

VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Sóstenes Rosa Valentini*, Willy Arno Sommer**, Graciette Matioli***[✉]

Valentini SR, Sommer WA, Matioli G. Validação de métodos analíticos. Arq Mudi. 2007;11(2):26-31.

RESUMO. Atualmente, quando todos os caminhos levam à busca da qualidade total, torna-se indispensável conhecer perfeitamente cada fase de um processo produtivo. Neste caso, a validação é a ferramenta adequada para garantir a confiabilidade de instalação de um processo produtivo, de equipamento novo e, inclusive, da metodologia analítica, em vários setores onde a qualidade do produto fabricado é uma das principais razões da existência da empresa. O presente trabalho teve por objetivo apresentar os principais aspectos da validação de métodos analíticos, buscando demonstrar que os resultados das análises executadas permitem uma avaliação dos parâmetros específicos da qualidade do produto, assegurando tanto a implantação do método como a confiabilidade dos resultados analíticos. A metodologia utilizada foi a revisão bibliográfica e pesquisas na Internet. Para se obter o conhecimento da capacidade de um método analítico deve-se considerar, simultaneamente, os seguintes itens: a exatidão, a precisão, a especificidade, a linearidade, a sensibilidade e a robustez com as devidas considerações estatísticas. Com base na literatura, concluiu-se que a qualidade dos dados analíticos representa um fator chave no sucesso de um programa de desenvolvimento de uma droga, e o processo do desenvolvimento e a validação do método, tem impacto direto na qualidade desses dados.

PALAVRAS-CHAVE: validação; métodos analíticos.

Valentini SR, Sommer WA, Matioli G. Validation of analytical methods. Arq Mudi. 2007;11(2):26-31.

ABSTRACT. Nowadays, when all approaches lead to the search for total quality, it is essential to know thoroughly each phase of a productive process. In this case, validation is the appropriate tool to guarantee the reliability of the installation of a productive process, a new equipment and, also, of the analytical methodology, in various sectors where the quality of the manufactured product is one of the major reasons of the existence of a company. The purpose of the present study was to present the major aspects of the validation of analytical methods, aiming at demonstrating that the results of the analyses allow an evaluation of specific parameters of the quality of the product, assuring both the implantation of the method and the reliability of the analytical results. The methodology used was a literature review and research on the Internet. Acquiring the knowledge of the capacity of an analytical method, the following items must be considered at the same time: accuracy, precision, specificity, linearity, sensitivity and robustness with the due statistical considerations. From the literature, it was concluded that the quality of the analytical data represents a key factor in the success of a drug development program, and the process of development and validation of the method has a direct impact on the quality of those data.

KEY WORDS: validation; analytical methods.

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, muito se tem falado sobre validação, certificação e qualificação de instalações,

equipamentos, processos e metodologia analítica, porém a falta de uma padronização de linguagem do setor cria uma barreira para o entendimento

*Farmacêutica Industrial da UPM/LEPEMC (Unidade de Produção de Medicamentos/Laboratório de Ensino, Pesquisa e Extensão em Medicamentos e Cosméticos) da Universidade Estadual de Maringá; **Docente do Departamento de Engenharia de Produção da Universidade Federal de Santa Catarina; ***Docente do Departamento de Farmácia e Farmacologia da Universidade Estadual de Maringá. [✉]Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Farmácia e Farmacologia, Av. Colombo, 5790, Bloco P02 - CEP: 87020-900, Maringá-PR. e-mail: gmatioli@uem.br.

total dos termos (Athaide, 2000).

Validar um processo, equipamento, sistema ou metodologia é tornar legítimo, através do estabelecimento de documentações, tudo que envolve o processo de produção e controle de qualidade, desde as condições do ambiente, até os insumos e matérias-primas que entram em sua composição. Em outras palavras, validar significa garantir que o produto seja sempre fabricado da mesma forma, com a mesma qualidade e dentro dos limites de tolerância, rigorosamente, pré-estabelecidos (Athaide, 2000; Moretto, Shib, 2000; Emanuelli, 2000; Nicolósi, 2003).

