

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
Curso de Graduação em Farmácia-Bioquímica**

**AVALIAÇÃO DA INCERTEZA DA AMOSTRAGEM E ANALÍTICA NA  
DETERMINAÇÃO DE PARTÍCULAS EM SOLUÇÕES INJETÁVEIS**

**Matheus Bergamini Silva**

Trabalho de Conclusão do Curso de  
Farmácia-Bioquímica da Faculdade de  
Ciências Farmacêuticas da  
Universidade de São Paulo.

Orientador(a):  
Prof. Dr Felipe Rebello Lourenço

São Paulo

2023

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS.....</b>	<b>2</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>3</b>
<b>LISTA DE GRÁFICOS.....</b>	<b>4</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>5</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>7</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>9</b>
1.1. A incerteza da medição.....	9
1.2. Modelo estatístico para a determinação empírica da incerteza.....	10
1.3. Determinação de partículas em soluções injetáveis.....	13
1.4. Especificação farmacopéica.....	14
1.5. Justificativa.....	14
<b>2. OBJETIVO(S).....</b>	<b>16</b>
2.1. Objetivo geral.....	16
2.2. Objetivos específicos.....	16
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>17</b>
3.1. Amostras utilizadas.....	17
3.2. Método.....	18
3.3. Avaliação estatística.....	19
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>22</b>
4.1. Número de partículas das soluções injetáveis.....	22
4.2. Modelo de variabilidade.....	27
4.3. Contribuições das incertezas analíticas e da amostragem.....	28
4.4. Estudo com a distribuição de Poisson.....	33
4.5. Análise de intervalos de confiança.....	37
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>41</b>
<b>6. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>43</b>
<b>7. ANEXOS.....</b>	<b>46</b>

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ANOVA	Análise de Variância
USP	United States Pharmacopeia
ISO	International Organization for Standardization
NBR	Norma Brasileira

## **LISTA DE FIGURAS**

Figura 1 - Estimativa empírica da incerteza por método de design balanceado. ....13

Figura 2 - Equipamento APSS-2000 e Software SamplerSight. .....14

## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Gráfico de contribuição da variabilidade da amostragem (uSAMP), analítica (uANAL) e soma das incertezas da amostragem e analítica (uMEAS), conforme o cenário A (i=1; n=1).	30
.....	30
Gráfico 2 - Gráfico de contribuição da variabilidade da amostragem (uSAMP), analítica (uANAL) e soma das incertezas da amostragem e analítica, conforme o cenário B (i=3; n=1).	31
.....	31
Gráfico 3 - Gráfico de contribuição da variabilidade da amostragem (uSAMP), analítica (uANAL) e soma das incertezas da amostragem e analítica, conforme o cenário C (i=3; n=10).	32
.....	32
Gráfico 4 - Gráfico de contribuição da variabilidade da amostragem (uSAMP), analítica (uANAL) e soma das incertezas da amostragem e analítica, conforme o cenário D (i=1; n=10).	33
.....	33
Gráfico 5 - Gráfico de contribuição da variabilidade da amostragem (uSAMP), analítica (uANAL) e soma das incertezas da amostragem e analítica, conforme o cenário E (i=2; n=2).	34
.....	34
Gráfico 6 - Gráfico de IC95% por Count, conforme o cenário A ( i=1; n=1).	39
Gráfico 7 - Gráfico de IC95% por Count, conforme o cenário C ( i=3; n=10).	40
Gráfico 8 - Gráfico de probabilidade do risco do consumidor e do fabricante a partir dos cenários A e C.	41

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Exemplos de fontes de incerteza de amostragem e incerteza analítica.	11
Tabela 2 - Número máximo de partículas $\geq 10$ e $25 \mu\text{m}$ permitido pelo Método de Obscurecimento da Luz em recipiente com volume de 100 mL.....	15
Tabela 3 - Medicamentos analisados com suas respectivas formulações, apresentação da forma farmacêutica e número de unidades analisadas, amostragem, análise e total de medições por medicamento.	18
Tabela 4 - Cenários utilizados para estudo de diferentes níveis de incerteza, considerando o número de determinações e número de frascos. ....	21
Tabela 5 - Estudo para contagem de partículas para estudo de distribuição de Poisson. ....	22
Tabela 6 - Número de partículas maiores a 10 e $25 \mu\text{m}$ presentes nas amostras de metronidazol de volume testado. ....	24
Tabela 7 - Número de partículas maiores a 10 e $25 \mu\text{m}$ presentes nas amostras de ciprofloxacino volume testado. ....	25
Tabela 8 - Número de partículas maiores a 10 e $25 \mu\text{m}$ presentes nas amostras de metronidazol de volume de amostra corrigida. ....	26
Tabela 9 - Número de partículas maiores a 10 e $25 \mu\text{m}$ presentes nas amostras de Ciprofloxacino de volume de amostra corrigida. ....	27
Tabela 10 - Resumo dos resultados de análise de variância (ANOVA) para determinação da variabilidade entre os alvos de amostragem ( $S_T$ ), entre as amostras ( $S_S$ ), entre as análises ( $S_A$ ) e a incerteza combinada ( $u$ ). ....	28
Tabela 11 - Estudo do cenário A conforme distribuição de Poisson log-normal para determinação da variância, intervalo de confiança superior e inferior (IC95%I e IC95%S) e risco de limites de 10 $\mu\text{m}$ e 25 $\mu\text{m}$ . ....	35
Tabela 12 - Estudo do cenário B conforme distribuição de Poisson log-normal para determinação da variância, intervalo de confiança superior e inferior (IC95%I e IC95%S) e risco de limites de 10 $\mu\text{m}$ e 25 $\mu\text{m}$ . ....	36

Tabela 13 - Estudo do cenário C conforme distribuição de Poisson log-normal para determinação da variância, intervalo de confiança superior e inferior (IC95%I e IC95%S) e risco de limites de 10 $\mu\text{m}$ e 25 $\mu\text{m}$ . ....	36
Tabela 14 - Estudo do cenário D conforme distribuição de Poisson log-normal para determinação da variância, intervalo de confiança superior e inferior (IC95%I e IC95%S) e risco de limites de 10 $\mu\text{m}$ e 25 $\mu\text{m}$ . ....	37
Tabela 15 - Estudo do cenário E conforme distribuição de Poisson log-normal para determinação da variância, intervalo de confiança superior e inferior (IC95%I e IC95%S) e risco de limites de 10 $\mu\text{m}$ e 25 $\mu\text{m}$ . ....	37

## RESUMO

**SILVA, M. B. Avaliação da Incerteza da Amostragem e Analítica na Determinação de Partículas em Soluções Injetáveis.** 2023. 47. f. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Palavras-chave: Incerteza da amostragem, Incerteza analítica, Material particulado.

A determinação da quantidade de partículas em soluções injetáveis é uma etapa crítica para garantir a qualidade farmacêutica e a segurança do paciente. Partículas contaminantes podem representar sérios riscos à saúde. Portanto, é fundamental avaliar com precisão as incertezas associadas aos processos de amostragem e analítica nesse contexto. Este estudo se propõe a realizar a avaliação das incertezas inerentes ao processo de amostragem e de análise na quantificação de partículas ( $\geq 10$  e  $25 \mu\text{m}$ ), conforme preconizado pela Farmacopeia Brasileira de 2019. Para isso, o número de partículas foi contabilizado pelo equipamento APSS-2000 e SamplerSight Software em dois medicamentos injetáveis, sendo eles, metronidazol 500 mg/100 mL e ciprofloxacino 200 mg/100 mL. A partir das amostras disponíveis, foram selecionadas 10 unidades de cada medicamento, cada uma das unidades foi submetida em duas amostragens, com cada amostragem analisada em duplicata, totalizando quatro medições por unidade. O número de partículas foi determinado após a correção do volume, visando atender às especificações farmacopéicas. A análise de variância (ANOVA) foi empregada para avaliação da variabilidade entre as unidades de amostragem ( $S_T$ ), entre as amostras ( $S_S$ ), entre as análises ( $S_A$ ) e a incerteza combinada ( $u$ ). Em seguida, simulações foram conduzidas para gerar conjuntos de dados para distintos níveis de incerteza, considerando variações na quantidade de determinações e o número de frascos utilizados. Os resultados foram graficamente representados, evidenciando as incertezas relacionadas à amostragem, análise e incertezas totais em diferentes cenários, identificando as variabilidades mais influentes em cada contexto. Adicionalmente, a distribuição de Poisson foi empregada para modelar a variabilidade na contagem de partículas e estabelecer os limites de aceitabilidade com base na especificação. Por fim, um

modelo foi proposto para avaliar os riscos do consumidor e do produtor associados à liberação e reprovação de lotes não conformes. Este estudo enfatiza a importância fundamental de incorporar a avaliação das incertezas da amostragem e analítica em todos os processos de controle de qualidade de medicamentos injetáveis. Considerar esses fatores como elementos intrínsecos e interconectados do processo analítico é essencial para o aprimoramento da precisão e confiabilidade das análises e garantir que os produtos atendam as especificações e os padrões de qualidade especificados.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1. A incerteza da medição

A implementação de um sistema de qualidade em laboratórios físico-químicos é cada vez mais exigido nas indústrias farmacêuticas para a oferta de serviços especializados e que possam assegurar que os clientes encontrem produtos com qualidade, eficiência e dentro da especificação. Essa garantia da qualidade se fundamenta a partir de resultados analíticos, utilizados para estimar e atribuir qualidade aos materiais, produtos e compará-los com especificações farmacêuticas (BASQUES, 2016; SILVA e ARAÚJO, 2017; BUCHMANN e SARKIS, 2002). Em um sistema de qualidade os elementos mais importantes consistem na rastreabilidade que estabelece, segundo a ISO 9001:2015, a identificação do produto e o registro das atividades que possam afetar a qualidade do produto.

Outra norma exigida é a NBR ISO/IEC 17025, no qual estabelece a estimativa da incerteza associada nos resultados analíticos, elemento importante para a confiabilidade dos dados obtidos pelos laboratórios (KIYATAKA, 2006).

O termo de incerteza de medição, conforme guia de Incerteza da Eurachem (2019), define a incerteza da medição, como:

Parâmetro, associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão dos valores que podem ser fundamentalmente atribuídos a um mensurando.

As fontes de incerteza de medição nas análises químicas e farmacêuticas deriva de uma variedade de fontes que podem comprometer os resultados de medição, dentre elas incluem: amostragem, efeitos instrumentais (como, calibração do equipamento), variações ambientais, pureza dos materiais de referência, efeitos de matriz, entre outros (OLIVEIRA et. al, 2015; SEPAROVIC et. al, 2023). Conforme o Guia de Incerteza da Eurachem (2019), identificou oito categorias principais dos efeitos importantes na estimativa da incerteza, dentre elas o agrupamento em duas categorias: a “incerteza de amostragem” e “incerteza analítica”. Independentemente das categorias definidas neste guia, todas visam garantir que os efeitos na prática são contabilizados e devem ser considerados para estimar a incerteza.

Toda medição de um resultado analítico deve ser apresentada junto a sua incerteza de medição. O valor da incerteza como as informações sobre as condições

instrumentais e experimentais, contribuem para a qualidade da medição, pois permite a comparação de valores obtidos entre valores obtidos em outras metodologias, resultados fornecidos de laboratórios terceiros ou indicados em especificações e certificados de materiais de referência (OLIVEIRA e LEITE, 2019).

