

AValiação DA INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS DE VALIDAÇÃO E TESTES ESTATÍSTICOS NA QUALIDADE DA METODOLOGIA ANALÍTICA APLICAVEL À INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

DA SILVA, Mayara Bueno; DOS SANTOS, Cleberson Williams

e-mail : mayarabueno.silva@hotmail.com

Centro de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão Oswaldo Cruz

Resumo: *O ramo da indústria farmacêutica vem crescendo cada vez mais com o passar dos anos e com isso os órgãos reguladores, com o intuito de garantir a qualidade e eficácia dos produtos ofertados, vem cobrando de uma maneira mais rigorosa a comprovação da qualidade demonstrada. Para garantir a qualidade do produto final, o mesmo deve ser avaliado através de um método analítico que gere informações confiáveis e interpretáveis, garantidas por meio de uma avaliação, denominada validação analítica. A validação analítica consiste na avaliação de um método por meio de ensaios experimentais de modo a confirmar e fornecer evidências objetivas de que os requisitos específicos para seu uso pretendido são atendidos. Para tal, existem diversos teste que são classificados por categoria de acordo com sua finalidade, além de um conjunto de parâmetros de validação. Conhecer e entender os parâmetros de validação, suas aplicações e corretas aplicações é fundamental para gerar uma metodologia confiável e que atenda a finalidade pretendida e para isso, é imprescindível contar com profissionais habilitados, materiais certificados, e equipamentos devidamente calibrados a fim de comprovar que o método utilizado é adequado para garantir confiabilidade nas análises e consequentemente gerar a qualidade desejada do produto final.*

Palavras-chave: Validação analítica. parametros de validação. indústria farmaceutica

Abstract: *The branch of the pharmaceutical industry has been growing more and more over the years and with that the regulatory bodies, in order to guarantee the quality and efficacy of the products offered, have been demanding in a more rigorous way the proof of the demonstrated quality. To guarantee the quality of the final product, it must be evaluated through an analytical method that generates reliable and interpretable information, guaranteed through an evaluation, called analytical validation. Analytical validation consists of evaluating a method through experimental tests in order to confirm and provide objective evidence that the specific requirements for its intended use are met. For this, there are several tests that are classified by category according to their purpose, in addition to a set of validation parameters. Knowing and understanding the validation parameters, their applications and correct applications is essential to generate a reliable methodology that meets the intended purpose and for that, it is imperative to have qualified professionals, certified materials, and properly calibrated equipment in order to prove that the The method used is adequate to guarantee reliability in the analyzes and consequently generate the desired quality of the final product.*

Keywords: Analytical validation. validation parameters. pharmaceutical industry

1. INTRODUÇÃO

Com o passar dos anos, a saúde pública no Brasil e o setor farmacêutico tem passado por importantes transformações, principalmente no que diz respeito a regulamentação do sistema único de saúde (SUS), criação da agência nacional de vigilância sanitária (ANVISA) e progressos tecnológicos da indústria farmacêutica, a fim de garantir o acesso aos medicamentos considerados essenciais, seu uso racional e proporcionar medicamentos cada vez mais eficazes e seguros, contribuindo para o aumento da qualidade e da expectativa de vida da população (PORTELA, 2010).

Desse modo, com o intuito de garantir a qualidade e segurança no uso dos medicamentos, a ANVISA, por meio de legislações e exigências, cobra cada dia mais das indústrias farmacêuticas a comprovação que seus produtos atendam aos critérios de segurança, qualidade e eficácia. Para garantir a qualidade do produto final, o mesmo deve ser avaliado através de um método analítico que gere informações confiáveis e interpretáveis, garantidas por meio de uma avaliação, denominada validação analítica (DOS SANTOS, 2016; LA ROCA, 2007).

A validação analítica é a avaliação sistemática de um método por meio de ensaios experimentais de modo a demonstrar que o método analítico produz resultados confiáveis e é adequado à finalidade a que se destina, de forma documentada e mediante critérios objetivos (RDC166/2017).

