

VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA AVALIAÇÃO DE EMBALAGENS

*Elisabete Segantini Saron
Paulo Henrique M. Kiyataka*

A globalização, o comércio internacional e a crescente preocupação com qualidade de vida, saúde, nutrição e meio ambiente impulsionaram o mercado à criação de uma forte infra-estrutura internacional de medições, a qual está sendo implementada mundialmente, demonstrando a necessidade progressiva da obtenção de dados analíticos confiáveis, comparáveis e consistentes, para a eliminação de barreiras técnicas entre os países.

Para atingir este processo de reconhecimento mútuo no âmbito internacional, onde uma vez efetuada a medição, esta é aceita em qualquer país, requisitos legais, de certificação e de acreditação (credenciamento) devem ser observados. Normas internacionais (ISO, USP, FDA, AOAC, ASTM, NATA e outros) e sistemas de qualidade (Boas práticas de laboratório e ISO/IEC 17025:2001), requerem a validação de métodos analíticos e a documentação do trabalho de validação, para a obtenção de resultados confiáveis. Assim, verifica-se que existem fortes razões legais, técnicas e comerciais, que justificam a necessidade da validação de métodos analíticos (BARROS, 2005).

O laboratório, ao empregar métodos de ensaios químicos emitidos por organismos de normalização, organizações reconhecidas na sua área de atuação ou publicados em livros e/ou periódicos de grande credibilidade na comunidade científica, necessita demonstrar que tem condições de operar estes métodos normalizados de maneira adequada, dentro das condições específicas existentes nas suas instalações antes de implantá-los.

É fundamental que os laboratórios disponham de meios e critérios objetivos para demonstrar, através da validação, que os métodos de ensaio que executam conduzem a resultados confiáveis e adequados à qualidade pretendida. Se um método existente for modificado para atender aos requisitos específicos, ou um método totalmente novo for desenvolvido, o laboratório deve se assegurar de que as características de desempenho do método atendem aos requisitos para as operações analíticas pretendidas (INMETRO, 2003).

Uma ampla variedade de fatores torna qualquer resultado de medição analítica passível de se desviar do valor verdadeiro. Os efeitos da temperatura em vidrarias volumétricas, reflexão e dispersão da luz em instrumentos espectroscópicos, variações da voltagem na rede elétrica, interpretação de métodos especificados por parte de analistas individuais e outros fatores podem influenciar potencialmente no resultado. No que for razoavelmente possível, tais erros precisam ser minimizados por controles externos ou explicitamente corrigidos, por exemplo, pela aplicação de um fator de correção adequado. O desvio

exato de um único resultado de medição do valor verdadeiro (desconhecido) é, contudo, impossível de ser obtido. Isso ocorre porque os diferentes fatores variam de ensaio para ensaio e o efeito de cada fator sobre o resultado nunca é exatamente conhecido. Portanto, a possível faixa de desvios precisa ser estimada (LEITE, 1998).

A validação de métodos analíticos é um importante requisito para suporte às atividades de metrologia em análise química e de garantia da qualidade dos produtos nas indústrias químicas, farmacêuticas, alimentícias, de cosméticos e outras.

O INMETRO (2003) apresenta orientação da seqüência de atividades a serem desenvolvidas no planejamento e execução de uma validação, as quais seriam:

- Definição da aplicação, objetivo e escopo do método;
- Definição dos parâmetros de desempenho e critérios de aceitação;
- Desenvolvimento do procedimento operacional para validação;
- Definição dos experimentos de validação;
- Verificação se as características de desempenho do equipamento estão compatíveis com o exigido pelo método em estudo;
- Qualificação dos materiais a serem empregados (padrões, reagentes e outros);
- Execução dos experimentos preliminares de validação;
- Ajuste dos parâmetros do método e/ou critérios de aceitação, se necessário;
- Elaboração de procedimento operacional para execução do método;
- Definição dos critérios de revalidação (mudanças de pessoal, condições ambientais, equipamentos, periodicidade, etc.);
- Definição do tipo e freqüência de verificações de controle da qualidade analítica para a rotina;
- Execução dos experimentos com devido registro e documentação dos resultados obtidos.

O desempenho do método geralmente é verificado através dos parâmetros de especificidade e seletividade, faixa de trabalho, linearidade, sensibilidade (limite de detecção e limite de quantificação), exatidão, precisão (repetitividade, reprodutibilidade e precisão intermediária), robustez. A seguir são apresentadas explicações sucintas para cada parâmetro.

Especificidade e seletividade: estão relacionadas à capacidade que o método tem de detectar um ou mais de um analito. Quando um método produz resposta para apenas um analito é chamado de específico. Quando o método produz respostas para mais de um analito com capacidade de identificá-los, é chamado de seletivo.

Faixa de trabalho: é o intervalo compreendido entre a concentração mínima e máxima do analito no qual foi demonstrado ser possível a determinação com a precisão, exatidão e linearidade exigidas, nas condições especificadas para o ensaio.

Linearidade: a linearidade representa a capacidade que o método tem de produzir resultados diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra em uma dada faixa de concentração.

Sensibilidade: é um parâmetro que demonstra a variação da resposta em função da concentração do analito. Os parâmetros necessários para se definir a sensibilidade são os limites de detecção e de quantificação do equipamento e do método.