A incerteza de medição pode ser definida como associação entre a incerteza da amostragem e da incerteza proveniente do processo analítico. Ambos apresentam contribuições distintas (Tabela 1), sendo que o processo analítico representa um processo controlado e definido, enquanto a incerteza vinda da amostragem, muitas vezes não podem ser devidamente consideradas para o cálculo de incerteza de medição, pois devido ao grau de complexidade da característica da amostra e do procedimento adotado, torna-se difícil sua caracterização (OLIVEIRA e LEITE, 2019).

Tabela 1 - Exemplos de fontes de incerteza de amostragem e incerteza analítica

Incerteza da Amostragem	Incerteza Analítica
<ul style="list-style-type: none"><li>• Não homogeneidade da amostra</li><li>• Tamanho do número amostral</li><li>• Efeitos da estratégia de amostragem específica</li><li>• Efeitos do processo de amostragem na composição</li><li>• Transporte e preservação de amostra</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Calibração de equipamentos</li><li>• Precisão do equipamento</li><li>• Repetibilidade e reproduutividade</li></ul>

Fonte: EuroChem (2019)

Apesar da dificuldade na determinação da incerteza de amostragem no cálculo, segundo Oliveira e Leite (2019) ao menosprezar essa categoria pode-se perder a confiabilidade das informações obtidas pelo controle de qualidade, sendo assim, é fundamental que haja metodologias capazes de atender à incerteza de medição em todo o processo.

## 1.2. Modelo estatístico para a determinação empírica da incerteza

Os valores de uma população de dados se distinguem e se caracterizam devido às particularidades de sua medição, os resultados estão sempre associados

a uma incerteza, que por sua vez, ocorre devido à variabilidade de um fenômeno. A variabilidade é uma característica inerente aos conjuntos de dados, que consiste em variações que ocorrem entre os valores de uma variável sobre uma determinada medição (GUIMARÃES, 2008).

Para estimar a incerteza da amostragem e analítica foram determinadas estratégias por uma abordagem empírica através de um modelo estatístico que descreve a relação entre os valores medidos e os valores reais do experimento. Para isso, o guia Eurachem (2019) estabeleceu um modelo para as contribuições de cada uma das incertezas para uma determinada concentração de analito, no qual:

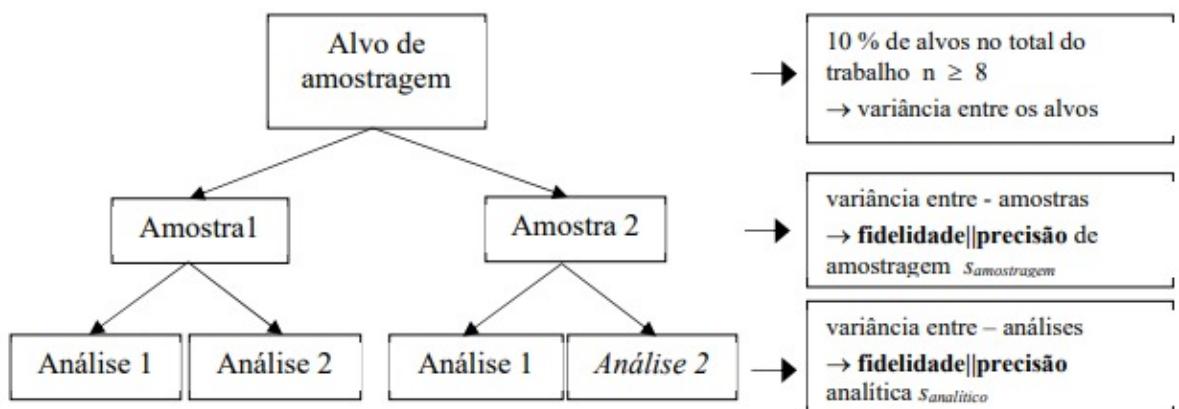
$$s_{med}^2 = s_{amostragem}^2 + s_{analitico}^2$$

Onde  $s_{med}^2$  é a variância da medição,  $s_{amostragem}^2$  é a variância entre as amostras e  $s_{analitico}^2$  é a variância entre análises de uma amostra. A incerteza padrão ( $u$ ) pode ser determinada por:

$$u = s_{med} = \sqrt{s_{amostragem}^2 + s_{analitico}^2} \quad (1)$$

O Guia Eurachem (2019) demonstra que existem quatro tipos de métodos para a estimativa empírica da incerteza, sendo o método de “duplicados” descrito como o método mais econômico. Este método baseia-se em um único técnico de amostragem e calcula-se a coleta de duplicatas de pelo menos oito duplicadas deste mesmo alvo. A partir dessas duplicatas (amostra 1 e amostra 2) promove mais duas análises (análise 1 e análise 2) para cada amostra duplicada, esta metodologia é denominada de “design balanceado” (Figura 1).

Figura 1 - Estimativa empírica da incerteza por método de design balanceado.



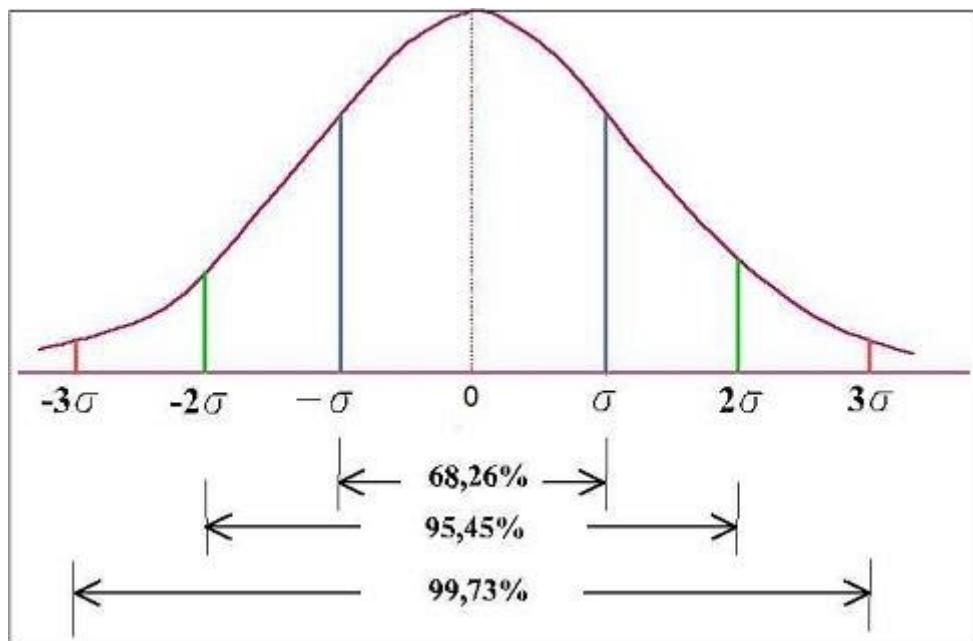
Fonte: Guia Eurachem (2019)

O entendimento dessa variabilidade é importante para a determinação e contribuições da incerteza da medição. Dentre os modelos estatísticos presentes, um teste utilizado no estudo dessa avaliação das incertezas é a análise de variância (ANOVA). Os valores da variância da amostragem ( $s_{amostragem}$ ) e analítica ( $s_{analitica}$ ) é calculada por meio da combinação dessas duas estimativas demonstradas na equação (1) (EURACHEM, 2019).

Portanto, a ANOVA é uma técnica estatística utilizada para comparar as médias de diferentes grupos. A ANOVA clássica pressupõe que os dados apresentam distribuição normal, ou seja, se aproxima de uma curva gaussiana clássica (Figura 2). Quando os dados apresentam distribuição assimétrica, a análise pode ser realizada com os dados em escala logarítmica (EURACHEM, 2019).

Desta forma, são necessárias calcular o fator de incerteza padrão ( $u$ ) e a incerteza expandida ( $U = k \times u$ , sendo  $k = 2$ ), a fim de estimar um resultado com uma confiança maior (EURACHEM, 2019).

Figura 2 - Curva da distribuição normal (ou curva gaussiana).



Fonte: FALAVIGNA et al, 2014.

### 1.3. Determinação de partículas em soluções injetáveis

Conforme descrito na Farmacopéia brasileira (2019) no tópico “5.1.7.1 Partículas Sub-Visíveis”, há uma exigência de limites máximos para a presença de partículas  $> 10 \mu\text{m}$  e  $> 25 \mu\text{m}$  em produtos injetáveis. Essas partículas podem ser de origem extrínseca ou intrínseca. As partículas de fonte extrínseca são definidas como partículas estranhas, que não fazem parte da formulação, embalagem ou processo de fabricação. Já as partículas de origem intrínseca são associadas à embalagem, formulação, processo de fabricação ou à instabilidade apresentada pelo medicamento ao longo do tempo, como a presença de sais de fármacos insolúveis ou a degradação da embalagem.

No setor farmacêutico, a produção de soluções injetáveis demanda atendimento a padrões de qualidade, pois é esperado que os medicamentos sejam eficazes, de alta pureza e sem presença de material particulado. A presença de material particulado em soluções injetáveis pode resultar em efeitos adversos como embolia pulmonar, granuloma pulmonar, disfunção do sistema imune e até a morte (COSTA, 2020; ISHIHARA, 2018).

Devido ao risco à saúde do paciente, as agências reguladoras determinam que todos os lotes de soluções injetáveis devam ser analisados quanto aos limites

de material particulado. A determinação de partículas em soluções injetáveis é realizada conforme Farmacopéia brasileira, que consiste de um contador de partículas eletrônico, sendo composta por um feixe de luz, no qual ao ser projetado na amostra resulta na determinação do tamanho da partícula ao obstruir o feixe de luz (ISHIHARA, 2018).

#### 1.4. Especificação farmacopéica

Conforme descrito na Farmacopéia brasileira (2019) no tópico “5.1.7.1 Partículas Sub-Visíveis”, soluções injetáveis com volume declarado igual ou menor que 100 mL cumprem com o teste se o número médio de partículas, com tamanho igual ou maior 10  $\mu\text{m}$ , presentes nas unidades testadas não exceda 6000 partículas por recipiente, enquanto o número de partículas com tamanho igual ou maior que 25  $\mu\text{m}$  não exceda 600 partículas por recipiente (Tabela 2).

Tabela 2 - Número máximo de partículas  $\geq 10$  e 25  $\mu\text{m}$  permitido pelo Método de Obscurecimento da Luz em recipiente com volume de 100 mL

<b>Tamanho da partícula</b>	<b>Recipiente com volume menor ou igual a 100 mL</b>
$\geq 10 \mu\text{m}$	6000 partículas/recipiente
$\geq 25 \mu\text{m}$	600 partículas/recipiente

Fonte: Farmacopéia brasileira (2019)

#### 1.5. Justificativa

A quantificação de partículas em soluções injetáveis é uma demanda crítica para a qualidade, garantindo sua segurança e eficácia do medicamento. A qualidade das soluções injetáveis é exigida devido à preocupação com possíveis efeitos adversos devido ao acesso diretamente à corrente sanguínea. A presença de partículas estranhas pode resultar na perda do fármaco e também um grave problema de saúde (SHARMA et al, 2009; PEREZ et al, 2016).

Essas partículas, ao entrar na corrente sanguínea, podem levar a deposição desses contaminantes nos órgãos e causar graves consequências para o paciente, tais como embolia pulmonar, síndrome de resposta inflamatória sistêmica, infarto, e que podem resultar em morte (ISHIHARA, 2018; PEREZ et al, 2016).

Para garantir a conformidade regulatória da solução injetável, é estabelecido em farmacopeia a quantificação dessas partículas. Na farmacopéia brasileira (2019) no tópico “5.1.7.1 Partículas Sub-Visíveis”, determinam os testes para a quantificação e suas especificações. Além desses padrões regulatórios e garantir a confiabilidade desses resultados, é fundamental uma avaliação da incerteza da amostragem e analítica.

