

IMPORTÂNCIA DA VALIDAÇÃO BIOANALÍTICA

Hermínia Cristiny Pereira Ribeiro Oliveira^a, Sara Carolina da Silva Nascimento^a,
Marcelo Rodrigues Martins^b, Stela Ramirez de Oliveira^{*a,b}

^a Instituto de Ciências da Saúde – Faculdade Alfredo Nasser

^b Núcleo de Estudos e Pesquisas Tóxico-Farmacológicas (NEPET) – Faculdade de
Farmácia – Universidade Federal de Goiás

*stelaramirez@unifan.edu.br

RESUMO

A validação bioanalítica é um conjunto de técnicas realizadas para assegurar a confiabilidade do método bioanalítico elaborado. Entende-se como método bioanalítico aquele que utiliza matriz biológica. Deve-se fazer os seguintes testes: curva de calibração, efeito matriz, seletividade, especificidade, linearidade, limite de detecção e quantificação, precisão, exatidão, recuperação e estabilidade. O presente trabalho apresenta a importância da validação bioanalítica.

Palavras-Chave: Validação. Controle de qualidade. Cromatografia.

1 INTRODUÇÃO

Validação bioanalítica é um conjunto de técnicas realizadas para assegurar a confiabilidade e credibilidade do método aplicado em estudos de bioequivalência e biodisponibilidade de produtos farmacêuticos. Entende-se como método bioanalítico aquele que utiliza matriz biológica. A importância de garantir o resultado confiável para um método bioanalítico através da sua comparabilidade, rastreabilidade e confiabilidade está sendo cada vez mais reconhecida e exigida (RIBANI et al., 2004).

No Brasil a validação bioanalítica é normatizada pela Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 27 de 2012, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que dispõe sobre os requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos (LA ROCA et al., 2007; BRASIL, 2012).

Diferente do método bioanalítico, a validação analítica é composta por ensaios *in vitro* que não utilizam matriz biológica, é uma etapa importante para a garantia da qualidade. Os ensaios realizados têm a finalidade de avaliar produtos farmacêuticos, seguindo os padrões adequados (LA ROCA et al., 2007).

Devido a grande importância de se validar um método bioanalítico para garantir uma análise confiável, é demonstrado nesse estudo tal importância e as etapas da validação bioanalítica.

2 METODOLOGIA

Foi realizada uma revisão da literatura através de pesquisa de materiais científicos nas bases de dados SciELO (Scientific Electronic Library Online), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS) e Google acadêmico. Foram utilizados na pesquisa os descritores: validação bioanalítica, processos de validação, metodologia analítica, tipos de validação, ensaio bioanalítico, cromatografia líquida de alta eficiência, parâmetros da validação. Foram utilizados nesse trabalho onze artigos, duas legislações, uma dissertação e uma tese.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Além da ANVISA existem outras agências que possuem guias e protocolos de validação, com algumas diferenças entre eles. No Brasil existe, também, o INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial), enquanto nos Estados Unidos a validação é regulamentada pela FDA (Food and Drug Administration), já na Europa essa regulamentação é realizada pela Comunidade Europeia (EC) (RATH; REYES, 2008).

Em geral os parâmetros que devem ser avaliados na validação bioanalítica são: especificidade, seletividade, curva de calibração, linearidade, sensibilidade, efeito matriz, exatidão, recuperação, limites de detecção e quantificação (CASSIANO et al., 2009; BRASIL, 2012).

Especificidade é a capacidade do método em identificar o analito na presença de outras substâncias da matriz (BRITO, et al., 2003). Já a seletividade é a capacidade do método de quantificar várias substâncias com características comuns, distinguindo uma das outras (RATH; REYES, 2008).

Segundo a ANVISA curva de calibração é a relação entre a resposta do instrumento e as concentrações conhecidas do analito (BRASIL, 2012). Ela deve conter de seis a oito níveis de calibração, a amostra branca (matriz biológica isento do analito e do padrão interno), amostra zero (matriz biológica com a presença de padrão interno), o primeiro ponto é o LIQ (limite inferior de quantificação) e o último ponto é o LSQ (limite superior de quantificação), os demais pontos que são a calibração de baixa, média e alta concentração são distribuídos entre o LIQ e LSQ. As amostras devem ser analisadas no mínimo em duplicata (BRASIL, 2012).

A linearidade é a capacidade que um método tem em obter resultados proporcionais à concentração do analito (FORTI; ALCAIDE, 2011). A sensibilidade é variação da resposta da concentração do analito e é refletida pelo coeficiente angular da curva analítica (RATH; REYES, 2008).

Efeito matriz ocorre quando substâncias presentes na matriz biológica interferem na quantificação do analito (CASSIANO et al., 2009).

Precisão é a proximidade dos resultados por repetidas aferições de várias alíquotas de uma única fonte de matriz, os resultados obtidos não podem ultrapassar 15,0% de CV (coeficiente de variação), exceto para o LIQ que o CV não deve exceder 20,0% (BRASIL, 2012).

