Revisão do ponto 4.1.1 Sistemas HVAC	03-05-2022

Elaborado por (Regina Torre): Regina Torre

Revisto por (José Catita): José Catita

Aprovado por (José Paulo Silva): José Paulo Cabral de Sousa e Silva

Elaborado por: Regina Torre
 Data: 03/05/2022

Revisto: José Catita
 Data: 03/05/2022

Aprovado por: José Paulo Silva
 Data: 03/05/2022

6. Bibliografia

Barbosa, L. C. F. M., de Oliveira, O. J., Machado, M. C., Morais, A. C. T., Bozola, P. M., & Santos, M. G. F. (2022). Lessons learned from quality management system ISO 9001: 2015 certification: practices and barrier identification from Brazilian industrial companies. *Benchmarking: An International Journal*, **29**(8), 2593-2614. doi.org/10.1108/BIJ-07-2021-0382

Blumberg, L. M. (2021). Chapter 2 – Theory of gas chromatography. *Gas Chromatography*. Poole, C. (Ed.). 2^a Ed. Elsevier.

Branch, S. K. (2005). Guidelines from the international conference on harmonisation (ICH). *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, **38**(5), 798-805. doi.org/10.1016/j.jpba.2005.02.037

CDER. (1994). *Reviewer Guidance Validation of Chromatographic Methods*. Center for Drug Evaluation and Research.

Christian, G. D., Dasgupta, P., Schug, K. (2013). *Analytical Chemistry*. 7^a Ed. John Wiley & Sons.

Doltade, M., Saudagar, R. (2019). The Analytical Method Development and Validation: A Review. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, **9**(3), 563-570.

Ermer, J., Limberger, M., Lis, K., & Wätzig, H. (2013). The transfer of analytical procedures. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **85**, 262-276. doi.org/10.1016/j.jpba.2013.07.009

European Commission. (2010). Explanatory Notes on the preparation of a Site Master File. *EudraLex Volume 4 - EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use*, Brussels.

European Commission. (2011a). Chapter 4: Documentation. *EudraLex Volume 4 - EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use*, Brussels.

European Commission. (2011b). Introduction. *EudraLex - EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use*, Brussels.

European Commission. (2013a). Chapter 1: Pharmaceutical Quality System. *EudraLex Volume 4 - EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use*, Brussels.

European Commission. (2013b). Chapter 7: Outsourced Activities. *EudraLex Volume 4 - EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use*, Brussels.

European Commission. (2014a). Basic Requirements for Active Substances used as Starting Materials. *EudraLex Volume 4 - EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use*, Brussels.

European Commission. (2014b). Chapter 2: Personnel. *EudraLex Volume 4 - EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use*, Brussels.

European Commission. (2014c). Chapter 6: Quality Control. *EudraLex Volume 4 - EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use*, Brussels.

European Commission. (2015a). Annex 15: Qualification and Validation. *EudraLex Volume 4 - EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use*, Brussels.

European Commission. (2015b). Chapter 3: Premises and Equipment. *EudraLex Volume 4 - EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use*, Brussels.

European Commission. (2015c). Chapter 5: Production. *EudraLex Volume 4 - EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use*, Brussels.

European Commission. (2015d). Chapter 8: Complaints, Quality Defects and Product Recalls. *EudraLex Volume 4 - EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use*, Brussels.

European Commission. (n.d.). Chapter 9: Self Inspection. *EudraLex Volume 4 - EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use*, Brussels.

European Pharmacopoeia. 10.0. (2019a). 2.2.28 - *Gas Chromatography*, pp. 44-46.

European Pharmacopoeia. 10.0. (2019b). 2.9.10 – *Ethanol Content*, pp. 339-342.

European Pharmacopoeia. 7.0. (2010) 2.2.46 - *Chromatographic Separation techniques*, pp. 70-77.

FDA. (2015). *Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics - Guidance for*

Industry. Food and Drug Administration. United States Department of Health & Human.

Fonseca, L., Domingues, J. P. (2017). ISO 9001: 2015 edition-management, quality and value. *International journal of quality research*, **1**(11), 149-158. doi.org/10.18421/IJQR11.01-09

Fonseca, L., Domingues, J. P., Machado, P. B., Harder, D. (2019). ISO 9001: 2015 adoption: A multi-country empirical research. *Journal of Industrial Engineering and Management*, **12**(1), 27-50. doi.org/10.3926/jiem.2745

Galetto, M., Franceschini, F., Mastrogiacomo, L. (2017). ISO 9001 certification and corporate performance of Italian companies. *International Journal of Quality & Reliability Management*. **34**(2), 231-250. doi.org/10.1108/IJQRM-04-2015-0064

González, A. G., & Herrador, M. Á. (2007). A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **26**(3), 227-238. doi.org/10.1016/j.trac.2007.01.009

Haleem, R. M., Salem, M. Y., Fatahallah, F. A., Abdelfattah, L. E. (2015). Quality in the pharmaceutical industry – A literature review. *Saudi pharmaceutical journal*, **23**(5), 463-469. doi.org/10.1016/j.jsps.2013.11.004

ICH. (2005). Validation of analytical procedures Q2(R1). *Harmonised Tripartite Guideline*. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use.