O presente trabalho busca contribuir para a área farmacêutica na quantificação de partículas, fornecendo uma análise abrangente e sistemática das incertezas associadas à amostragem e analítica, garantindo que os dados analíticos apresentem confiabilidade e sejam capazes de atender as especificações estabelecidas. Além disso, o entendimento dessas incertezas permite a identificação de possíveis fontes de contaminação, possibilitando a melhoria dos processos.

Uma vez que as fontes de incerteza são identificadas e quantificadas, é possível calcular a incerteza expandida do resultado da medição, que representa a faixa de valores dentro da qual se espera que o valor real da contagem de partículas esteja com um certo nível de confiança, normalmente em um intervalo de confiança de 95%. A incerteza expandida pode ser usada para estabelecer os limites de decisão para os resultados da contagem de partículas e para comparar os resultados com os critérios de aceitação especificados na Farmacopéia brasileira (2019) no tópico “5.1.7.1 Partículas Sub-Visíveis”.

Desta forma, o uso de métodos estatísticos permite estimar a variabilidade dos resultados da análise e fornecer intervalos de confiança que indiquem a incerteza da quantificação da partícula na solução injetável. Este trabalho consolida uma melhoria contínua da qualidade dos produtos farmacêuticos, indicando um melhor aprofundamento na compreensão da incerteza da amostragem e analítica. Ao aplicar métodos apropriados para reduzir e estimar a incerteza de medição, é possível garantir que os resultados da contagem de partículas sejam válidos e confiáveis e que os medicamentos injetáveis atendam aos padrões de qualidade exigidos.

## **2. OBJETIVO(S)**

### **2.1. Objetivo geral**

Avaliação das incertezas da amostragem e analítica para a determinação da contagem de partículas ( $\geq 10$  e  $25 \mu\text{m}$ ) pelo método de obscuração de luz em soluções injetáveis

### **2.2. Objetivos específicos**

- Realizar a contagem de partículas  $\geq 10$  e  $25 \mu\text{m}$  em solução injetável de metronidazol e de ciprofloxacino em contador de partículas pelo método de obscuração de luz
- Realizar análise estatística e avaliar a variabilidade entre as amostras (incerteza da amostragem) e a variabilidade entre as réplicas (incerteza analítica), com objetivo de avaliar a contribuição dessas fontes de incerteza para a incerteza final.
- Estabelecer simulações para gerar conjuntos de dados para diferentes níveis de contagem de partículas para avaliar as contribuições da variabilidade entre as amostras e entre as réplicas.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Amostras utilizadas

Foram analisados dois medicamentos injetáveis diferentes, sendo eles, o metronidazol 500 mg/100 mL e ciprofloxacino 200 mg/100 mL.

O sistema utilizado é um contador de partículas APSS-200, capaz de analisar a partir da técnica de obscurecimento de luz. As amostras foram analisadas (Tabela 3), individualmente, 10 unidades de cada produto (um lote de solução injetável de metronidazol e um lote de solução injetável de ciprofloxacino). Cada uma das 10 unidades (T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10) foram submetidas a 2 amostragens (S1 e S2), e cada amostragem foi analisada em duplicata, totalizando 4 medições por unidade (S1A1, S1A2, S2A1 e S2A2).

Tabela 3 - Medicamentos analisados com suas respectivas formulações, apresentação da forma farmacêutica e número de unidades analisadas, amostragem, análise e total de medições por medicamento.

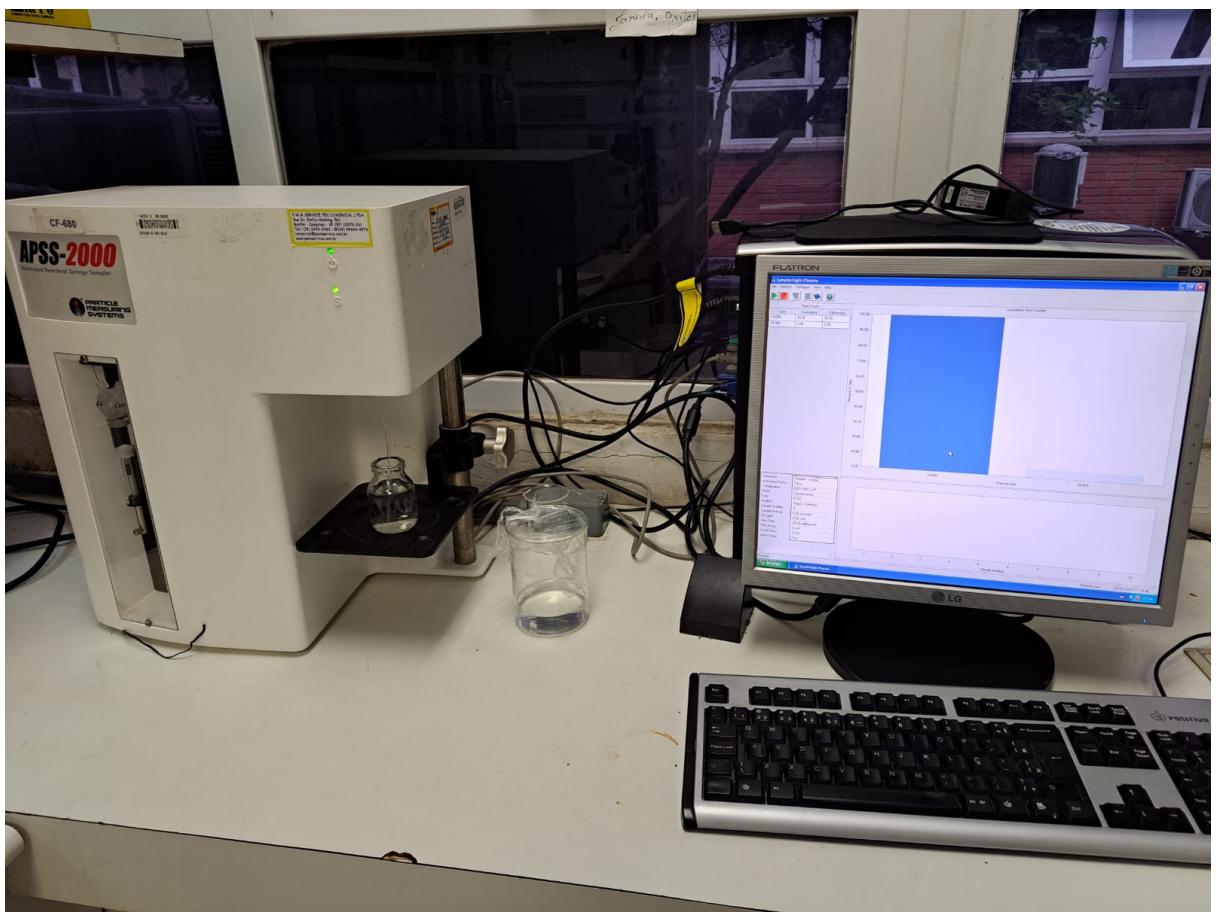
Medicamento	Apresentação da forma farmacêutica	Unidades	Amostragem	Análise	Total de Medições
Metronidazol 5 mg/mL	Bolsa PVC contendo 100 mL de solução injetável	10 unidades	2	2	40
Ciprofloxacino 2 mg/mL	Bolsa PVC contendo 100 mL de solução injetável	10 unidades	2	2	40

Fonte: Próprio autor.

### 3.2. Método

As análises foram realizadas em um lote de solução injetável de metronidazol e de ciprofloxacino. A análise contempla duplicatas de diferentes amostragens de um determinado lote. Como esse método, é possível avaliar a variabilidade entre as amostras (incerteza da amostragem) e a variabilidade entre as réplicas (incerteza analítica). Para a análise foi utilizado de um contador de partículas APSS-2000 (Figura 2), sistema que consiste de um amostrador de seringa (SLS-2000), uma luz LiQuilaz® II e com capacidade de séries de espectrometria de obscurecimento e SamplerSight Software.

Figura 2 - Equipamento APSS-2000 e Software SamplerSight



Fonte: Próprio autor.

Antes de realizar a contagem, o equipamento foi calibrado usando dispersões de partículas esféricas de tamanhos conhecidos entre 10  $\mu\text{m}$  e 25  $\mu\text{m}$ , Padrão de

Referência de Contagem de Partículas da USP. Nesses padrões, as partículas são dispersas em água livre de partículas.

Os frascos de vidro utilizados para comportar as amostras e seringa de amostragem passaram por lavagem de água ultrapurificada para remover quaisquer vestígios de partículas residuais presente, além disso, foram tomadas as medidas de segurança ao realizar o experimento, utilizando os EPIs com o objetivo de evitar possíveis contaminações.

Antes de realizar a leitura das amostras, realizou-se primeiramente a purga e leitura de amostras de água livre de partículas para verificar a adequabilidade do sistema e checagem de limpeza da seringa. A partir disso, as bolsas de PVC contendo as amostras foram abertas pelo fecho com o uso de uma tesoura e foram vertidas lentamente no recipiente de frasco de vidro para evitar a formação de bolhas. As dez unidades de amostra de 100 mL foram divididas em duas amostragem (S1 e S2).

Em cada amostra foram feitas três medições com 9 mL, sendo a primeira medição descartada com o objetivo de condicionar a seringa, assim foram obtidos os resultados de cada medição. No total foram realizadas 40 medições de contagem de partículas para Metronidazol 500 mg/100 mL e 40 medições para Ciprofloxacino 200 mg/100 mL.

### 3.3. Avaliação estatística

A avaliação estatística e cálculos foram realizadas por meio do programa Excel® (versão 2021). Primeiramente, os resultados de contagem de partículas obtidos para o volume testado foram corrigidas conforme o volume total da amostra, com objetivo de se quantificar os números de partículas  $\geq 10 \mu\text{m}$  e  $\geq 25 \mu\text{m}$  de cada recipiente e avaliar se os resultados atendem as especificações da Farmacopéia brasileira (2019). Foi utilizada a análise de variância (ANOVA) para avaliar a variabilidade entre as unidades de amostragem ( $S_T$ ), entre as amostras ( $S_S$ ), entre as análises ( $S_A$ ) e a incerteza combinada ( $u$ ).

As incertezas da amostragem e analítica foram combinadas de forma a obter-se a incerteza padrão ( $u$ ) e, posteriormente, a incerteza expandida ( $U = k \times u$ , sendo  $k = 2$  para aproximadamente 95% de nível de confiança).

Em seguida, foram realizadas simulações para gerar conjuntos de dados para diferentes níveis de contagem de partículas. As simulações realizadas consideram o número de determinações (i), ou seja, quantas leituras foram analisadas no frasco, e o número de frascos utilizados (n). Os cenários escolhidos para a avaliação dessas simulações foram determinados conforme descrito na Tabela 4. Através da avaliação desses cenários, foram realizados gráficos das incertezas da amostragem, analítica e das incertezas combinadas, por meio da regressão linear das médias do número de partículas e dos valores de desvio das incertezas, apontando quais variabilidades são mais relevantes para cada cenário estabelecido no estudo.

Tabela 4 - Cenários utilizados para estudo de diferentes níveis de incerteza, considerando o número de determinações e número de frascos.

Simulações utilizadas para estudo	Número de determinações (i)	Número de frascos (n)
<b>Cenário A</b>	1	1
<b>Cenário B</b>	3	1
<b>Cenário C</b>	3	10
<b>Cenário D</b>	1	10
<b>Cenário E</b>	2	2

Fonte: Próprio autor.