Para tal, existem diversos teste que são classificados por categoria de acordo com sua finalidade, além de um conjunto de parâmetros de validação classificados como: seletividade, linearidade, efeito matriz, faixa de trabalho, precisão, exatidão, limite de detecção, limite de quantificação e robustez, que devem ser atendidos (RDC166/2017).

De acordo com a resolução RDC 166, de 24 de julho de 2017, os parâmetros de validação e seus respectivos critérios de aceitação devem ser definidos de acordo com as características do analito e da natureza do método. Abordagens alternativas devem ser tecnicamente justificadas baseada em referencias científicas reconhecidas.

O processo de validação, se desenvolvido baseado nas resoluções brasileiras, que determinam os parâmetros da validação mínimos necessários a fim de comprovar a qualidade analítica de uma metodologia, gera resultados confiáveis atendendo aos mais altos critérios de qualidade. Com isso, conhecer e entender os parâmetros de validação e suas corretas aplicações é fundamental para gerar uma metodologia confiável e que atenda a finalidade pretendida (DOS SANTOS, 2016).

O presente trabalho desenvolveu uma abordagem qualitativa de natureza descritiva, baseado em levantamentos bibliográficos de bancos de dados com confiabilidade comprovada a fim de demonstrar que o processo de validação, se desenvolvido baseado nas resoluções brasileiras, avaliando os parâmetros da validação mínimos necessários, comprova a qualidade de uma metodologia analítica e gera resultados confiáveis atendendo aos mais altos critérios de qualidade.

Com isso, a fim de demonstrar como a escolha dos parâmetros de validação e os testes estatísticos influenciam na qualidade final da metodologia analítica, serão discutidos os parâmetros de validação e suas aplicações, com o intuito de facilitar o entendimento e consequentemente gerar maior confiabilidade e segurança nos resultados, beneficiando de forma geral os consumidores do produto final.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Validação analítica

De forma geral, a validação analítica consiste em demonstrar que o método analítico é adequado para o seu propósito (INMETRO). 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 (VALLENTINI,2007).

O termo “validação” recebeu várias definições, sendo que do ponto de vista prático, pode-se dizer que um método, após ser desenvolvido, deve ser submetido a um processo de avaliação que estime sua eficiência e mérito. Este processo costuma ser chamado de validação. Um método será considerado validado se suas características estiverem em conformidade com os pré-requisitos exigidos (DE AMARANTE JUNIOR,2001).

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 (VALLENTINI,2007).

De acordo com as legislações vigentes, a validação analítica deve ser realizada quando se desenvolve ou se efetua adaptações em metodologias já validadas, inclusão de novas técnicas ou uso de diferentes equipamentos. As definições, os parâmetros, os experimentos, os cálculos e os critérios relacionados à validação da metodologia analítica podem diferir de acordo com o órgão regulamentador e a classificação da metodologia analítica (INMETRO).

De acordo com a legislação atual da ANVISA, RDC 166/2017, os parâmetros de validação de métodos analíticos envolvem Seletividade, Linearidade, Exatidão, Precisão (repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade), Limite de Detecção (LD), Limite de Quantificação (LQ) e Robustez.

A escolha dos parâmetros de validação e testes estatísticos aplicais a cada avaliação, visa, de uma maneira geral, aprimorar os atributos de qualidade do produto avaliado. Para isso, além dos parâmetros citados, é necessário o desenvolvimento de um método conforme as legislações vigentes, capaz de identificar e quantificar todos os picos de interesse de forma seletiva, linear, precisa e exata, atendendo as finalidades pretendidas (RDC166/2017).