A escolha de uma metodologia analítica adequada é de fundamental importância para o procedimento do controle de qualidade de uma substância ativa ou forma farmacêutica. Espires (1998) relatou que a aplicabilidade dos métodos oficiais na análise de medicamentos nem sempre é possível de ser realizada, considerando a grande diversificação nas formulações farmacêuticas. Assim, a validação de um método analítico não significa que este possa ser aplicado sem restrições para diferentes medicamentos com o mesmo princípio ativo, uma vez que os resultados das análises são influenciados por inúmeros fatores como: a estrutura química do fármaco; o nível das doses terapêuticas, e as diferenças nas fórmulas de um laboratório para outro. Para cada caso há necessidade de resultados experimentais evidentes, que garantam a funcionalidade do método, bem como do tratamento analítico adequado, da avaliação estatística dos resultados e da definição dos critérios de aceitação.

De acordo com a United States Pharmacopeia XXIV (2000), validação de métodos analíticos “é o processo pelo qual é estabelecido, por estudos de laboratório, que as características executadas do método satisfazem os requisitos para as aplicações analíticas praticadas”. As características analíticas típicas usadas na validação de métodos são: exatidão, precisão, especificidade, limite de detecção, limite de quantificação, linearidade, intervalo de aceitação, robustez ou resistência e conformidade do sistema (Espires, 1998; Pecora, 2000; Pinto et al., 2003).

A realização da validação deve ser executada:

- i) sempre que de forma direta ou indireta o processo de fabricação tenha sido alterado;
- ii) quando a qualidade final do produto for duvidosa;
- iii) em equipamentos novos e
- iv) em caso de implantação de um processo ou método analítico novo (Emanuelli, 2000; Pasteelnick, 1993).

O objetivo do trabalho foi apresentar, com base na literatura, os principais aspectos da validação de métodos analíticos. Serão abordadas

considerações sobre qualidade, garantia de qualidade e produtos farmacêuticos, que servirão de base para situar e compreender os fundamentos da validação da metodologia analítica e dos elementos requeridos para a validação do doseamento.

DESENVOLVIMENTO

Considerações sobre Qualidade

Segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT/NBR ISO 8402 (1994), o termo qualidade é definido como a “totalidade de características de uma entidade que lhe confere a capacidade de satisfazer as necessidades explícitas e implícitas”, e para a obtenção da qualidade satisfatória há o envolvimento das fases do ciclo da qualidade como um todo, que são: a qualidade devido à definição das necessidades, a qualidade devido ao projeto do produto, a qualidade devido à conformidade e a qualidade devido à assistência ao produto ao longo do seu ciclo de vida. Instala-se, então, o Controle de Qualidade Total (CQT).

Com a implantação do CQT surge a necessidade de se buscar a Garantia da Qualidade. Uma infra-estrutura apropriada ou “sistema da qualidade”, englobando a estrutura organizacional, os procedimentos, os processos e os recursos e ações sistemáticas precisas para assegurar a confiança necessária de que determinado produto ou serviço satisfaça as exigências quanto à sua qualidade. A totalidade dessas ações é chamada de Garantia da Qualidade (Moretto, 1999).

Garantia de Qualidade e os Produtos Farmacêuticos

O conceito de Garantia de Qualidade é definido como a totalidade das providências tomadas com o objetivo de garantir que os produtos farmacêuticos estejam dentro dos padrões de qualidade exigidos, para que possam ser utilizados para os fins aos quais tenham sido propostos, englobando ainda as questões que individual ou coletivamente influem na qualidade de determinado produto (Moretto, 1999).