Além disso, para a avaliação da incerteza da amostragem e analítica foi utilizada a distribuição de Poisson. A distribuição de Poisson permite um modelo realístico para fenômenos aleatórios, sendo adequada para contagens inteiras e positivas, pois descreve a probabilidade de um número de ocorrência em um estipulado intervalo (BARBOSA, 2014). Como o número de partículas é determinado por um número inteiro, essa distribuição permite a modelagem da variação da contagem de partículas, supondo uma estimativa da variação esperada e na definição dos limites de aceitabilidade com base na especificação de contagem de partículas.

Para a avaliação pela distribuição de Poisson foram determinados números de contagem de partículas (Tabela 5), a fim de estudar juntamente com os cenários estipulados na Tabela 4 os riscos de número de partículas fora dos limites de especificação, através dos limites superior e inferior do intervalo de confiança 95%,

determinados pela fórmula percentil do programa Excel® (versão 2021). No cálculo do número de partículas foram também determinados valores aleatórios de volume testado e do volume da amostra para representar uma variação nas incertezas do volume testado e do volume da amostra.

Tabela 5 - Estudo para contagem de partículas para estudo de distribuição de Poisson

<b>Estudo para contagem de partículas</b>	<b>10 <math>\mu\text{m}</math> e 25 <math>\mu\text{m}</math></b>
Estudo 1	2
Estudo 2	20
Estudo 3	200

Fonte: Próprio autor.

Com base nos gráficos obtidos para os cenários apresentados na Tabela 4, foram escolhidos os cenários. Para isso, foram realizados o número de partículas obtidas a partir da distribuição de Poisson e os intervalos de confiança de 95% para os intervalos superior e inferior. Também foi criado um modelo para avaliar os riscos do consumidor e do produtor associados à liberação e reprovação de lotes não conformes.

## **4. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As análises das amostras de Metronidazol 500 mg/100 mL e de Ciprofloxacino 200 mg/100 mL foram realizadas conforme metodologia descrita no item 3.2. Os resultados das análises estão demonstrados no item 4.1, conforme cada medicamento e número de partículas por recipiente.

### **4.1. Número de partículas das soluções injetáveis**

Os números de partículas  $\geq 10 \mu\text{m}$  e  $\geq 25 \mu\text{m}$  foram determinadas para cada medicamento. As contagens de partículas para o medicamento Metronidazol estão apresentadas na Tabela 4 e para o medicamento de Ciprofloxacino na Tabela 5. Em cada medicamento, foram utilizadas 10 unidades, sendo fracionado em 2 amostragens e cada amostragem analisada em duplicata, totalizando 4 medições por unidade. Tanto o Metronidazol quanto o Ciprofloxacino pertencem a um mesmo lote de fabricação para cada medicamento.

Tabela 6 - Número de partículas maiores a 10 e 25 µm presentes nas amostras de metronidazol de volume testado.

Alvo de amostragem	10 µm				25 µm			
	Amostra S1		Amostra S2		Amostra S1		Amostra S2	
	Anális e A1	Anális e A2						
T1	61	77	66	56	0	1	1	0
T2	66	48	73	76	3	2	1	3
T3	88	81	52	59	4	3	2	3
T4	75	80	75	81	5	3	1	1
T5	194	169	137	147	4	6	5	4
T6	121	120	59	63	8	3	2	1
T7	117	119	82	90	8	6	4	2
T8	73	70	69	62	1	1	3	1
T9	78	59	52	56	2	0	4	1
T10	54	41	36	40	1	1	2	1

Fonte: Próprio autor.

Tabela 7 - Número de partículas maiores a 10 e 25 µm presentes nas amostras de ciprofloxacino volume testado.

Alvo de amostragem	10 µm				25 µm			
	Amostra S1		Amostra S2		Amostra S1		Amostra S2	
	Anális e A1	Anális e A2						
T1	242	241	131	144	5	2	4	3
T2	944	808	419	408	25	22	8	14
T3	132	142	111	117	1	6	7	4
T4	197	164	131	127	8	6	1	4
T5	100	87	126	114	6	1	6	3
T6	236	229	125	112	7	4	3	7
T7	185	160	142	115	6	6	7	2
T8	268	261	252	281	8	6	8	8
T9	175	168	154	153	6	3	5	4
T10	126	143	142	135	1	7	6	6

Fonte: Próprio autor.

Os dados adquiridos na Tabela 4 e Tabela 5 correspondem aos números de partículas obtidos no volume testado, portanto para compreensão dos valores em volume total de amostra é necessário prosseguir com sua a correção, através da multiplicação por 100/9 (sendo que 100 corresponde ao volume da amostra e 9 ao volume testado).

Tabela 8 - Número de partículas maiores a 10 e 25 µm presentes nas amostras de metronidazol de volume de amostra corrigida.

Alvo de amostragem corrigida	10 µm				25 µm			
	Amostra S1		Amostra S2		Amostra S1		Amostra S2	
	Anális e A1	Anális e A2						
T1	678	856	733	622	0	11	11	0
T2	733	533	811	844	33	22	11	33
T3	978	900	578	656	44	33	22	33
T4	833	889	833	900	56	33	11	11
T5	2156	1878	1522	1633	44	67	56	44
T6	1344	1333	656	700	89	33	22	11
T7	1300	1322	911	1000	89	67	44	22
T8	811	778	767	689	11	11	33	11
T9	867	656	578	622	0	11	11	0
T10	600	456	400	444	33	22	11	33

Fonte: Próprio autor.

Tabela 9 - Número de partículas maiores a 10 e 25 µm presentes nas amostras de Ciprofloxacino de volume de amostra corrigida.

Alvo de amostragem corrigida	10 µm				25 µm			
	Amostra S1		Amostra S2		Amostra S1		Amostra S2	
	Anális e A1	Anális e A2						
T1	2689	2678	1456	1600	56	22	44	33
T2	10489	8978	4656	4533	278	244	89	156
T3	1467	1578	1233	1300	11	67	78	44
T4	2189	1822	1456	1411	89	67	11	44
T5	1111	967	1400	1267	67	11	67	33
T6	2622	2544	1389	1244	78	44	33	78
T7	2056	1778	1578	1278	67	67	78	22
T8	2978	2900	2800	3122	89	67	89	89
T9	1944	1867	1711	1700	67	33	56	44
T10	1400	1589	1578	1500	11	78	67	67

Fonte: Próprio autor.

Para os resultados obtidos do Metronidazol, é possível observar que o número de partículas  $\geq 10 \mu\text{m}$  e  $\geq 25 \mu\text{m}$  é inferior à máxima quantidade preconizada pela Farmacopéia brasileira (2019).

Com base nos resultados obtidos de Ciprofloxacino, é possível observar que os dados da segunda unidade (T2) e amostragem (S1A1 e S1A2) para o número de partículas  $\geq 10 \mu\text{m}$  encontram-se acima da especificação preconizada pela Farmacopéia brasileira (2019). Observa-se resultados de S1A1 igual a 10489 partículas/recipientes e S1A2 igual 8978 partículas/recipientes, esses valores estão acima da especificação, correspondente a 6000 partículas/recipientes. Enquanto as amostras S2A1 e S2A2 de mesma unidade obteve-se valores altos comparados às outras unidades testadas de mesmo lote, mas dentro da especificação. Esses

resultados da unidade T2 indicam a possível variabilidade natural das características de uma população testada devido à incerteza de amostragem. Essa variabilidade natural introduzida pela incerteza da amostragem pode contribuir para a decisão errada quanto a aprovação ou reprovação de lotes.

Os resultados de contagem de partículas  $\geq 25 \mu\text{m}$  para Ciprofloxacino, apresentaram valores maiores quando comparados ao Metronidazol, porém estão dentro da especificação máxima preconizada pela Farmacopéia brasileira (2019).

#### 4.2. Modelo de variabilidade

Os cálculos de ANOVA foram realizados por meio do programa Excel® (versão 2021). A partir dos dados estabelecidos na Tabelas 5 e Tabela 6, foram realizadas as determinações de desvio padrão e médias de cada grupo de dados, medindo a variabilidade entre as unidades de amostragem ( $S_T$ ), entre as amostras ( $S_S$ ), entre as análises ( $S_A$ ) e a incerteza combinada ( $u$ ), conforme Tabela 10.

Tabela 10 - Resumo dos resultados de análise de variância (ANOVA) para determinação da variabilidade entre os alvos de amostragem ( $S_T$ ), entre as amostras ( $S_S$ ), entre as análises ( $S_A$ ) e a incerteza combinada ( $u$ ).

Produto	Tamanho de partícula	Nº de partículas - Médias	$S_T$	$S_S$	$S_A$	$u$
Metronidazol	25 $\mu\text{m}$	2,6	1,02	1,19	1,32	1,78
Ciprofloxacino	25 $\mu\text{m}$	6,2	3,415	2,55	2,43	3,52
Metronidazol	10 $\mu\text{m}$	80,6	29,7	18,8	7,55	20,3
Ciprofloxacino	10 $\mu\text{m}$	211,2	137,8	109,1	24,08	111,7

Fonte: Próprio autor.

Na Tabela 10, observa-se que os resultados da incerteza combinada ( $u$ ) apresenta uma alta variabilidade para o produto de Ciprofloxacino com tamanho de partículas  $\geq 10 \mu\text{m}$ . Essa alta variabilidade de incerteza combinada demonstra que há uma variação significativa das outras fontes de incerteza de mesmo produto,

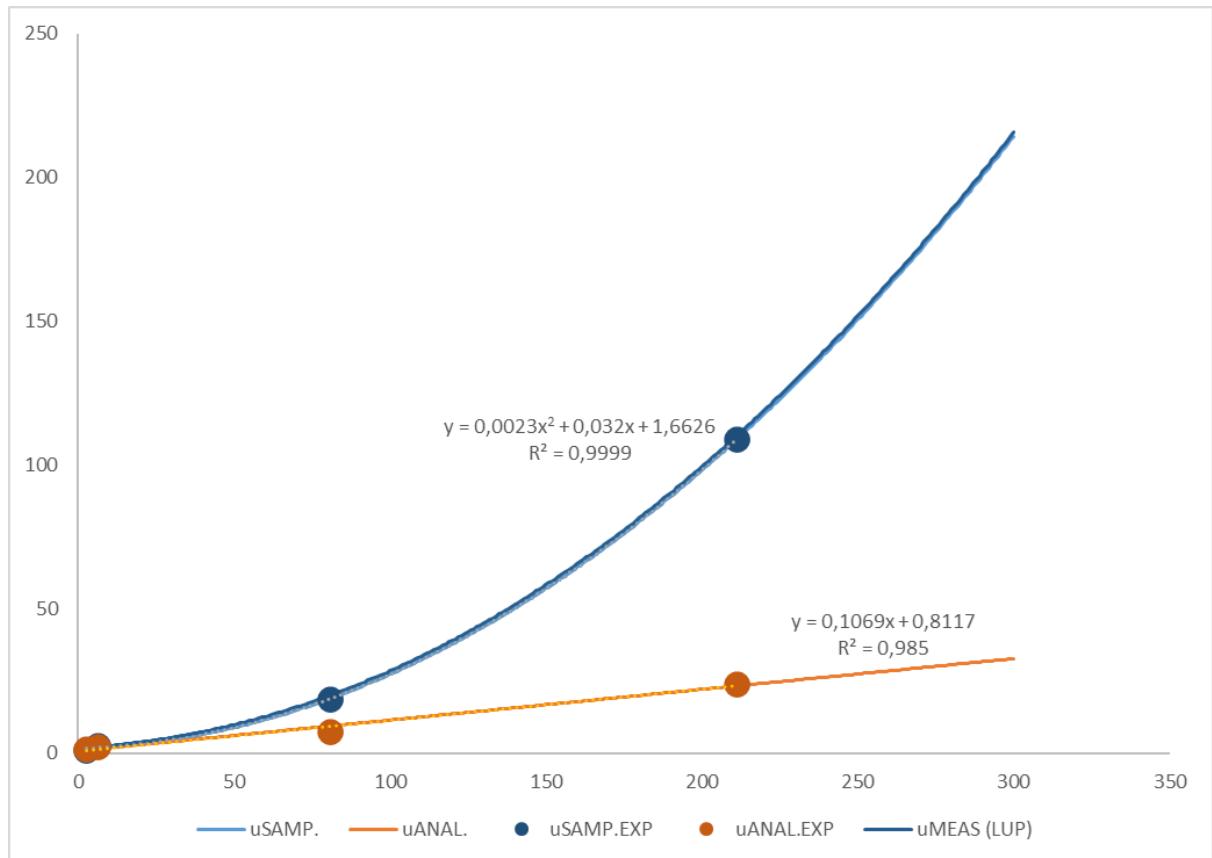
indicando possíveis inconsistências de resultado e uma maior complexidade do produto. Para uma melhor visualização da complexidade dos resultados de Ciprofloxacino, pode-se observar os resultados com o volume de amostra corrigida (Tabela 8), no qual revela maior aleatoriedade nos resultados de número de partículas  $\geq 10 \mu\text{m}$ .