Na indústria farmacêutica, a metodologia analítica utilizada pode ser classificada em diferentes categorias, de acordo com o quadro a seguir (1) (RDC166/2017):

Parâmetro Avaliado	Identificação	Teste de Impurezas		Doseamento
		Quantitativo	Ensaio Limite	-dissolução (quantificação) -uniformidade de conteúdo -potência
Exatidão	não	sim	não	Sim
Precisão Repetibilidade	não	sim	não	Sim
Precisão Intermediária	não	sim ⁽¹⁾	não	sim ⁽¹⁾
Seletividade ⁽²⁾	sim	sim	sim	sim
Limite de Detecção	não	não ⁽³⁾	sim	não
Limite de quantificação	não	sim	não	não ⁽³⁾
Linearidade	não	sim	não	sim
Intervalo	não	sim	não	sim

(1)

- (1) Nos casos em que foi conduzida a reprodutibilidade, não é necessário conduzir a precisão intermediária.
- (2) Nos casos de ensaios de identificação, pode ser necessária a combinação de dois ou mais procedimentos analíticos para atingir o nível necessário de discriminação.
- (3) Pode ser necessário em alguns casos.

Testes de identificação: têm como objetivo garantir a identidade de um analito em uma amostra. Isso normalmente é alcançado pela comparação de uma propriedade da amostra com a de um padrão de referência (ICH-Q2(R1),2005).

Teste de impurezas: pode ser um teste quantitativo ou um ensaio limite de impurezas em uma amostra. São necessárias características de validação diferentes para um teste quantitativo e para um teste limite uma vez que ensaios limite permitem verificar apenas se a quantidade do analito está acima ou abaixo de um nível previamente estabelecido, sem o quantificar com precisão e exatidão (ICH-Q2(R1),2005;RDC166/2017).

Métodos de doseamento são destinados para medir o analito presente numa dada amostra. O analito é o principal ou os principais componentes da fórmula, ou seja, o(s) ativo(s) (ICH-Q2(R1),2005).

Dessa forma, entende-se que o processo de validação analítica é essencial para definir se métodos desenvolvidos estão completamente adequados aos objetivos a que se destinam, a fim de se obter resultados confiáveis que possam ser satisfatoriamente interpretados (RDC166/2017).

2.2.Seletividade

Não é exageiro classificar o parâmetro de seletividade como o mais importante dentre todos os parâmetros de validação, uma vez que o mesmo, quando não atendendo seus critérios mínimos, que serão discutidos posteriormente, influenciam significativamente nos demais parâmetros de validação (DE AMARANTE JUNIOR,2001).

A seletividade, segundo a RDC 166/2017, consiste na capacidade do método analítico de identificar ou quantificar o analito de interesse, inequivocamente, na presença de componentes que podem estar presentes na amostra, como impurezas, diluentes e componentes da matriz.

Para isso, um método analítico precisa apresentar resolução adequada entre os picos de interesse, além de boa sensibilidade e assimetria dos picos avaliados. Em análises cromatográficas, é necessário demonstrar pureza de pico, a fim de comprovar a ausência de interferentes (DE AMARANTE JUNIOR,2001; RDC166/2017).

O parâmetro de resolução é calculado usando a separação de dois picos através da largura da sua base. A equação da resolução mostrada (2), demonstra que a resolução é afetada por três parâmetros importantes: eficiência, seletividade e retenção (DE AMARANTE JUNIOR,2001; Farmacopeia americana – USP):

$$R_s = \underbrace{1/4\sqrt{N}}_{\text{Efficiency}} \times \underbrace{\frac{\alpha-1}{\alpha}}_{\text{Selectivity}} \times \underbrace{\frac{k}{1+k}}_{\text{Retention}} \quad (2)$$