ICH. (2022). Analytical Procedure Development Q14 Step 2b. *Harmonised Tripartite Guideline*. International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use.

ICH. (2023a). *ICH Guidelines*. Acedido em 2 de junho de 2023 em www.ich.org/page/ich-guidelines

ICH. (2023b). *Mission*. Acedido em 2 de junho de 2023 em www.ich.org/page/mission

ISO 9000. (2015). ISO. Quality management systems — *Fundamentals and vocabulary*. International Organization for Standardization. Geneva.

ISO 9001. (2015). ISO. Quality management systems — *Requirements*. International Organization for Standardization. Geneva.

ISO. (2016). *Selection and Use of the ISO 9000 Family of Standards*. International Organization for

Standardization. Geneva.

ISO. (2023a). *About Us*. Acedido a 8 de junho de 2023 em www.iso.org/about-us.html

ISO. (2023b). *Standards*. Acedido a 8 de junho de 2023 em www.iso.org/standards.html

ISO. (2023c). *Benefits of Standards*. Acedido a 8 de junho de 2023 em www.iso.org/benefits-of-standards.html

Kalra, K. (2011). Method Development and Validation of Analytical Procedures. *Quality Control of Herbal Medicines and Related Areas*. Yukihiro Shoyama (Ed.), InTechOpen.

Kolb, B., & Ettre, L. S. (2006). *Static Headspace-Gas Chromatography: Theory and Practice*. 2ª Ed. John Wiley & Sons.

Lakka N. S., Kuppan, C. (2019). Principles of Chromatography Method Development. *Biochemical Analysis Tools - Methods for Bio-Molecules Studies*. Boldura, O.-M., Baltă, C., Sayed Awwad, N. (Eds.), InTechOpen.

Ligiero, C. B. P., Reis, L. A. D., Parrilha, G. L., Baptista Filho, M., & Canela, M. C. (2009). Comparação entre métodos de quantificação em cromatografia gasosa: um experimento para cursos de química. *Química Nova*, **32**, 1338-1341. doi.org/10.1590/S0100-40422009000500043

Losada-Urzáiz, F., González-Gaya, C., Sebastián-Pérez, M. A. (2015). Metrological regulations for quality control equipment calibration in pharmaceutical industry. *Procedia engineering*, **132**, 811-815. doi.org/10.1016/j.proeng.2015.12.564

Lundanes, E., Reubsæet, L., Greibrokk, T. (2013). *Chromatography: basic principles, sample preparations and related methods*. 1ª Ed. John Wiley & Sons.

Paralab. (2023). *Paralab*. Acedido em 2 de junho de 2023 em www.paralab.pt/

Pierce, K., Trinklein, T., Nadeau, J., Synovec, R. (2021). Chapter 20 – Data analysis methods for gas chromatography. *Gas Chromatography*. Poole, C. (Ed.). 2ª Ed. Elsevier.

Poli, M., Petroni, D., Pardini, S., Salvadori, P. A., Menichetti, L. (2012). Implementation of a quality assurance system according to GMP and ISO 9001: 2008 standard for radiopharmaceutical production in a public research centre. *Accreditation and Quality Assurance*, **17**, 341-348. doi.org/10.1007/s00769-

012-0877-3

Poole, C. (2021). Chapter 12 – Conventional detectors for gas chromatography. *Gas Chromatography*. Poole, C. (Ed.). 2ª Ed. Elsevier.

Relacre. (2000). *Guia RELACRE 13 - Validação de Métodos Internos de Ensaio em Análise Química*. Relacre, Lisboa.

Sithersingh, M., Snow, N. (2021). Chapter 9 – Headspace Gas Chromatography. *Gas Chromatography*. Poole, C. (Ed.). 2ª Ed. Elsevier.

Sours, R. E., Bezabeh, D. Z. (2021). A Static Headspace GC–MS Method for the Determination of Ethanol in Solid or semi-solid Consumer Goods. *Food Analytical Methods*, **14**(12), 2569-2575. doi.org/10.1007/s12161-021-02090-5

Tipler, A. (2021). Chapter 8 - Sample Introduction Methods. *Gas Chromatography*. Poole, C. (Ed.). 2ª Ed. Elsevier.

USP. (2016a). <1058> *Analytical Instrument Qualification*. United States Pharmacopeia 39 -National Forum 34, Rockville, MD.

USP. (2016b). <1225> *Validation of Compendial Procedures*. United States Pharmacopeia 39 - National Forum 34, Rockville, MD.

USP. (2017a) <1224> *Transfer of Analytical Procedures*. United States Pharmacopeia 40 - National Forum 35. Rockville, MD.

USP. (2017b). <621> *Chromatography*. United States Pharmacopeia 40 - National Forum 35, Rockville, MD.

WHO. (2011). *Annex 7 - WHO guidelines on transfer of technology in pharmaceutical manufacturing*. Technical Report Series, No. 961. World Health Organization. Geneva.

WHO. (2019). *WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: fifty-third report*. World Health Organization. Geneva.

Woolfenden, E. (2021). Chapter 10 – Thermal Desorption for Gas Chromatography. *Gas Chromatography*. Poole, C. (Ed.). 2ª Ed. Elsevier.