A exatidão é a semelhança dos resultados obtidos pelo método em estudo comparando com o valor original, usando um processo experimental para uma única amostra por várias vezes (RATH; REYES, 2008).

Recuperação é definida como a eficiência de extração do método, é a porcentagem de um resultado conhecido do analito, obtida da relação entre os resultados das análises de amostra branco e padrão interno extraídas com os resultados das análises das soluções não extraídas (BRASIL, 2003)

O limite de detecção (LD) é a menor concentração do analito que é diferenciada do zero ou do ruído de fundo. O limite de quantificação (LIQ) é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis nas condições experimentais definidas (BRASIL, 2012; RATH e REYES, 2008).

4 CONCLUSÕES

A validação bioanalítica deve ser específica, conforme o método desenvolvido, e seguir as recomendações das agências reguladoras. Validar um

método, geralmente, é um processo trabalhoso, sendo que a qualidade dos resultados está relacionada com o bom desempenho de todas as etapas. Um método bioanalítico validado é fundamental para garantir a confiabilidade dos resultados.

REFERÊNCIAS

AMORIM, R.; GALHARDO, A.; VALADÃO, C. A. A.; PECCININI, R. G. Determinação de cetamina em plasma por HPLC: aplicação em um estudo de farmacocinética de associação medicamentosa em cães. **Revista Ciências Farmacêuticas Básicas e Aplicadas**, Araraquara, v. 29, n. 1, p. 60-76, 2008.

ARAGÃO, N. M.; VELOSO, M. C. C.; ANDRADE, J. B. Validação de métodos cromatográficos de análise – um experimento de fácil aplicação utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e os princípios da “química verde” na determinação de metilxantinas em bebidas. **Revista Química Nova**, Jequié, v. 32, n. 9, p. 2476-2481, 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 27, de 17 de maio de 2012. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. D.O.U. 22 de maio de 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**. D.O.U. 02 de junho de 2003.

BRITO, N. M.; JUNIOR, O. P. DE A.; POLESE, J.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, n. 01, p. 129-146, 2003.

CASSIANO, N. M.; BARREIRO, J. C.; MARTINS, L. R. R.; OLIVEIRA, R. V.; CASS, Q. B. Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas. **Revista Química Nova**, São Carlos, v. 32, n. 4, p. 1021-1030, 2009.

CHASIN, A. A. DA M.; NASCIMENTO, E. S.; NETO, L. M. R.; SIQUEIRA, M. E. P. B.; ANDRAUS, M. H.; SALVADOR, M. C.; FERNÍCOLA, N. A. G.; GORNI, R.; ALCEDO, S. Validação de métodos em análises toxicológicas: uma abordagem geral. **Revista Brasileira de Toxicologia**, São Paulo, v.11, n. 1, p. 1-6, 1998.

LA ROCA, M. F.; SOBRINHOJ. L. S.; NUNE, L. C. C.; NETO, P. J. R. Desenvolvimento e validação de método analítico: passo importante na produção de medicamentos. **Revista Brasileira Farmacologia**, Recife, v. 88, n. 4, p. 177-180, 2007.

OLIVEIRA, F. G.; EFFTING, C.; MUNDIM, I. M.; FREIRE, R. V. C.; CARNEIRO, J. C.; RODRIGUES, C. R.; CUNHA, R. L. Determinação simplificada de carbamazepina, fenitoína, fenobarbital e lamotrigina em plasma e monitoração terapêutica por HPLC/PDA. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, Goiânia, v. 34, n. 4, p. 519-526, 2013.

PASCHOAL, J. A. R.; RATH, S.; SILVA, F. P. DA; REYES, F. G. R. validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. **Revista Química Nova**, Campinas, v. 31, n. 5, p. 1190-1198, 2008.

QUAGLIO, Daiane Toledo. Desenvolvimento e validação de uma metodologia bioanalítica para quantificação de ivermectina em plasma humano utilizando cromatografia líquida com detecção por espectrometria de massas (LCMS/MS). In: **Validação do método bioanalítico**. 74 f. Dissertação (mestrado) - Curso de Farmacologia Geral e Clínica, Universidade São Francisco, 2009. p. 41-53.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Revista Química Nova**, Campinas, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RIZZATO, J.A.; RATH, S.; AIROLDI, F. P. S.; REYES, F. G. R. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos. **Revista Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 4, p. 1190-1198, 2008.

RODRIGUES, Leticia de Alencar Pereira; MONTEIRO, Gisele Vivas Tosta Aguiar; GUERREIRO, Renata de Souza. **Validação da metodologia analítica para determinação de amido em salsicha**. Disponível em: <<http://www.revistaanalytica.com.br/artigos/4.pdf>>. Acesso em 20 jul. 2015.

SILVA, Lucélia Magalhães da. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica e estudo de estabilidade de tigeciclina em produto farmacêutico. In: **Validação de métodos analíticos**. 207 f. Tese (doutorado) - curso de ciências farmacêuticas, Universidade estadual paulista Julio de Mesquita, Campus de Araraquara, 2012. p. 19-21.