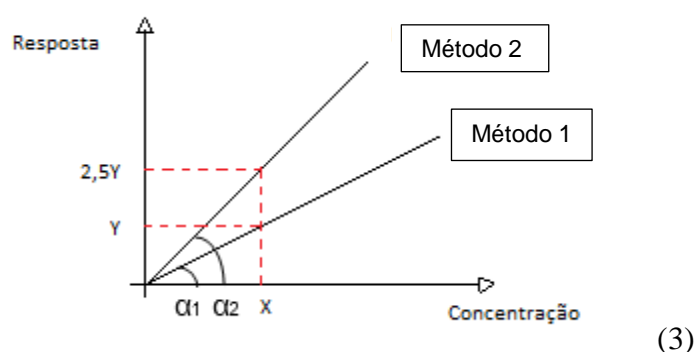
COLLINS,2006

A eficiência de um pico cromatográfico é uma medida da dispersão do analito durante a corrida cromatográfica à medida que o mesmo elui pelo sistema e coluna. O número de pratos teóricos (N) reflete o desempenho da coluna uma vez que cada prato teórico consiste na distância pela qual os componentes da amostra alcançam um equilíbrio entre a fase móvel e a fase estacionária na coluna. Portanto, quanto mais pratos teóricos disponíveis dentro de uma coluna, mais equilíbrios são possíveis e melhor a qualidade da separação, ou seja, quanto mais pratos teóricos uma coluna possui, mais estreitos e eficientes são os picos (DE AMARANTE JUNIOR,2001; Farmacopeia americana – USP).

A seletividade (α) é a capacidade que o sistema cromatográfico possui de distinguir os componentes presentes na amostra através de suas características químicas e devido a isso, pode sofrer grande influência de algumas condições cromatográficas como proporção e pH de fase móvel e composição da fase estacionária (DE AMARANTE JUNIOR,2001; Farmacopeia americana – USP).

O fator de retenção (k) é um meio de medir a retenção de um analito na coluna cromatográfica através da razão do tempo de retenção do analito e o tempo de retenção de um composto não retido (composto que não possui afinidade com a fase estacionária, eluindo no “volume morto”) (DE AMARANTE JUNIOR,2001; Farmacopeia americana – USP).

No que diz respeito à sensibilidade de uma metodologia analítica, a mesma pode ser avaliada através da comparação dos coeficientes angulares (α) de diferentes metodologias. Um ganho na sensibilidade é observado quando em uma mesma concentração (x) o método é capaz de gerar uma maior resposta (y), conforme demonstrado na figura (3) (DE AMARANTE JUNIOR,2001; Farmacopeia americana – USP):



Em métodos sensíveis, uma pequena diferença na concentração do analito causa grande variação no valor do sinal analítico medido, dessa forma, optar por uma método com uma sensibilidade maior, auxilia na escolha de um preparo de amostra com uma concentração menor, gerando uma necessidade de quantidades menores do analito, além de menores quantidade de padrões de referencia. Com isso, em análises cromatográficas, a carga submetida na coluna analítica é menor, gerando uma maior durabilidade da mesma (BRITO,2003; DE AMARANTE JUNIOR,2001; Farmacopeia americana – USP):

2.3.Linearidade e faixa de trabalho

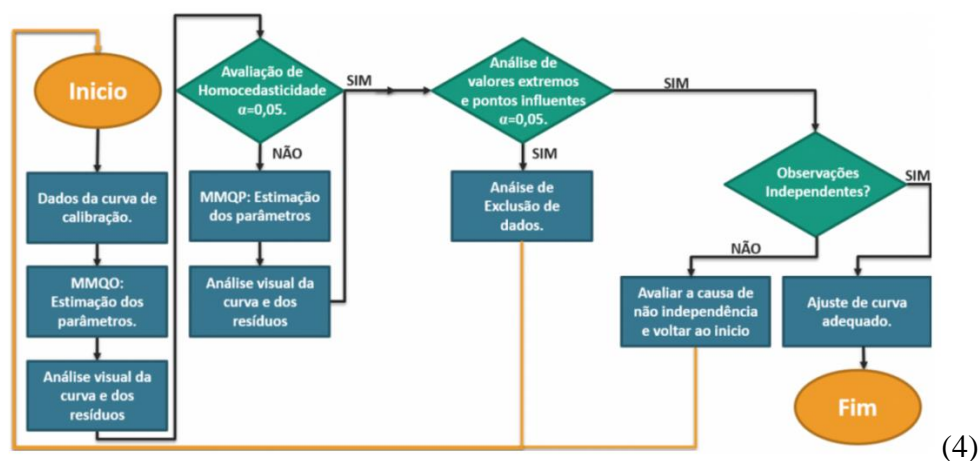
A linearidade de um método analítico é demonstrada por meio da sua capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra (RDC166/2017).