#### 4.3. Contribuições das incertezas analíticas e da amostragem

Gráficos foram elaborados a fim de demonstrar a contribuição das incertezas da amostragem e analítica. Nesses gráficos está apresentado como desvio padrão se comporta com a quantidade de partículas da soma das incertezas (Eixo x: Count; Eixo y: Desvio padrão), conforme os cenários estabelecidos na Tabela 4.

A equação quadrática da amostragem e a equação da reta da incerteza analítica, foram obtidas através da regressão linear das médias do número de partículas e dos valores de desvio de amostragem ( $u_{\text{SAMP}}$ ) e analítica ( $u_{\text{ANAL}}$ ). As incertezas de medição ( $u_{\text{MEAS}}$ ) foram calculadas a partir das incertezas da amostragem ( $u_{\text{SAMP}}$ ) e analítica ( $u_{\text{ANAL}}$ ).

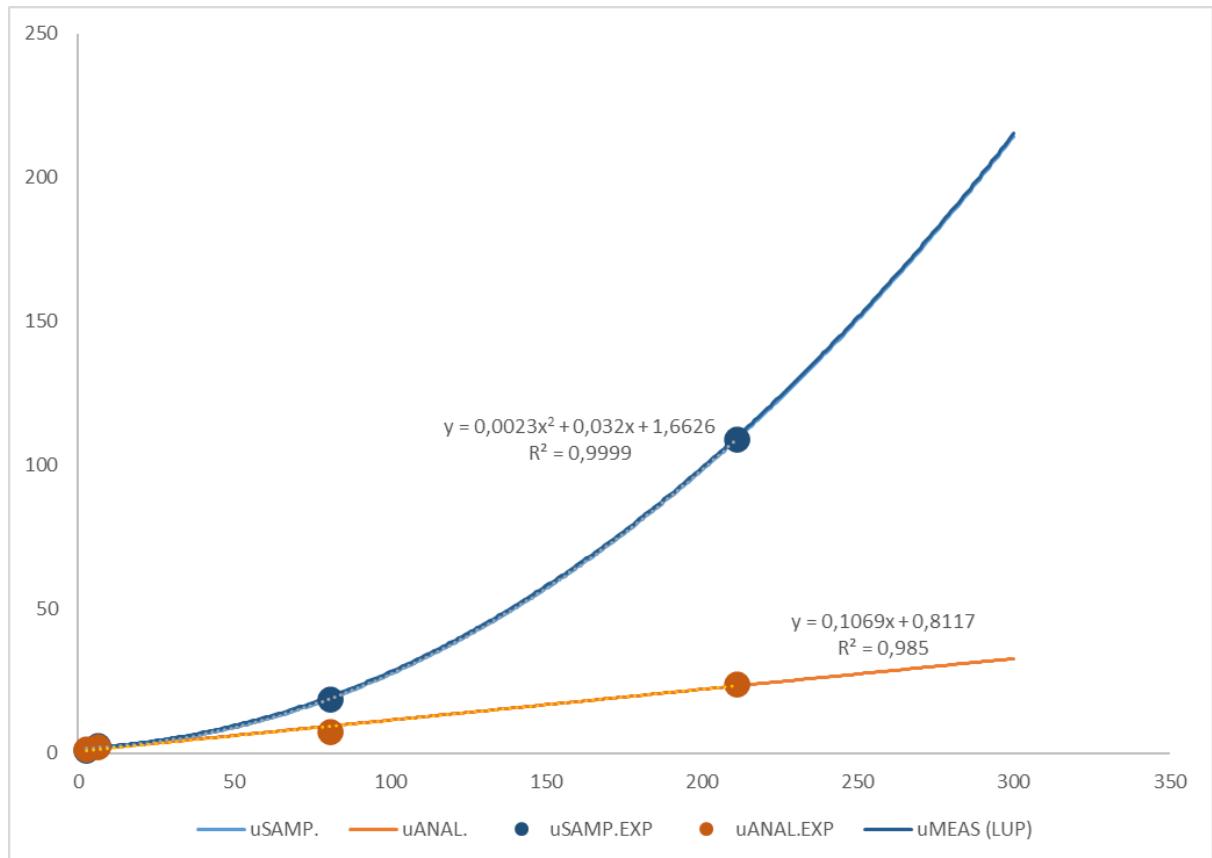
Gráfico 1 - Gráfico de contribuição da variabilidade da amostragem (uSAMP), analítica (uANAL) e soma das incertezas da amostragem e analítica (uMEAS) , conforme o cenário A ( i=1; n=1).



Fonte: Próprio autor.

O gráfico 1 demonstra que ao estabelecer um cenário onde o número de determinações ( $i=1$ ) e de número de frascos ( $n=1$ ), observa-se a sobreposição das equações da uSAMP e uMEAS, apontando que a variabilidade introduzida pela amostragem é comparável a incerteza total, isto significa que a variação natural da amostragem é relevante em relação às incertezas introduzidas em todo o processo. Sendo assim, o desvio da amostragem é uma fonte significativa da incerteza.

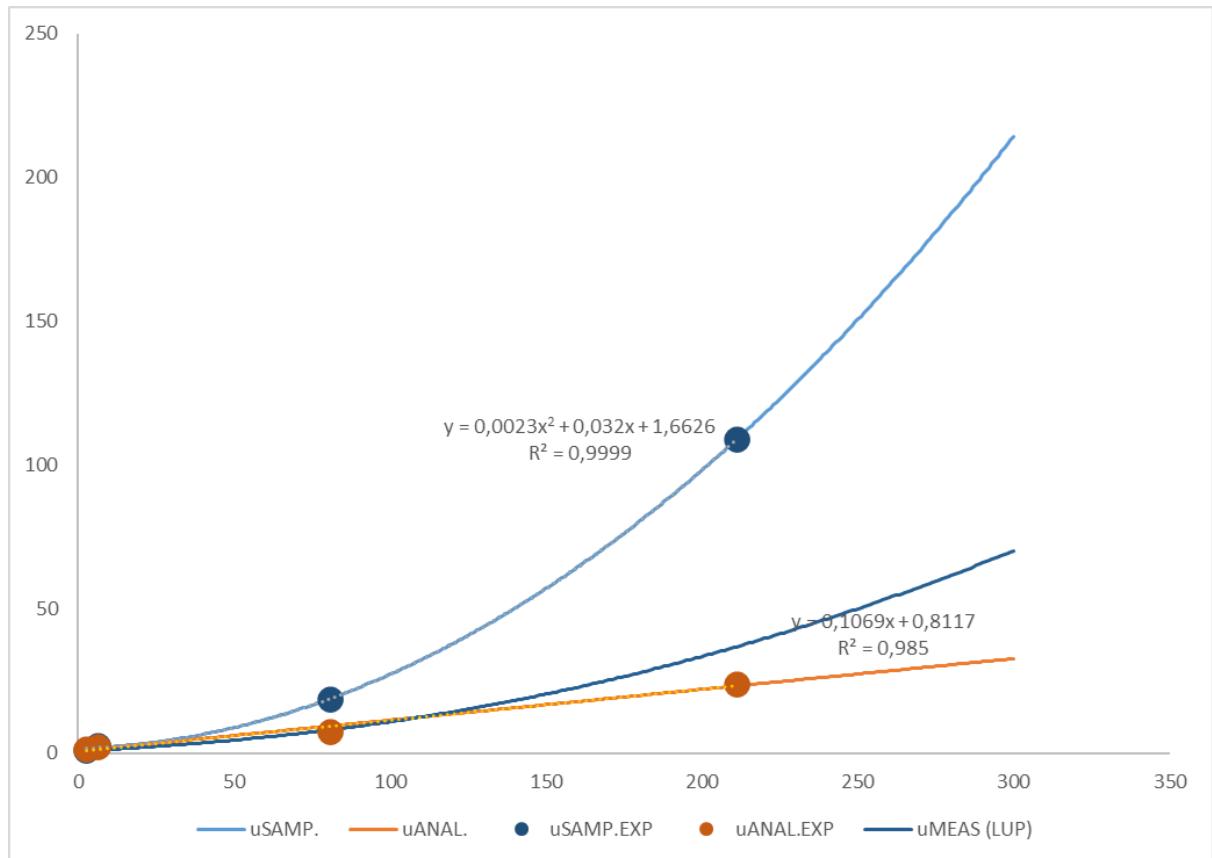
Gráfico 2 - Gráfico de contribuição da variabilidade da amostragem (uSAMP), analítica (uANAL) e soma das incertezas da amostragem e analítica, conforme o cenário B (  $i=3$ ;  $n=1$ ).



Fonte: Próprio autor.

O gráfico 2 demonstra que ao estabelecer um cenário onde o número de determinações ( $i=3$ ) e de número de frascos ( $n=1$ ), assemelha ao gráfico 1 indicando que o aumento do número das determinações não reduz a incerteza de medição uma vez que a contribuição da incerteza da amostragem é mais relevante.