Um programa apropriado de garantia de qualidade, aplicado à fabricação de produtos farmacêuticos, deverá assegurar que:

- i) estes produtos sejam projetados e desenvolvidos de forma que levem em consideração as necessidades das boas práticas de Fabricação, boas práticas de Laboratório e de boas práticas Clínicas;
- ii) as operações de produção e controle sejam claramente especificadas por escrito e que as exigências de boas práticas de Fabricação sejam adotadas;

- iii) as responsabilidades gerenciais estejam claramente especificadas na descrição dos serviços;
- iv) sejam tomadas providências quanto à fabricação, ao suprimento e a utilização correta das matérias-primas e materiais de embalagem;
- v) todos os controles necessários sobre as matérias-primas, produtos intermediários, produtos a granel e outros controles em processo, além das calibrações e das validações, sejam realizados;
- vi) produto acabado seja corretamente processado e conferido segundo procedimentos definidos;
- vii) os produtos farmacêuticos não sejam vendidos ou fornecidos antes que o pessoal autorizado ateste que cada lote tenha sido fabricado e controlado de acordo com os requisitos do registro e os regulamentos relevantes quanto à sua produção, controle e liberação;
- viii) sejam tomadas as providências necessárias para garantir, tanto quanto possível, que os produtos farmacêuticos sejam armazenados pelo fabricante, distribuídos e conseqüentemente manuseados de forma que a qualidade dos mesmos seja mantida por todo o prazo de validade.
- ix) haja procedimento de auto-inspeção e/ou auditoria da qualidade, que avaliem regularmente a efetividade e a aplicação do sistema de garantia da qualidade.
- x) exista a validação de metodologias analíticas, processos, limpeza e equipamentos dentro da empresa.

Fundamentos da Validação da Metodologia Analítica

A temática da qualidade, segundo Moretto, Shib (2000), tem sofrido evolução sem precedentes e reconhece quatro eras: a) era da qualidade da inspeção, b) era da qualidade do controle estatístico, c) era da qualidade da garantia e d) era da qualidade da gestão estratégica. Nos últimos 15 a 20 anos tem sido possível identificar a quinta era da qualidade: era da validação, sendo este trabalho coerente com a mesma.

De acordo com Moretto (1999) a indústria farmacêutica deve se responsabilizar pela qualidade dos produtos farmacêuticos, assegurando a adequabilidade dos mesmos com relação aos fins para os quais tenham sido produzidos, e cumprir com as exigências relativas ao registro, não colocando os pacientes em risco, em função de sua inadequabilidade em termos de segurança, qualidade ou eficácia. Assim, para se conseguir alcançar o objetivo da qualidade de forma confiável, é necessário a implantação de um sistema de garantia de qualidade, que incorpore as normas de boas práticas de Fabricação e de

Laboratório, no qual os estudos da validação constituem parte essencial destas normas.

O conceito do termo validação era utilizado em análises na Química Analítica Inorgânica, a fim de assegurar que o elemento químico analisado correspondia ao da questão. A capacidade de fornecer dados oportunos, exatos e confiáveis é parte central do papel da Química Analítica e isto é especialmente verdadeiro na descoberta, desenvolvimento e fabricação de produtos farmacêuticos. Os dados analíticos são usados na seleção de candidatos a drogas potenciais, no auxílio do desenvolvimento de sínteses de drogas, nos estudos de apoio de formulações, no monitoramento da estabilidade de fármacos em volume e nos produtos formulados e nos testes de produtos acabados para liberação.

A qualidade dos dados analíticos representa um fator chave no sucesso de um programa de desenvolvimento de uma droga. O processo do desenvolvimento e validação do método tem impacto direto na qualidade desses dados. Assim, a metodologia analítica que já envolvia a exatidão, precisão e especificidade, se expandiu para as atividades industriais e está agora sob o enfoque da validação (Moretto, Shib, 2000).

De acordo com Moretto, Shib, (2000) o primeiro registro que se tem do uso oficial do termo validação, encontra-se nas Good Manufacturing Products - GMPs, as quais foram publicadas na Food and Drug Administration – FDA em 1978, porém somente em 1980 recebeu a seguinte definição: “Validação é o estabelecimento da evidência documentada de que o desenvolvimento de um processo específico permite cumprir com o objetivo para o qual foi desenhado”. Em 1983, a FDA define validação de processos como “um programa documentado que proporciona um alto grau de segurança de que um processo específico produzirá uma forma farmacêutica que satisfaz as especificações e atributos de qualidade pré-determinados”. Em 1992, a validação de métodos e processos foi adotada nas GMPs da Organização Mundial da Saúde – OMS.