Na indústria farmacêutica de uma maneira geral, em análises de rotina, a relação entre a concentração do analito a ser quantificado na amostra e o sinal obtido raramente é conhecida, dessa forma, é necessário utilizar um padrão analítico com concentração conhecida, a fim de quantificar o analito a ser avaliado (BRITO,2003; DE AMARANTE JUNIOR,2001; Portal Action).

Para que essa forma de quantificação seja confiável, é de extrema importância que o método analítico utilizado apresente linearidade no intervalo determinado para cada método. Para isso, é necessário obter uma curva analítica usando diferentes concentrações de analito, sob a forma de padrões, de modo a determinar a linearidade, demonstrando a representação gráfica das respostas em função da concentração, gráfico de dispersão de resíduos, equação da reta de regressão de y em x, coeficientes de correlação e determinação e homocedasticidade dos dados. Para os testes estatísticos, deve-se utilizar um nível de significância de 5% (FRANCIELLE REGINA SILVA DIAS,2019; RDC166/2017).

Segundo a legislação vigente, a curva analítica deve conter pelo menos cinco concentrações diferentes, preferencialmente equidistantes, dentro da faixa de trabalho determinada para cada método. A faixa de trabalho da metodologia é determinada de acordo com a aplicação pretendida, através dos testes de linearidade, precisão e exatidão, sendo que para análises de teor, a faixa deve estar de 80% a 120% do valor considerado nominal, e para análises de impurezas, a faixa deve abranger desde o limite de quantificação até 120% de cada especificação das impurezas (RDC166/2017).

Ao selecionar a faixa de trabalho, a avaliação da linearidade do método analítico segue de uma forma geral o fluxograma mostrado abaixo (Portal Action):



Portal Action

Primeiramente, deve-se descrever a equação da reta formada pelo gráfico da medida observada versus concentração. Ao avaliar os resultados, espera-se que o coeficiente angular obtido seja estatisticamente diferente de zero e o coeficiente de correlação seja estatisticamente igual a um, dessa forma, é possível determinar em um primeiro momento que os resultados obtidos se direcionam a uma resposta linear e a partir daí, determinar o melhor modelo a ser utilizado,

uma vez que as medidas avaliadas até o momento se tratam de medidas descritivas da qualidade do ajuste do modelo (BRITO,2003; DE AMARANTE JUNIOR, 2001).

Conforme citado anteriormente, na rotina farmacêutica, as amostras são quantificadas através de um padrão único e devido a isso, um ponto crítico se trata da avaliação do coeficiente linear ou intercepto. Se a curva que representa a linearidade passa pelo zero, podemos quantificar com padrão único na rotina, pois o segundo ponto para traçar a reta é representado pela origem. Em geral, a linearidade do método precisará ser reavaliada quando o valor do coeficiente linear for estatisticamente diferente de zero, uma vez que o mesmo pode indicar um possível efeito matriz, onde com uma concentração zero, já é possível observar um sinal analítico. Dessa forma, caso seja encontrado intercepto estatisticamente diferente de zero e com magnitude significativa frente às respostas analíticas, é recomendável que se utilize uma curva de calibração ao invés de um ponto único para padronização na rotina de análise (BRITO,2003; DE AMARANTE JUNIOR, 2001; Portal Action).

Para as análises propostas até o momento, é necessário a aplicação de testes estatísticos específicos, que se englobam dentro da estatística paramétrica, dessa forma, supomos que os erros experimentais são independentes e seguem distribuição normal com média zero e variância constante, devendo ser comprovados através de testes estatísticos aplicáveis. Em ambos os casos são aplicados testes de hipótese para a avaliação e no caso da independência, a mesma também pode ser avaliada de maneira visual a partir do gráfico de dispersão dos resíduos (Portal Action).