- a) Limite de detecção do equipamento: é definido como a concentração do analito que produz um sinal três a cinco vezes a razão ruído/sinal do equipamento.
- b) Limite de detecção do método: é definido como a concentração mínima de uma substância medida e declarada com 95 ou 99% de confiança de que a concentração do analito é maior que zero.
- c) Limite de quantificação: é definido como a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão e veracidade. Pode ser considerado como sendo a concentração do analito correspondente ao valor da média do branco da amostra mais 5, 6 ou 10 vezes o desvio-padrão.

Exatidão: é definida como sendo a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como convencionalmente verdadeiro. A exatidão representa os erros sistemáticos ou tendência do método.

Precisão: está relacionada com a dispersão de resultados de ensaios independentes de uma mesma amostra em condições definidas. A precisão geralmente é expressa por meio da repetitividade e reprodutibilidade e é usualmente expressa pelo desvio-padrão.

- a) Repetitividade: é o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas de uma mesma amostra, nas mesmas condições. Pode ser determinada por meio da análise de padrões, material de referência ou branco mais padrão em várias concentrações na faixa de trabalho.
- b) Reprodutibilidade: é a concordância entre os resultados de medições de um mesmo mensurando, utilizando a mesma metodologia, obtidos sob condições variadas de medição.
- c) Precisão intermediária: é obtida para ensaios conduzidos sob condições de reprodutibilidade (mesmo método) variando apenas algumas condições, como laboratório, operadores, equipamentos ou tempo.
- c) Robustez: mede a sensibilidade que um método analítico apresenta a variações de fatores como analistas, equipamentos, reagentes, etc. Um método é considerado robusto se revelar praticamente insensível a pequenas variações que possam ocorrer quando está sendo executado.

A verificação desses parâmetros ou variáveis analíticas permitem demonstrar se o método é adequado ao uso pretendido. Métodos analíticos usados para avaliação da qualidade de produtos farmacêuticos, alimentícios, cosméticos, agroquímicos e de embalagens estão sujeitos a vários requisitos legais e normativos internacionais.

Atualmente as metodologias para a validação de métodos analíticos na área farmacêutica já estão relativamente bem consolidadas no Brasil, uma vez que além de existirem os requisitos internacionais, a legislação brasileira também prevê esta

obrigatoriedade já há alguns anos, a fim de garantir com segurança as quantidades dos princípios ativos presentes em medicamentos.

A FDA, através da norma 21 CFR 211.194, apresenta requisitos de métodos de ensaios usados para avaliar a conformidade destes produtos com especificações estabelecidas que devem atingir padrões adequados de exatidão, precisão e confiabilidade. A farmacopéia americana USP 24 (Seção de Ensaios Gerais 1225) apresenta sugestões para a validação de métodos analíticos oficiais e apresenta um sumário das características de desempenho requeridas para os vários tipos de métodos de ensaios. A norma NBR ISO/IEC 17025 - Requisitos gerais para a competência dos laboratórios de ensaio e calibração - item 5.4.5, especifica o requisito técnico Validação de métodos analíticos (BARROS, 2005).

No segmento de embalagens para alimentos, a realização desta atividade tem se mostrado um desafio interessante, uma vez que não existem normas específicas para este fim, necessitando-se seguir e adaptar conceitos teóricos de normas existentes de validação de metodologias aplicadas a substâncias químicas, para metodologias de avaliação de materiais de embalagens, que em muitos casos possuem composição química desconhecida e também não se dispõe de amostras de referência.

A experiência que está sendo adquirida pela equipe do CETEA, com a habilitação de alguns ensaios para aprovação de materiais e embalagens para contato com alimentos junto à REBLAS - Rede Brasileira de Laboratórios Analíticos em Saúde da ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde, ocorrida em abril de 2004, segundo os requisitos da ISO/IEC 17025:2001, e também com o trabalho que está sendo desenvolvido com o objetivo de buscar a acreditação de ensaios de avaliação da qualidade de produtos como copos plásticos descartáveis, sacolas plásticas e painéis de pressão junto ao INMETRO, tem permitido verificar a importância e a complexidade envolvida na validação de metodologias analíticas para o segmento de embalagens.

As implementações de validações de metodologias analíticas garantem maior segurança na realização dos ensaios químicos e, conseqüentemente, resultados com qualidade que permitem o reconhecimento mútuo nos mercados nacional e internacional, promovendo, assim, a competitividade do segmento de embalagens nestes mercados.

Referências Bibliográficas

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para qualificação em química analítica. Uma assistência a acreditação. Brasília: ANVISA, 2004. 76p. (Série Acreditação – v.1).

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR ISO/IEC 17025: requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro, 2001. 20p.

BRASIL. Ministério da Saúde – Secretaria de Vigilância Sanitária. Resolução – RE n.899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos – métodos analíticos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 29 maio 2003, 12p.

BARROS C. B. Princípios da validação de métodos analíticos. Disponível em: <<http://www.cpti.com.br/artigos.htm>>. Acesso em: 09 set. 2005.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia Normatização e Qualidade Industrial. Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos - DOQ-CGCRE-008. Rio de Janeiro: Inmetro, 2003. Revisão 1, 35p.

LEITE, F. Validação em análise química. 3.ed. Campinas: Átomo, 1998. 224p.