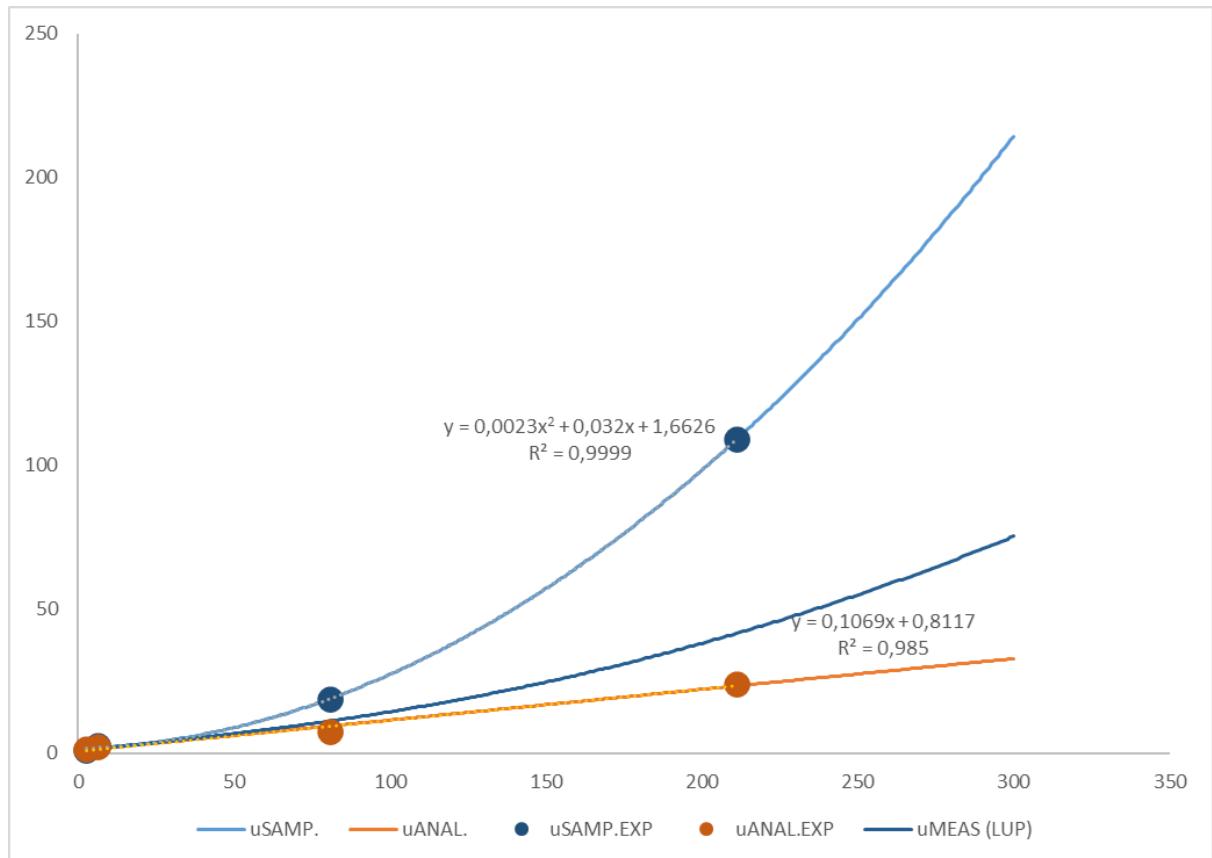
Gráfico 3 - Gráfico de contribuição da variabilidade da amostragem (uSAMP), analítica (uANAL) e soma das incertezas da amostragem e analítica, conforme o cenário C (  $i=3$ ;  $n=10$ ).



Fonte: Próprio autor.

O gráfico 3 demonstra que ao estabelecer um cenário onde o número de determinações ( $i=3$ ) e de número de frascos ( $n=10$ ), aponta uma aproximação da soma das incertezas com a equação de desvio analítico (uANAL), a incerteza de medição foi reduzida devido ao aumento do tamanho da amostra ( $n=10$ ).

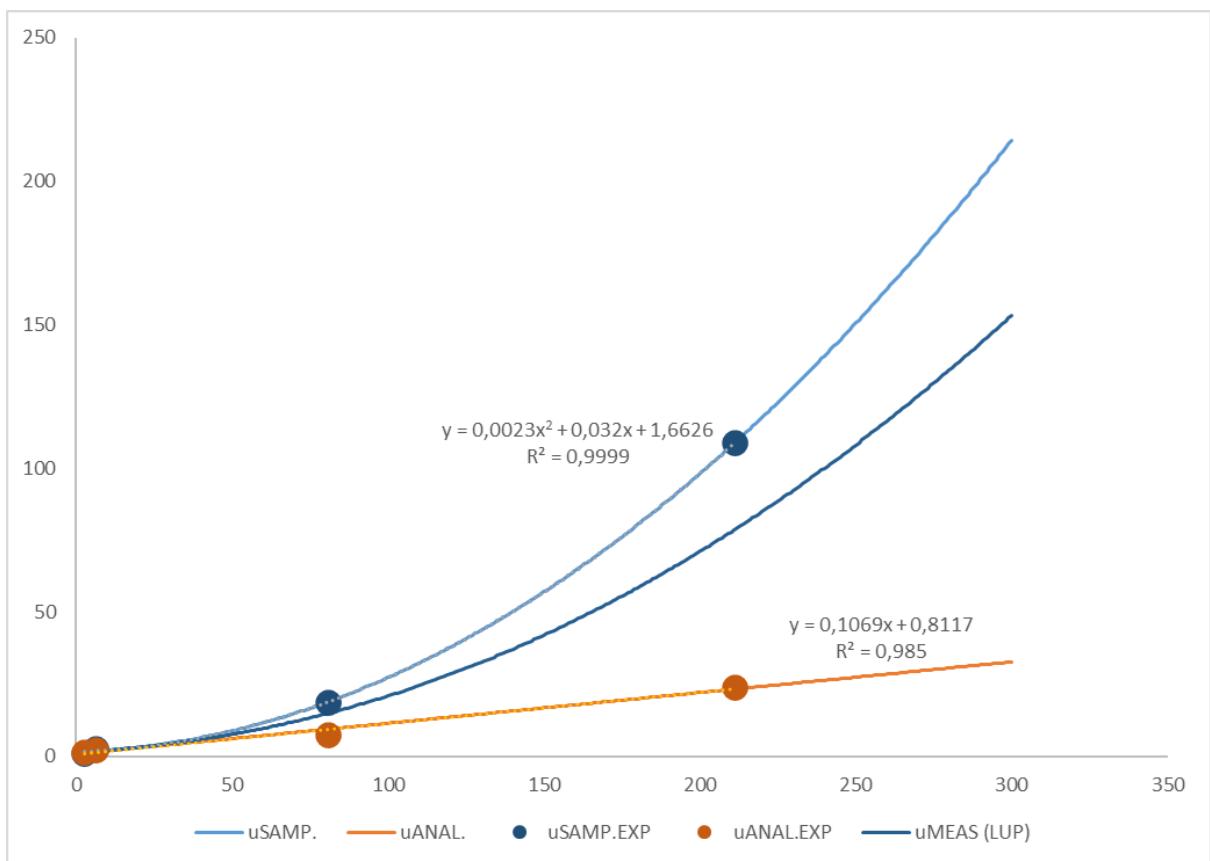
Gráfico 4 - Gráfico de contribuição da variabilidade da amostragem (uSAMP), analítica (uANAL) e soma das incertezas da amostragem e analítica, conforme o cenário D (  $i=1$ ;  $n=10$ ).



Fonte: Próprio autor.

O gráfico 4 verifica que ao estabelecer um cenário onde o número de determinações ( $i=1$ ) e de número de frascos ( $n=10$ ), se assemelha ao gráfico 3, porém apresentam uma leve inclinação e aproximação às incertezas da amostragem em comparação ao cenário C. Portanto, o aumento do número de determinações e do número de frascos reduz a incerteza final.

Gráfico 5 - Gráfico de contribuição da variabilidade da amostragem (uSAMP), analítica (uANAL) e soma das incertezas da amostragem e analítica, conforme o cenário E (  $i=2$ ;  $n=2$ ).



Fonte: Próprio autor.

O gráfico 5 representa o comportamento proposto pelo estudo para a contagem de partículas, no qual o número de determinações ( $i=2$ ) e de número de frascos ( $n=2$ ) que foram propostas pela metodologia de “design balanceado” pelo Eurachem (2019). Neste gráfico, observa-se que a incerteza de medição ainda é elevada, devido ao baixo número de amostras considerado ( $n=2$ ).

#### 4.4. Estudo com a distribuição de Poisson

Para estudo da aplicação da distribuição de Poisson, foi utilizado o modelo de Poisson lognormal a fim de permitir que a variabilidade da taxa de ocorrências seja modelada de forma mais realista. Portanto, em cada cenário foi realizado o estudo com diferentes números de partículas (conforme Tabela 5) para determinação da

variância, intervalo de confiança 95% superior e inferior e os riscos de ultrapassarem os limites de especificação 10  $\mu\text{m}$  e 25  $\mu\text{m}$ .

Tabela 11 - Estudo do cenário A conforme distribuição de Poisson log-normal para determinação da variância, intervalo de confiança superior e inferior (IC95%I e IC95%S) e risco de limites de 10  $\mu\text{m}$  e 25  $\mu\text{m}$ .

Cenário A (i=1; n=1)						
	Número de partículas	Variância	IC95%I	IC95%S	Risco Lim. 10 $\mu\text{m}$ (%)	Risco Lim. 25 $\mu\text{m}$ (%)
Estudo 1	2	4,06	0	90	0,00	0,00
Estudo 2	20	18,98	101	377	0,00	0,01
Estudo 3	200	10169,00	760	5074	1,06	99,27

Fonte: Próprio autor.

Na Tabela 11, referente ao cenário A, observa-se um ligeiro aumento no valor de variância devido ao aumento do número de partículas. Um aumento na variância indica uma maior dispersão da média, o que indica um aumento na incerteza de medição. Isto pode ser relevante para análises de risco e decisões na liberação do produto. Além disso, o aumento do número de partículas resultou em um intervalo de confiança de 95% superior, aumentando assim a incerteza na estimativa da média populacional, que pode surgir devido à alta variabilidade dos dados e na amostragem, sendo possível avaliar sua contribuição a partir do gráfico 1.

De acordo com a Tabela 2, o risco de partículas ultrapassarem os limites de especificação de 10 e 25  $\mu\text{m}$ , varia em função do número máximo de tamanho de cada partícula. Quanto maior o número de partículas, maior o risco, especialmente nos limites de especificação de 25  $\mu\text{m}$ , onde a taxa de risco chega a 99% para duzentas partículas por recipiente. Enquanto o risco para o limite de especificação de 10  $\mu\text{m}$ , registrou um risco de 1%. Apesar do risco ser baixo, este resultado pode ser verificado no ensaio com Ciprofloxacino, conforme descrito na seção 4.1.

Comparando este estudo com os valores das médias obtidas nos experimentos, pode-se observar que para estudos com um número de partículas de até 200 partículas por recipiente, deve-se levar em consideração uma maior

relevância para os limites de especificação de 10  $\mu\text{m}$ , uma vez que essa quantidade de partículas só foi atingido com valores de  $\geq 10 \mu\text{m}$  para o Ciprofloxacino.

Tabela 12 - Estudo do cenário B conforme distribuição de Poisson log-normal para determinação da variância, intervalo de confiança superior e inferior (IC95%I e IC95%S) e risco de limites de 10  $\mu\text{m}$  e 25  $\mu\text{m}$ .

Cenário B (i=3; n=1)						
	Número de partículas	Variância	IC95%I	IC95%S	Risco Lim. 10 $\mu\text{m}$ (%)	Risco Lim. 25 $\mu\text{m}$ (%)
Estudo 1	2	3,36	0	89	0,00	0,00
Estudo 2	20	13,18	111	361	0,00	0,00
Estudo 3	200	9840,51	773	5049	0,96	99,32

Fonte: Próprio autor.

Os resultados obtidos na Tabela 12 parecem semelhantes ao cenário A (Tabela 11), devido a mesma quantidade de frasco, uma vez que o mesmo número de frascos (incerteza da amostragem) contribui com mais relevância para a incerteza final.

Tabela 13 - Estudo do cenário C conforme distribuição de Poisson log-normal para determinação da variância, intervalo de confiança superior e inferior (IC95%I e IC95%S) e risco de limites de 10  $\mu\text{m}$  e 25  $\mu\text{m}$ .

Cenário C (i=3; n=10)						
	Número de partículas	Variância	IC95%I	IC95%S	Risco Lim. 10 $\mu\text{m}$ (%)	Risco Lim. 25 $\mu\text{m}$ (%)
Estudo 1	2	0,65	0	67	0,00	0,00
Estudo 2	20	3,93	123	336	0,00	0,00
Estudo 3	200	1131,87	1520	3115	0,00	100,00

Fonte: Próprio autor.