A avaliação da homocedasticidade se dá a fim de determinar a variância em cada ponto da curva. Caso a suposição de homocedasticidade não seja válida, devemos incluir essa característica no modelo, ajustando-o ao método dos Mínimo Quadrados Ponderados e após o ajuste, pode-se prosseguir com as análises. Caso a suposição de homocedasticidade seja válida, podemos prosseguir com as análises sem reajustar o modelo (Portal Action).

Por fim, deve-se avaliar presença de "outliers", que se tratam de observações que causam grande impacto no modelo, denominadas por "pontos influentes". A presença de "outliers" pode influenciar significativamente no resultado da linearidade, devendo então ser avaliada de maneira muito criteriosa (Portal Action).

2.4.Exatidão

A exatidão de um método analítico é dada através do grau de concordância entre os resultados individuais do método em estudo em relação a um valor aceito como verdadeiro. A exatidão deve ser expressa pela relação percentual de recuperação do analito de concentração conhecida e a concentração teórica correspondente conforme a seguinte fórmula (5) (RDC166/2017):

$$\text{Recuperação} = \frac{\text{Concentração média experimental} \times 100}{\text{Concentração teórica}} \quad (5)$$

O ensaio de recuperação para a avaliação da exatidão de um método analítico constitui o modelo mais utilizado para validação de processos analíticos. Isso se dá uma vez que a recuperação reflete a quantidade de determinado analito, recuperado no processo, em relação à quantidade real presente na amostra (BRITO,2003).

A exatidão é expressa como erro sistemático percentual, inerente ao processo. O erro sistemático ocorre pela perda da substância devido à baixa recuperação da extração, medidas volumétricas imprecisas ou substâncias interferentes na amostra, entre outros (BRITO,2003).

Os modelos mais utilizados para avaliar a exatidão de um método analítico são: materiais de referência certificados, comparação de métodos, ensaios de recuperação e adição de padrão (VALDERRAMA,2009). No estudo da recuperação é indicada a realização de testes de significância, como por exemplo o teste "t" de Student de acordo com a seguinte fórmula (6) (Portal Action):

$$T = \frac{\bar{X} - \mu_0}{\frac{s}{\sqrt{n}}} \quad (6)$$

Portal Action

onde

- \bar{X} : valor da média amostral.
- μ_0 : valor da média populacional sob a hipótese nula.
- s : valor do desvio padrão amostral.
- n : tamanho da amostra.

O método será considerado exato se o valor de "t" obtido estiver enquadrado no intervalo estabelecido pelo valor tabelado, para n - 1 graus de liberdade em dado nível de significância (Portal Action).

2.5.Precisão

O parâmetro da precisão consiste em avaliar a proximidade entre os resultados obtidos por meio de ensaios com amostras preparadas conforme descrito no método analítico a ser validado. A precisão pode ser expressa pelo desvio padrão "S" e pelo coeficiente de variação "CV" conforme mostrado nas equações a seguir (7 e 8) (FRANCIELLE REGINA SILVA DIAS, 2019; RDC166/2017):

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1} \quad (7)$$

Portal Action

Onde \bar{x} é a média aritmética de "n" número de medições; x_i é o valor individual da medição efetuada.

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} \cdot 100 \quad (8)$$

Portal Action

Onde S é o desvio padrão; \bar{x} é a concentração média dos resultados obtidos.

A precisão pode ser avaliada através da repetibilidade, da precisão intermediária e da reprodutibilidade. A repetibilidade expressa a precisão nas mesmas condições de operação (mesmo equipamento, analista, reagentes, dia e mesmas condições ambientais). A precisão intermediária expressa as variações no mesmo laboratório que envolvem diferentes dias, diferentes analistas, podendo também ser realizada em diferentes equipamentos. A reprodutibilidade expressa a precisão entre laboratórios, onde um mesmo lote de amostra é avaliado em diferentes laboratórios, em dias diferentes e analistas diferentes (BRITO,2003; RDC166/2017).