Segundo a United States Pharmacopeia XXIV (2000), os analistas não são obrigados a validar sua metodologia analítica, devem verificar se a metodologia é adequada as suas condições de uso. Porém, se não houver um método ou série de métodos devidamente adequados para a avaliação da qualidade dos produtos, o programa de validação terá valor limitado (Pasteelnick, 1993; Nicolósi, 2003).

O fato de validar uma metodologia, não significa que esta possa ser usada

indiscriminadamente, como por exemplo, na determinação de um mesmo princípio ativo em diferentes apresentações de diferentes laboratórios. Para cada caso há necessidade de resultados experimentais e respectivas análises estatísticas, assim como o estabelecimento de aceitação para garantir o emprego seguro da metodologia em questão (Garfield, 1994).

Com relação à validação de métodos, Espires apud Garfield (1994) relatou que esta pode ser definida como “o processo pelo qual atributos ou figuras de mérito são determinados e avaliados, sendo estes importantes partes de um programa de garantia de qualidade”, tendo como objetivo principal assegurar que determinado procedimento analítico selecionado dê resultados reprodutíveis e confiáveis, que sejam adequados aos fins para os quais tenha sido planejado.

Os atributos normalmente recomendados nos programas de validação de metodologia analítica são: exatidão (acuracidade), precisão, especificidade, limite de detecção, limite de quantificação, linearidade, consistência, robustez e teste de conformidade do sistema, além da seletividade e a sensibilidade do método (Emanuelli, 2000; Pinto et al., 2003).

A exatidão de um método analítico é a proximidade dos resultados por ele obtido comparado ao valor verdadeiro (Emanuelli, 2000). Estes resultados são calculados pela diferença entre o valor da concentração considerado como verdadeiro e o valor experimental, obedecendo a intervalos de segurança (United States Pharmacopeia XXIV, 2000; Pinto et al., 2003).

A precisão é o grau de concordância entre os resultados de cada teste quando aplicado repetidamente a várias amostras de uma mesma amostra. A partir dos valores obtidos, são calculados a média e o Desvio Padrão (DP), determinando-se o Coeficiente de Variação (CV), expresso em termos de porcentagem de uma série de medidas, nas quais duas delas podem ser a reprodutibilidade e a repetibilidade do método analítico sob condições normais de operação. Neste contexto, a reprodutibilidade refere-se ao uso de procedimentos analíticos em diferentes laboratórios, diferentes analistas e em diferentes dias, enquanto que a repetibilidade refere-se ao uso de procedimentos analíticos num curto espaço de tempo utilizando os mesmos analistas e os mesmos equipamentos. Para inúmeros propósitos, a repetibilidade é o critério que interessa em um método analítico oficial (United States Pharmacopeia XXIV, 2000; Pinto et al., 2003).

Segundo Pasteelnick (1993), a exatidão e a precisão são importantes atributos da validação de

metodologia analítica. O primeiro deles pressupõe que não existem erros sistemáticos inerentes ao processo, enquanto que o segundo reflete a dispersão dos vários resultados individuais do doseamento em relação ao valor médio estando ou não próximo do valor verdadeiro. Porém, existem inúmeros fatores que podem comprometê-los causando erros ocasionais, por exemplo, a calibração de equipamentos, habilidade e capacitação do analista, temperatura irregular do laboratório, umidade, componentes da amostra.

Outra característica da validação da metodologia analítica é a especificidade ou seletividade. Este atributo é definido como sendo a capacidade de medir exata e especificamente o fármaco na presença de outros constituintes da amostra (United States Pharmacopeia XXIV, 2000; Pinto et al., 2003). Pode ser demonstrada comparando os resultados dos testes de amostras contendo impurezas ou produtos de degradação, ou ainda através do placebo, com valores encontrados após análise da amostra sem os interferentes.

O limite de detecção e quantificação são outros dois atributos da validação analítica. O primeiro refere-se a menor quantidade de uma substância presente em uma amostra que possa ser detectado, porém sem quantificá-lo. É expresso em percentual ou partes por bilhão. O segundo, está relacionado a menor quantidade de um composto presente em uma amostra que possa ser determinado com precisão e acuracidade aceitáveis sob condições experimentais declaradas (United States Pharmacopeia XXIV, 2000; Pinto et al., 2003).

