CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO DOS MÉTODOS UTILIZADOS PELOS LABORATÓRIOS QUÍMICOS E INDÚSTRIAS CONEXAS

Preparado por: Comité Consultivo da SADCAS – TLAP	**Aprovado por**: CEO da SADCAS	**Data de aprovação**: 2018-03-24 **Data de entrada em vigor**: 2018-04-01

Índice

Página

1. OBJETO E ÂMBITO DE APLICAÇÃO 3

2. DEFINIÇÕES 3

3. ANTECEDENTES 6

4. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E CRITÉRIOS DE UM MÉTODO DE ENSAIO 7

5. PLANO DE VALIDAÇÃO 7

6. APLICAÇÃO E REVISÃO 8

7. RELATÓRIO DE SÍNTESE 9

8. REVALIDAÇÃO/REVERIFICAÇÃO 10

9. REFERÊNCIAS 10

APÊNDICE – REGISTO DE ALTERAÇÕES 12

1. OBJETO E ÂMBITO DE APLICAÇÃO

Este documento define os conceitos e processos de validação de métodos e fornece requisitos técnicos para facilitar uma abordagem uniforme da validação de métodos. Este documento amplia os requisitos da ISO/IEC 17025 e lista os requisitos SADCAS aplicáveis à validação de métodos em laboratórios químicos.

Estes critérios são aplicáveis aos testes químicos de carvão, petróleo, petróleo, metais, minerais, alimentos, produtos farmacêuticos, água e indústrias relacionadas.

Não fazem parte deste documento:

- Amostragem;
- Manuseamento de amostras; e ainda
- Transportes.

2. DEFINIÇÕES

2.1 **Exatidão -** Em que medida os resultados dos ensaios gerados pelo método e o verdadeiro valor estão de acordo. A precisão também pode ser descrita como a proximidade de concordância entre o valor adotado, seja como um valor de referência convencional, verdadeiro ou aceito, e o valor encontrado. A exatidão inclui a veracidade e a precisão.

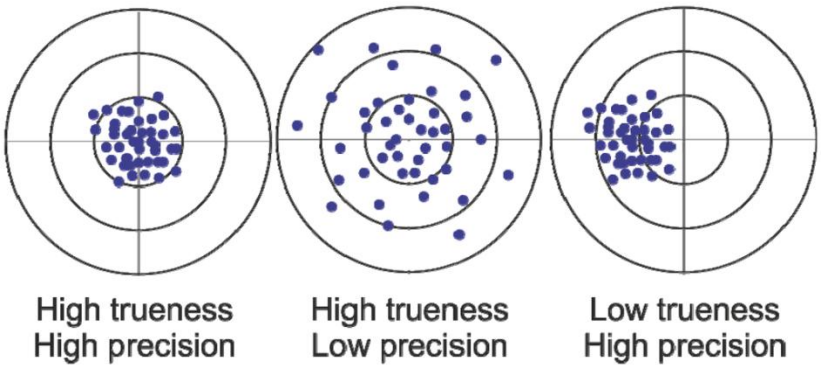
2.2 **Veracidade** - A proximidade de concordância entre a média de um número infinito de valores de quantidade medida replicada e os valores de uma quantidade de referência. A veracidade está inversamente relacionada com o erro sistemático de medição.

2.3 **Viés** - É uma estimativa de erro sistemático de medição que é um componente do erro de medição que em medições replicadas permanece constante ou varia de forma previsível. Varia inversamente com a veracidade. A determinação de distorções baseia-se na comparação da média dos resultados do método candidato com um valor de referência adequado. O valor de referência pode ser obtido a partir de uma matriz correspondente (o mais próximo possível) de material de referência certificado, através de experiências de recuperação utilizando amostras picadas, por comparação com outro método validado (padrão ou de referência) ou através da participação em testes de proficiência.

2.4 **Precisão** - grau de concordância entre os resultados de ensaios independentes obtidos por medições repetidas nas mesmas amostras ou em amostras semelhantes em condições especificadas (grau de proximidade entre os valores medidos). Geralmente é expresso como desvio padrão, desvio padrão relativo (RSD) ou RSD% (coeficiente de variação).

Figura 1- Apresentação gráfica da exatidão indicando a diferença entre veracidade e precisão.

A partir de http://www.mdpi.com/2218-1989/2/4/1012/htm)



As condições especificadas podem ser repetibilidade, precisão intermédia ou condições de reprodutibilidade.

2.4.1. **Repetibilidade** - As condições envolvem o mesmo procedimento de medição, os mesmos operadores, as mesmas condições de funcionamento, o mesmo sistema de medição e a mesma localização e replicam medições nos mesmos objetos ou em objetos semelhantes durante um curto período de tempo.