Em contrapartida, o estudo do cenário C (Tabela 13) apresenta os resultados mais favoráveis devido aos menores valores de variância, o que indica menor dispersão de valores, menor incerteza e menos menores valores extremos, ou seja,

menor probabilidade na observação de valores acima dos limites de especificação. Para partículas maiores que 25  $\mu\text{m}$ , o risco de ultrapassar o limite de especificação é de 100%, pois embora a variância seja menor em comparação com outros cenários, a contagem de partículas ainda é alta o suficiente para que todo modelo esteja fora de especificação.

Tabela 14 - Estudo do cenário D conforme distribuição de Poisson log-normal para determinação da variância, intervalo de confiança superior e inferior (IC95%I e IC95%S) e risco de limites de 10  $\mu\text{m}$  e 25  $\mu\text{m}$ .

Cenário D (i=1; n=10)						
	Número de partículas	Variância	IC95%I	IC95%S	Risco Lim. 10 $\mu\text{m}$ (%)	Risco Lim. 25 $\mu\text{m}$ (%)
Estudo 1	2	1,35	0	76	0,00	0,00
Estudo 2	20	9,73	112	353	0,00	0,00
Estudo 3	200	1460,37	1450	3223	0,00	100,00

Fonte: Próprio autor.

O estudo do cenário D (Tabela 14) se assemelha aos resultados do cenário C, porém apresenta um valor de variância maior, destacando a importância de um maior número de determinações para a contribuição de uma menor incerteza.

Tabela 15 - Estudo do cenário E conforme distribuição de Poisson log-normal para determinação da variância, intervalo de confiança superior e inferior (IC95%I e IC95%S) e risco de limites de 10  $\mu\text{m}$  e 25  $\mu\text{m}$ .

Cenário E (i=2; n=2)						
	Número de partículas	Variância	IC95%I	IC95%S	Risco Lim. 10 $\mu\text{m}$ (%)	Risco Lim. 25 $\mu\text{m}$ (%)
Estudo 1	2	2,03	0	78	0,00	0,00
Estudo 2	20	9,49	113	350	0,00	0,00
Estudo 3	200	5084,50	1033	4153	0,13	99,96

Fonte: Próprio autor.

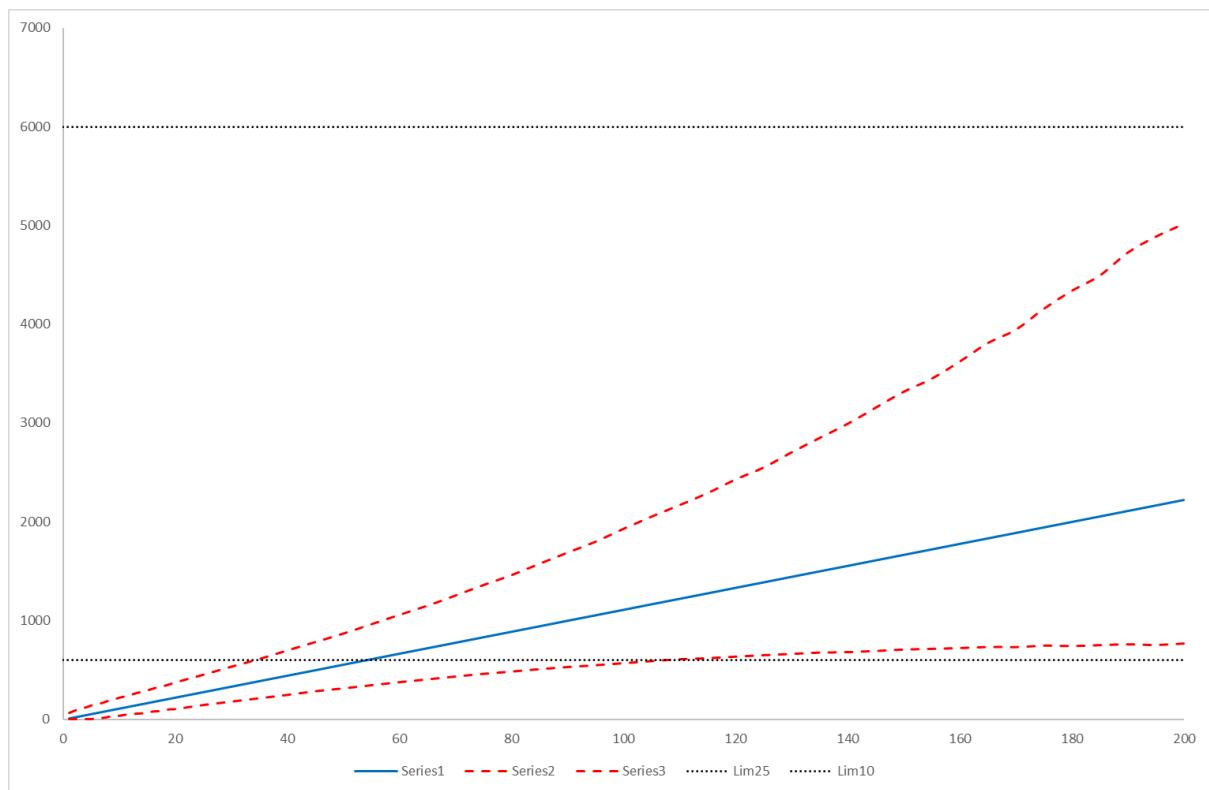
A Tabela 15, representa o modelo utilizado nos experimentos, no qual foi observado um aumento da variância com o aumento do número de partículas, porém comparando com os valores de variância do cenário A, houve a redução pela metade da variância para duzentas partículas por recipiente. O número de frascos é fundamental para reduzir a incerteza da amostragem, o que contribui para resultados com menor dispersão.

#### 4.5. Análise de intervalos de confiança

Para a análise das estimativas dos intervalos de confiança, foram selecionados o pior e melhor cenários, ou seja, foram avaliados os cenários A e C, respectivamente. O propósito da representação de um intervalo de confiança é fornecer um intervalo dentro do qual o valor verdadeiro do parâmetro populacional seja esperado com alto nível de confiança (95%).

Os gráficos foram elaborados de acordo com o comportamento dos intervalos de confiança em função do número de partículas no recipiente (Eixo x: Count; Eixo y: Número de partículas com volume corrigido). A linha azul corresponde à média dos resultados obtidos na distribuição de Poisson, as linhas tracejadas em vermelho indicam os intervalos de confiança (inferior e superior) e são adicionadas linhas de referência para os limites de especificação 10 e 25  $\mu\text{m}$ .

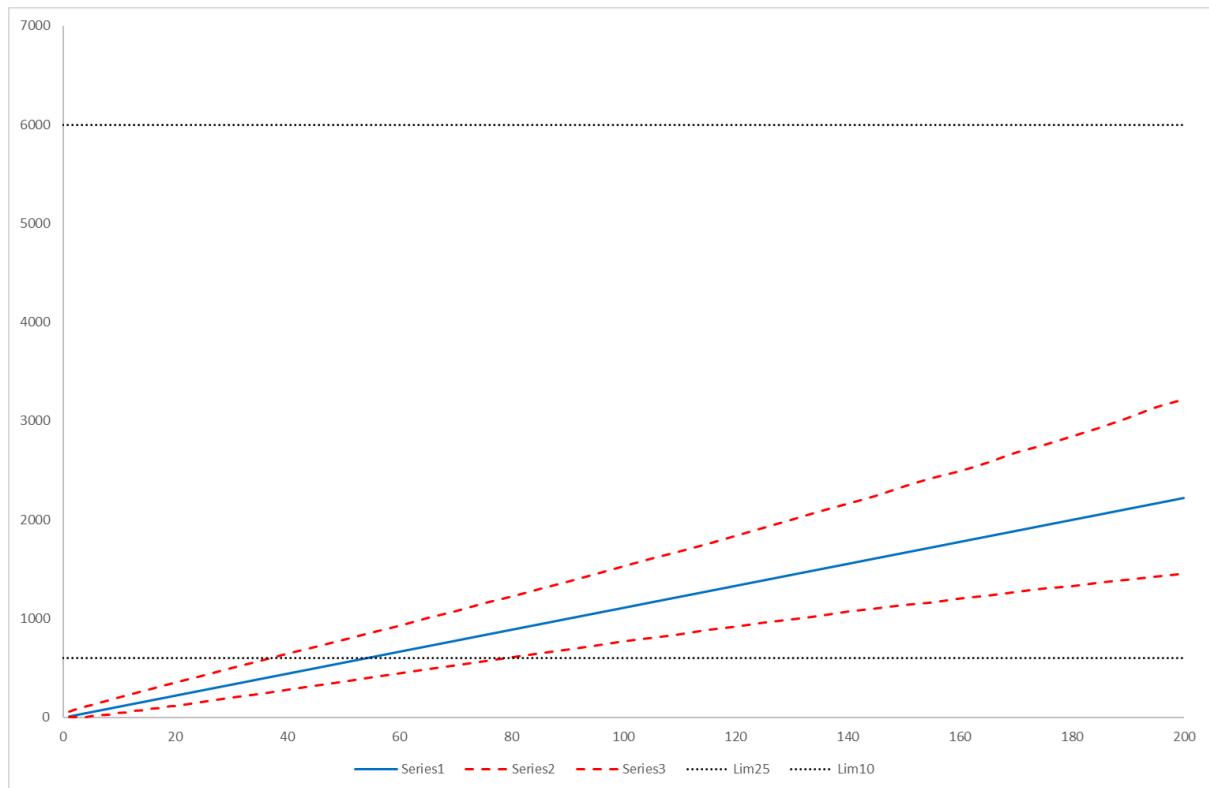
Gráfico 6 - Gráfico de IC95% por Count, conforme o cenário A (i=1; n=1).



Fonte: Próprio autor.

O gráfico 6, que inclui os dados para o cenário A, mostram um intervalo de confiança mais amplo associados a uma maior variância, levando a uma maior incerteza nas estimativas dos parâmetros. Essa maior variância pode ser explicada pelo maior desvio padrão em torno da média, o que leva a intervalos de confiança mais amplos. O comportamento deste gráfico reflete a incerteza apresentada ao estabelecer um cenário onde o número de determinações e de número de frascos são reduzidas.

Gráfico 7 - Gráfico de IC95% por Count, conforme o cenário C (i=3; n=10).