A linearidade é a habilidade que o método tem de produzir resultados que são diretamente, ou através de transformações matemáticas, proporcionais à concentração da substância em análise na amostra, dentro de uma variação determinada. Este atributo da validação pode ser estabelecido pela avaliação visual de um diagrama de sinais em função da concentração ou conteúdo analisado. Havendo uma relação linear, os resultados da análise devem ser avaliados com base em apropriados métodos estatísticos, como por exemplo, o método dos quadrados mínimos (Estados Unidos da América, 1996).

A variação refere-se ao intervalo entre o maior e o menor nível de quantidade da substância presente na amostra. Deriva geralmente dos estudos da linearidade e depende da aplicação do procedimento. Confirma que o procedimento analítico fornece um aceitável grau de exatidão, precisão e linearidade quando aplicados em amostras que contém quantidades variáveis do

analisado, dentro ou nos extremos da variação especificada (Estados Unidos da América, 1996; Emanuelli, 2000).

A consistência do método é o grau de reprodutibilidade dos resultados obtidos das análises de mesmas amostras sob várias condições, por exemplo, diferentes: laboratórios; analistas; equipamentos; dias. Esta característica é expressa como a falta de conhecimento nos resultados operacionais e variações do meio ambiente dos métodos analíticos (United States Pharmacopeia XXIV, 2000).

Segundo a mesma referência (United States Pharmacopeia XXIV, 2000), a robustez do método é a medida da capacidade que o método apresenta em se manter inalterável através de pequenas, mas deliberadas modificações em seus parâmetros, e fornecer indicações de segurança durante o uso normal.

Elementos Requeridos para a Validação do Doseamento

Na literatura oficial, para o ensaio de doseamento podem ocorrer grandes variações nas suas determinações, desde determinações analíticas altamente exatas até avaliação subjetiva de

atributos. Considerando esta variedade de doseamentos, diferentes métodos necessitam de diferentes programas de validação. Desta forma, a United States Pharmacopeia XXIV, (2000) classifica os métodos analíticos em quatro categorias:

- i) categoria I: métodos analíticos para a quantificação do maior componente de uma grande quantidade de substâncias químicas ou ingrediente ativo em produto farmacêutico final;
- ii) categoria II: métodos analíticos para a determinação de impurezas em uma grande quantidade de substâncias químicas ou compostos de degradação em produto farmacêutico final. Estes métodos incluem doseamentos quantitativos e testes limites;
- iii) categoria III: métodos analíticos para a determinação de características de desempenho;
- iv) categoria IV: são os testes de identificação.

De acordo com a categoria do doseamento, há necessidade de se realizar diferentes análises. O Quadro 1 lista os elementos que normalmente são requeridos para cada uma das categorias dos doseamentos.

Quadro 1. Elementos de dados requeridos para validação de doseamentos.

Características de desempenho analítico	Doseamento Categoria I	Doseamento Categoria II		Doseamento Categoria III	Doseamento Categoria IV
		Testes Quantitativos	Testes Limites		
Acuracidade	Sim	Sim	*	*	Não
Precisão	Sim	Sim	Não	Sim	Não
Especificidade	Sim	Sim	Sim	*	Sim
Limite de Detecção	Não	Não	Sim	*	Não
Limite de Quantificação	Não	Sim	Não	*	Não
Linearidade	Sim	Sim	Não	*	Não
Varição	Sim	Sim	*	*	Não

*Pode ser requerido dependendo da natureza do teste específico
 Fonte: United States Pharmacopeia XXIV (2000)

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Na constante busca pela satisfação dos clientes, internos e externos, destacam-se as empresas voltadas para o programa de Qualidade Total, cuja qualidade do processo é uma das

características de destaque. Para que o processo possa resultar em produto ou serviço que corresponda a uma necessidade, utilização ou aplicação que satisfaça o cliente, este deve atender as especificações, estar disponível e proporcionar

lucro. Desta forma, a análise dos principais atributos da validação de metodologia analítica de um fármaco, assegura tanto a implantação da metodologia como a confiabilidade dos resultados analíticos.