2.6.Limite de Detecção (LD)

O limite de detecção deve ser demonstrado pela obtenção da menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém, não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas (LEITE,2008; RDC166/2017).

Pode ser calculado, entre outras formas, pelo método visual ou pela relação sinal-ruído. Para os métodos que utilizam curva analítica, ele pode ser definido como a concentração analítica que produz uma resposta a um determinado fator de confiança superior ao desvio padrão do branco (SKOOG,2008; VALDERRAMA, 2009).

A determinação da razão sinal/ruído é realizada por meio da comparação dos sinais medidos da amostra em baixas concentrações conhecidas do analito com os sinais gerados através da solução branco, estabelecendo-se assim a concentração mínima na qual o analito pode ser detectado mas não necessariamente quantificado. De maneira geral, a razão sinal/ruído com valor 2 :1 é considerada aceitável para estimar o limite de detecção (BRITO, 2003; RDC166/2017).

A outra maneira citada para o cálculo do LD utiliza os dados obtidos a partir da curva de calibração. Neste caso, a equação empregada é a seguinte (9) (DE AMARANTE JUNIOR, 2001):

$$LD = \frac{b + 3 \cdot s_b}{s} \quad (9)$$

DE AMARANTE JUNIOR, 2001

Onde:

b = branco instrumental (coeficiente linear da curva de calibração);
S_b = desvio padrão para o branco instrumental;
S = sensibilidade do método (coeficiente angular da curva de calibração)

2.7.Limite de Quantificação (LQ)

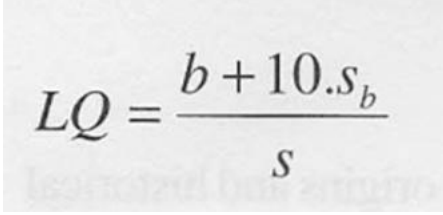
O limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. Pode ser estimado por meio do sinal/ruído, do desvio-padrão e por processos estatísticos através da curva de calibração (BRITO, 2003; LEITE, 2008; RDC166/2017).

Para o procedimento sinal/ruído, efetua-se a determinação por meio da comparação dos sinais medidos da amostra com baixas concentrações conhecidas do analito com as do branco, estabelecendo-se a concentração mínima na qual o analito pode ser identificado e quantificado com precisão e exatidão. A razão sinal/ruído comumente aceita é 10:1 e pode ser expresso pela seguinte equação, demonstrada abaixo (10) (BRITO, 2003) :

$$LQ = \frac{10 \times s}{S} \quad (10)$$

BRITO, 2003

A outra maneira citada para o cálculo do LQ utiliza os dados obtidos a partir da curva de calibração. Neste caso, a equação empregada é a seguinte (11) (DE AMARANTE JUNIOR, 2001):


$$LQ = \frac{b + 10 \cdot s_b}{S} \quad (11)$$

DE AMARANTE JUNIOR, 2001

Onde:

b = branco instrumental (coeficiente linear da curva de calibração);
S_b = desvio padrão para o branco instrumental;
S = sensibilidade do método (coeficiente angular da curva de calibração)

2.8.Robustez

A robustez é um parâmetro tipicamente realizado no desenvolvimento do método analítico que indica a sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações das

condições analíticas. Caso haja susceptibilidade do método a variações nas condições analíticas, essas deverão ser controladas por meio de precauções descritas no método (LEITE, 2008; RDC166/2017).

Os parâmetros a serem avaliados devem ser determinados de acordo com a relevância dos mesmos para cada metodologia analítica, de acordo com as características do método. Os testes de robustez, em geral, servem para indicar os fatores que podem influenciar, significativamente na resposta do método quando o mesmo é repetido em diferentes condições ou é transferido, por exemplo, para outro laboratório (BRITO, 2003; INMETRO).