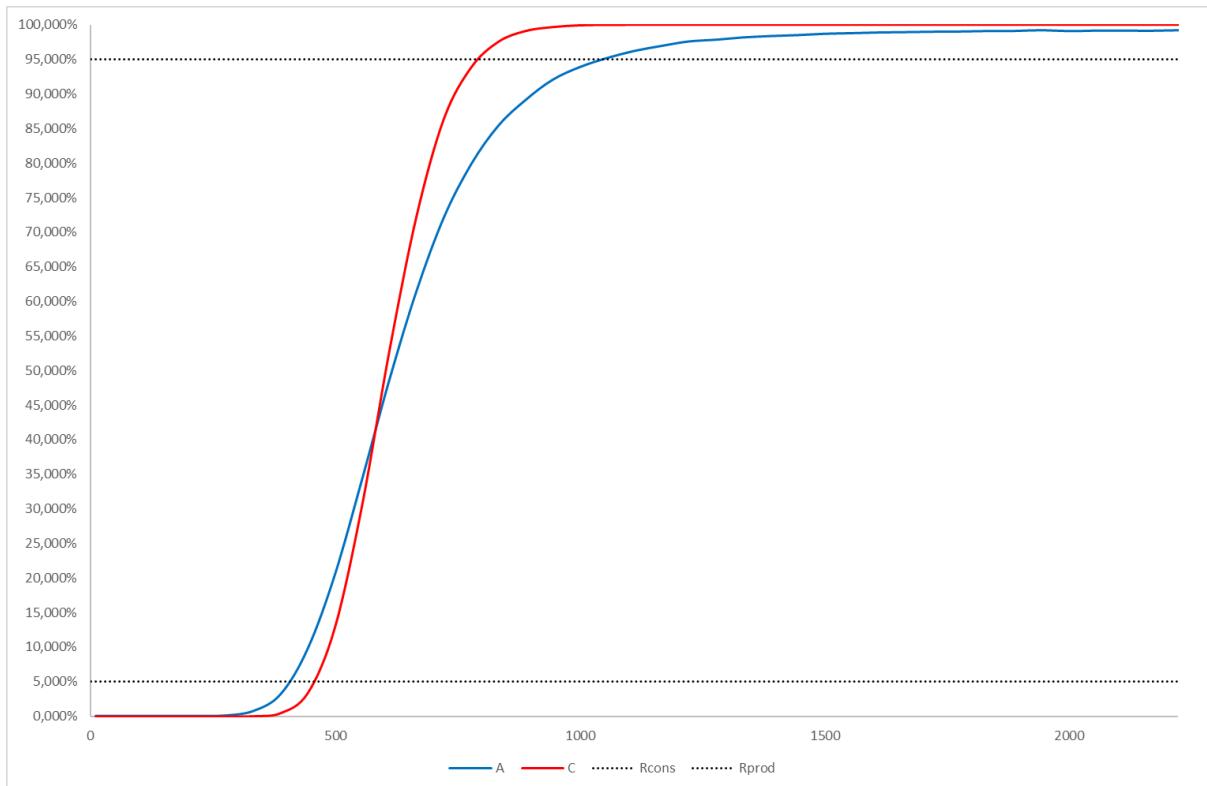


Fonte: Próprio autor.

Enquanto o gráfico 7, que inclui dados para o cenário C, apresenta um intervalo de confiança estreitos, isso normalmente indica que a incerteza em torno da estimativa é menor. Devido à homogeneidade dos dados e ao baixo desvio padrão, indica-se que a variância permanece estável e os valores estão agrupados em torno da média. Isso resulta em intervalos de confiança menores, porque há menos incerteza sobre a média populacional. O comportamento desse gráfico revela a importância de mais determinações e de frascos, o que ajuda a reduzir a incerteza e, consequentemente, os intervalos de confiança.

Além disso, foi gerado um gráfico de probabilidade de risco para o produtor e consumidor de acordo com os cenários A e C (Gráfico 8). O objetivo do sistema é avaliar a liberação indevida de lotes com o número de partículas que não atendem às especificações e na reprovação de lotes considerados dentro da conformidade.

Gráfico 8 - Gráfico de probabilidade do risco do consumidor e do fabricante a partir dos cenários A e C..



Fonte: Próprio autor.

Para interpretar o gráfico, a linha de referência superior representa o limite de 95%, que indica o grau de controle do processo produtivo e o grau de atendimento ao padrão de qualidade. Portanto, o risco do fabricante acima desta linha de limite corresponde a 5% de probabilidade na reprovação de um produto dentro da especificação. Enquanto o risco do consumidor refere-se à probabilidade de aceitar erroneamente um produto fora da especificação que corresponde também a um risco de 5%.

Portanto, ao observar o comportamento do gráfico 8, para o cenário A o consumidor tem um risco maior de adquirir um medicamento fora da especificação quando comparado ao cenário C. Adicionalmente, no cenário A, os fabricantes têm maior risco de reprovar um lote dentro da especificação quando comparado ao cenário C. As diferenças entre os cenários A e C podem ser explicadas pela redução da incerteza de medição devido ao aumento do tamanho de amostra (de 1 para 10) e do número de determinações (de 1 para 3).

## 5. CONCLUSÃO

A partir da análise dos dados e dos cenários discutidos neste trabalho, fica claro que a incerteza de medição desempenha um papel crítico na avaliação de conformidade de valores de partículas em soluções injetáveis. A incerteza da amostragem é inerente a qualquer processo de coleta de dados e demonstrou ser um fator significativo na obtenção de resultados que podem exceder os limites de conformidade, como foi observado durante o teste de partículas para o produto de Ciprofloxacino.

Ao explorar os cenários de estudo das incertezas, no qual a testagem se baseia em uma leitura e uma amostra, pode-se observar que a soma da incerteza tende a se aproximar da incerteza da amostragem. Isso implica na importância de não apenas considerar os fatores da medição, como a incerteza analítica, mas também a incerteza intrínseca à amostragem, especialmente se as decisões de conformidade foram extrapoladas para todo o lote (e não apenas para os itens testados).

Além disso, os valores de variância nestes casos aumentam significativamente, conforme indicado pelo elevado desvio padrão em torno da média. O que implica na ampliação dos intervalos de confiança, ao mesmo tempo em que enfatiza a necessidade de considerar as incertezas da amostragem e analíticas como pontos críticos na interpretação dos resultados. Um intervalo de confiança mais amplo demonstra uma margem de erro maior associada à medição. A consideração dos intervalos de confiança também ajuda a compreender os riscos potenciais do consumidor e do fabricante, uma vez que grandes variações podem levar a liberação de lotes erroneamente de produtos fora da especificação e da reaprovação indevida de lotes dentro da conformidade.

Portanto, este estudo destaca a importância fundamental de considerar as incertezas da amostragem e analítica em todos os processos de controle de qualidade de medicamentos injetáveis. Considerar esses fatores como elementos intrínsecos e interconectados do processo analítico é essencial para o aprimoramento da precisão e confiabilidade das análises e garantir que os produtos atendam as especificações e os padrões de qualidade especificados. O estudo também permite a conscientização sobre essas incertezas e serve como melhoria contínua dos procedimentos de controle de qualidade e estudos de validação de

métodos. Logo, ao considerar as incertezas pode garantir a qualidade e a segurança dos produtos que afetam diretamente a saúde e o bem estar dos pacientes.

## 6. REFERÊNCIAS

- BASQUES, José Carlos. USANDO CONTROLES NO LABORATÓRIO CLÍNICO, 2016. Disponível em: <[https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/11/Usando\\_Controles\\_no\\_Laboratorio\\_Clinico.pdf](https://labtest.com.br/wp-content/uploads/2016/11/Usando_Controles_no_Laboratorio_Clinico.pdf)>. Acesso em: 11 fev. 2023.
- BARBOSA, Janeide Alves. Distribuição de Poisson, 2014. Disponível em: <<https://dspace.bc.uepb.edu.br/jspui/bitstream/123456789/8241/1/PDF%20-%20Janeide%20Alves%20Barbosa.pdf>>. Acesso em: 28 ago. 2023.
- BUCHMANN, J. H.; SARKIS, J. E. DE S. O conceito de incerteza aplicado aos processos de medição associados à preparação de uma solução de referência para calibração. *Química nova*, v. 25, n. 1, p. 111–116, 2002.
- COSTA, Luís. Análise de risco da incidência de partículas visíveis em preparações injetáveis, 2020. Disponível em: <[https://run.unl.pt/bitstream/10362/112553/1/Costa\\_2020.pdf](https://run.unl.pt/bitstream/10362/112553/1/Costa_2020.pdf)>. Acesso em: 17 jul. 2023.
- DOMINGOS DA SILVA, José; PEREIRA, Amândio ; ARAUJO, Dias. CONTROLE DA QUALIDADE: UM ESTUDO DE CASO NO DEPARTAMENTO DE QUALIDADE DA EMPRESA AQUAVITA. [s.l.: s.n.], 2017. Disponível em: <<https://repositorio.ifpb.edu.br/xmlui/bitstream/handle/177683/721/Controle%20de%20qualidade%20um%20estudo%20de%20caso%20no%20departamento%20de%20qualidade%20da%20empresa%20Aquavita%20jos%C3%A9%20Roberto%20Domingos%20da%20Silva.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 17 jul. 2023.
- EURACHEM - Working Group. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. 2nd ed., EURACHEM, 2019.
- Farmacopeia Brasileira. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira>>. Acesso em: 02 Ago. 2023.

GUIMARÃES, P. R. B. Métodos Quantitativos Estatísticos. 1. ed. Curitiba: IESDE Brasil S.A., 2008.

FALAVIGNA, G. P. et al. Controle de qualidade aplicado a dados gravimétricos. Revista Brasileira de Geomática, v. 2, n. 1, p. 20, 2014.

ISHIHARA, M. M. Análise comparativa entre métodos analíticos de contagem de material particulado em medicamentos injetáveis. 2018. 41. f. Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia-Bioquímica – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

KIYATAKA, P. H. M. INCERTEZA DE MEDIÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS, 2006. Disponível em: <[https://ital.agricultura.sp.gov.br/arquivos/cetea/informativo/v18n1/v18n1\\_artigo2.pdf](https://ital.agricultura.sp.gov.br/arquivos/cetea/informativo/v18n1/v18n1_artigo2.pdf)>. Acesso em: 23 ago. 2023.

SEPAROVIC, L. et al. Measurement uncertainty and conformity assessment applied to drug and medicine analyses – A review. Critical reviews in analytical chemistry, v. 53, n. 1, p. 123–138, 2023.

OLIVEIRA, Camila Cardoso de Oliveira; et al. Incerteza de medição em ensaios físico-químicos: uma abordagem prática Incerteza de medição em ensaios físico-químicos: uma abordagem prática, 2015. Disponível em: <<https://docs.bvsalud.org/biblioref/ses-sp/2015/ses-32439/ses-32439-6169.pdf>>. Acesso em: 17 jul. 2023.

OLIVEIRA, ELCIO & LEITE, VIVIANE & AUCÉLIO, RICARDO. (2019). Estudo do impacto do processo de amostragem na incerteza de medição de alguns parâmetros físico-químicos em água subterrânea. Disponivel em:<[https://www.researchgate.net/publication/335727357\\_ESTUDO\\_DO\\_IMPACTO\\_DO\\_PROCESSO\\_DE\\_AMOSTRAGEM\\_NA\\_INCERTEZA\\_DE\\_MEDICAO\\_DE\\_ALGUNS\\_PARAMETROS\\_FISICO-QUIMICOS\\_EM\\_AGUA\\_SUBTERRANEA](https://www.researchgate.net/publication/335727357_ESTUDO_DO_IMPACTO_DO_PROCESSO_DE_AMOSTRAGEM_NA_INCERTEZA_DE_MEDICAO_DE_ALGUNS_PARAMETROS_FISICO-QUIMICOS_EM_AGUA_SUBTERRANEA)>. Acesso em: 04 ago. 202.

- PEREZ, M. et al. Particulate matter in injectable drugs: Evaluation of risks to patients. *Pharmaceutical technology in hospital pharmacy*, v. 1, n. 2, 2016.
- SHARMA, D. K. et al. Quantification and characterization of subvisible proteinaceous particles in opalescent mAb formulations using micro-flow imaging. *Journal of pharmaceutical sciences*, v. 99, n. 6, p. 2628–2642, 2010.

## 7. ANEXOS

*Matheus Silva*  
\_\_\_\_\_  
Electronically signed by:  
Matheus Silva  
Reason: I am the author of this  
document  
Date: Oct 10, 2023 13:15 ADT

Data e assinatura do aluno(a)

*Diego* 10/10/2023

Data e assinatura do orientador(a)