A validação é um dos principais instrumentos da garantia de qualidade, tornando-se ultrapassado o conceito de apenas controlá-la. Com este intuito, este trabalho proporcionou condições para se ter uma visão mais ampla da validação, em particular da validação de metodologia analítica, bem como sua importância para outros setores da empresa.

Através da revisão bibliográfica, constatou-se que a validação é a ferramenta adequada para garantir a confiabilidade de instalação de um processo produtivo, de equipamento e, inclusive de metodologia analítica, nos diversos setores onde a qualidade do produto fabricado seja uma das principais razões da existência da empresa.

O modelo proposto de validação da metodologia analítica possibilita: melhorar o entendimento do processo; conhecer o potencial de falhas e adotar medidas preventivas. Com estas características alcançadas, pode-se assegurar o cumprimento das normas regulatórias. Quando os resultados dos métodos são conclusivos e concretos, aumenta-se a credibilidade do departamento do controle de qualidade, da produção e da garantia da qualidade.

Com base na literatura, concluiu-se que a qualidade dos dados analíticos representa um fator chave no sucesso de um programa de desenvolvimento de uma droga e o processo do desenvolvimento e validação do método tem impacto direto na qualidade desses dados. Porém, ao se validar um método analítico, não significa que este possa ser aplicado sem restrições para diferentes medicamentos com o mesmo princípio ativo. Para cada caso há necessidade de resultados experimentais evidentes que garantam a funcionalidade do método, bem como, do tratamento analítico adequado, da avaliação estatística dos resultados e da definição dos critérios de aceitação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Athaide A. Validação comprova e documenta qualidade dos produtos e equipamentos. Controle de Contaminação. 2000;maio/jun.:16-22.

Brasil. Associação Brasileira de Normas Técnicas. ABNT/94 – ISO 8402. International Standartization Organization 8402 - “Quality Vocabulary”-

Emanuelli T, Scanduzzi M. Validação de processos na indústria farmacêutica. In: Congresso de Produtos Farmacêuticos e Cosméticos. 2000; Rio Grande do Sul: Universidade do Rio Grande do Sul. Anais. 2000. p.57.

Espires RC. Aspectos da metodologia analítica do metronidazol. São Paulo: USP, 1998. 136 p. [Dissertação – Mestrado em Ciências Farmacêuticas]. Universidade de São Paulo; 1998.

Estados Unidos da América. Food and Drug Administration. Conferência Internacional sobre harmonização, minuta de diretriz sobre a validação de procedimentos analíticos: Metodologia, disponibilidade, notificação. Departamento de Saúde e Serviços Humanos, Rockville; 1996. 24p.

Garfield FM. Quality assurance principles for analytical laboratories. Arlington: Association of Official Analytical Chemistry International; 1994. p.220.

Moretto LD. Supervisão da produção. 3.ed. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo; 1999. p.129.

Moretto LD, Shib M. A era da validação. Pharmaceutical Technology. 2000;4:4-48.

Nicolósi M. Validação de métodos analíticos. Controle de Contaminação. 2003;54:12-21.

Pasteelnick LA. Analytical methods validation. In: Berry IR, Nash RA. Pharmaceutical process validation. New York: Marcel Dekker; 1993. p.411-28.

Pecora M. Validação de métodos analíticos. São Paulo: UNIFAR, 2000. 45p. Apostila (Curso de Validação) – União Farmacêutica de São Paulo; 2000.

Pinto TJA, Ferrarini M, Gatti RM. Proposta de roteiro prático para a validação de métodos analíticos. Farmácia & Química. 2003;36:26-36.

United States Pharmacopeia. 24.ed. Rockville U.S.: Pharmacopeial Convention; 2000. p.2149-63.

Recebido em: 28.03.06

Aceito em: 22.04.07

Revista indexada no *Periodica*, índice de revistas Latino Americanas em Ciências <http://www.dgbiblio.unam.mx> (ISSN 1980.959X).

Continuação de: Arquivos da Apadec (ISSN 1414.7149)