2.4.2. **Precisão Intermédia** - Pode também ser descrita como reprodutibilidade intralaboratorial. As condições envolvem o mesmo procedimento de medição, a mesma localização e replicam medições nos mesmos objetos ou em objetos semelhantes durante um longo período de tempo, mas podem incluir outras condições que podem mudar. As alterações podem incluir novas calibrações, calibradores, operadores e sistemas de medição.
Nota: A precisão intermédia pode ser mais convenientemente obtida a partir de dados derivados da análise de amostras de controlo executadas rotineiramente durante um longo período de tempo.

2.4.3. **Reprodutibilidade** - As condições incluem diferentes locais, operadores, sistemas de medição e replicar medições no mesmo objeto ou em objetos semelhantes. A reprodutibilidade pode ser obtida a partir de estudos interlaboratoriais.

2.5 **Linearidade ou linearidade após uma transformação adequada** , por exemplo, ajuste quadrático - Capacidade de um método para obter resultados de ensaio proporcionais à concentração do analito dentro de uma determinada gama de trabalho.

2.6 **Intervalo de trabalho** - O intervalo de um método analítico é o intervalo entre os níveis superior e inferior de um analito, incluindo os níveis que se demonstrou serem determinados com um nível adequado e definido de precisão, exatidão e linearidade, utilizando o método tal como escrito. A amplitude de utilização é normalmente expressa nas mesmas unidades que os resultados dos ensaios obtidos pelo método analítico.

2.7 **Limite de Deteção (LOD)** - A menor concentração de analito que pode ser detetada, mas não necessariamente quantificada nas condições indicadas no teste. É um ponto em que um valor medido é maior do que a incerteza associada a ele. Abordagens adequadas para estimar o LOD podem ser encontradas em *B. Magnusson e U. Ornemark (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2ª ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0.* www.eurachem.org.

2.8 **Verificação** - Confirmação, por exame e apresentação de provas objetivas, do cumprimento dos requisitos especificados.

2.9 **Incerteza de Medição (Incerteza de Medição)** - Parâmetro associado ao resultado de uma medição que caracteriza a dispersão dos valores que poderiam razoavelmente ser atribuídos à mensuranda.

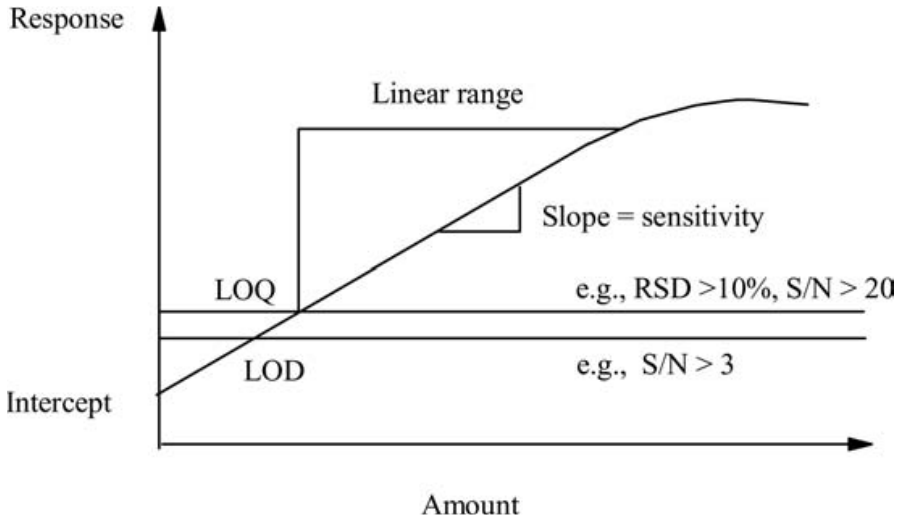
2.10 **Limite de Quantificação (LOQ)** - A menor concentração de analito que pode ser determinada com precisão (e precisão) aceitável nas condições indicadas no teste.

2.11 **Sensibilidade** - Capacidade do método para discriminar entre pequenas diferenças de concentrações de analito.

2.12 **Especificidade/Seletividade** - Capacidade de um método responder a um determinado analito de interesse na presença de possíveis interferências, tais como impurezas, degradantes e efeitos matriciais.

2.13 **Robustez/robustez** - A robustez de um processo analítico é uma medida da sua capacidade de não ser afetada por pequenas, mas deliberadas, variações nos parâmetros do método. A robustez fornece uma indicação da confiabilidade dos métodos durante o uso normal.

Figura 2 - As definições de linearidade, intervalo, LOQ e LOD exibidas.



3. CONTEXTO

3.1 A validação de um método é o processo que consiste em estabelecer as características e limitações de desempenho de um método e identificar as influências que podem alterar essas características e em que medida podem ser alteradas. É também o processo de verificação de que um método é adequado à finalidade, ou seja, para ser utilizado para resolver um determinado problema analítico.