CONCLUSÃO

A validação analítica é muito utilizada no ramo farmacêutico e as legislações relacionadas ao processo geram muitas dúvidas. Devido a isso, o presente trabalho foi desenvolvido a fim de demonstrar suas aplicações, facilitar o entendimento e conseqüentemente gerar um número menor de erros, além de agilizar o processo regulatório.

Os parâmetros de validação, suas principais funções e diferentes testes estatísticos aplicáveis foram discutidos para cada técnica analítica a fim de demonstrar como a escolha dos parâmetros de validação e testes estatísticos influenciam na qualidade final da metodologia analítica.

Com o desenvolvimento do trabalho, conclui-se que conhecer e entender os parâmetros de validação e suas corretas aplicações é fundamental para gerar uma metodologia confiável e que atenda a finalidade pretendida, além de gerar maior confiabilidade e segurança nos resultados, beneficiando de forma geral os consumidores do produto final.

Atender à legislação sanitária brasileira, que enfatizam a comprovação da qualidade, segurança e eficácia dos medicamentos, tem sido um trabalho rotineiro nas indústrias farmacêuticas. A validação é um processo avaliativo que se corretamente elaborado, utilizando-se de profissionais habilitados, materiais certificados, e equipamentos devidamente calibrados, comprova que o método é adequado para garantir confiabilidade nas análises, conseqüentemente confiabilidade do produto analisado. Contudo, a busca pela qualidade e eficácia dos medicamentos passa por uma evolução constante, exigindo das indústrias e dos produtores de uma forma geral, constantes atualizações, resultando na necessidade de discussões e estudos rotineiros a fim de continuar a garantir a qualidade já demonstrada do produto final.

REFERÊNCIAS

BRITO, Natilene Mesquita et al. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, 2003. (BRITO, 2003)

COLLINS, H. C.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S., Fundamentos de Cromatografia, Editora Unicamp, 2006.

DE AMARANTE JUNIOR, Ozelito Possidônio et al. Validação de métodos analíticos: uma breve revisão. **Cad. Pesq., São Luís**, v. 12, n. 1/2, p. 116-131, 2001.

DOS SANTOS, Enicy Cecília; BARROS, David Antônio Costa; DE OLIVEIRA, Stela Ramirez. VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA. **SAÚDE & CIÊNCIA EM AÇÃO**, v. 2, n. 1, p. 93-113, 2016.

Farmacopeia americana, USP. **Capítulo geral <621> Chromatography**

FRANCIELLE REGINA SILVA DIAS. Desenvolvimento e validação de métodos analíticos. **Programa de Pós-graduação em Fármacos e Medicamentos**, FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, USP, 2019.

ICH – Harmonised Tripartite Guidance. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). In: International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2005.

INMETRO. "Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos." Rio de Janeiro. Brasil (2016), Revisão 5.

LA ROCA, M. F. et al. Desenvolvimento e validação de método analítico: passo importante na produção de medicamentos. **Rev. Bras. Farm.**, v. 88, n. 4, p. 177-180, 2007.

LEITE, F. **Validação em análises químicas**. 5. ed. Campinas: Átomo, 2008.

Portal Action, disponível em: <http://www.portalaction.com.br>

PORTELA, ALYNE DA SILVA et al. Políticas públicas de medicamentos: trajetória e desafios. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 1, p. 9-14, 2010.

RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC No 166, DE 24 DE JULHO DE 2017. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª ed. São Paulo: Cengage Learning, 2008.

VALDERRAMA, P.; BRAGA J. W. B.; POPPI, R. J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**, Vol. 32, No. 5, 1278-1287, 2009.

VALENTINI, Sóstenes Rosa; SOMMER, Willy Arno; MATIOLI, Graciette. Validação de métodos analíticos. **Arquivos do Museu Dinâmico Interdisciplinar**, v. 11, n. 2, p. 26-31, 2007.