3.2 A verificação refere-se a um processo que fornece provas de que o laboratório pode atingir as características de desempenho dadas num método analítico específico, especialmente a exatidão e a precisão, e que demonstra que o método é adequado para a utilização prevista. A extensão e a natureza desse trabalho de verificação dependem das necessidades do cliente e da utilização prevista.

3.3 A validação é sempre um equilíbrio entre custos, riscos e possibilidades técnicas.

3.4 Para esclarecimentos sobre quando realizar a validação ou verificação, ver Tabela 1. Esta tabela foi adaptada do Guia de Orientação PALCAN para a Validação de Métodos de Teste.

Tabela 1 - Quando os métodos devem ser validados ou verificados?

Descrição do método de ensaio	Requisitos de validação ou verificação
Método padrão publicado.	Confirmação das características de desempenho publicadas (verificação) em conformidade com os requisitos da ISO/IEC 17025
Método padrão publicado mais documentação adicional para etapas opcionais.	A validação completa só pode ser exigida se forem feitas alterações ao método Standard.
Método desenvolvido internamente/ Método desenvolvido em laboratório	Validação completa (ver secção 5).
Método publicado na literatura científica sem dados de desempenho.	Validação completa (ver secção 5).
Métodos publicados na literatura científica com dados de desempenho.	Confirmação das características de desempenho publicadas (verificação), mas é mais provável que seja necessária uma validação completa.
Alterações na implementação de métodos previamente validados, ou seja, alterações no equipamento, reagentes, ambiente de laboratório ou pessoal.	O âmbito da validação variará para demonstrar que a alteração não tem um impacto significativo nas características de desempenho.

Método normalizado publicado aplicado a diferentes matrizes, diferentes intervalos de concentração, analitos ou método normalizado publicado utilizado para um fim semelhante, mas condições diferentes.	A validação é necessária e a extensão varia, por exemplo, a validação deve ser extensiva à medida do necessário para satisfazer as necessidades de uma determinada aplicação ou campo de aplicação.
Método padrão arquivado publicado ou previamente validado que é restabelecido.	Confirmação de características de desempenho anteriores (Verificação).
Análises ad hoc ou especiais (acreditação flexível do âmbito)	Validação completa de métodos credenciados de escopo flexível, conforme necessário.
Kits de teste comerciais – testados colaborativamente, avaliação de terceiros (por exemplo, AOAC).	Confirmação das características de desempenho publicadas (verificação), mas pode ser necessária uma validação se e quando forem feitas alterações ou as matrizes diferirem.
Kits de teste comerciais – não há dados de desempenho disponíveis, incompletos ou não aplicáveis.	Validação completa.

4. CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO E CRITÉRIOS DE UM MÉTODO DE ENSAIO

4.1 Característica de desempenho "significa qualidade funcional que pode ser atribuída a um método analítico". Exemplos de características típicas de desempenho incluem, mas não se limitam a: seletividade, exatidão, veracidade, recuperação, precisão, repetibilidade, reprodutibilidade, limite de deteção, limite de quantificação, robustez e estabilidade. Se o laboratório for responsável pela amostragem, subamostragem e transporte para o laboratório, a amostragem, a subamostragem e o transporte devem fazer parte do plano de validação.

***Nota*:** a validação deve ter tido em conta os padrões de referência utilizados e a pureza e homogeneidade da amostra.

4.2 Critérios de desempenho "entende-se os requisitos relativos a uma característica de desempenho segundo a qual se pode considerar que o método analítico é adequado ao fim a que se destina e gera resultados fiáveis"..

5. PLANO DE VALIDAÇÃO

O âmbito do método e os seus critérios de validação devem ser definidos numa fase precoce do processo. Estas incluem as seguintes perguntas:

i) Finalidade da medição (que analitos devem ser detetados e porquê?).

ii) Quais são as matrizes de amostra?

iii) Existem substâncias interferentes esperadas, em caso afirmativo, devem ser detetadas e quantificadas?

iv) Existem requisitos legislativos ou regulamentares específicos?

v) Quão robusto deve ser o método?

vi) Âmbito da medição (Quais são os níveis de concentração esperados?)

vii) Existem equipamentos, acomodações e condições ambientais específicas que precisam ser consideradas?

viii) Que tipo de equipamento deve ser utilizado? O método aplica-se a um instrumento específico ou deve ser utilizado por todos os instrumentos do mesmo tipo?

ix) Método utilizado para a preparação das amostras, subamostragem, procedimento e incluindo os instrumentos a utilizar.

x) Identificação das características de desempenho:

- Exatidão
- Viés (erro sistemático)
- Precisão
- Reprodutibilidade
- Repetibilidade
- Linearidade
- Faixa de trabalho
- Limite de deteção
- Limite de quantificação
- Sensibilidade
- Especificidade
- Incerteza de medição
- Robustez/robustez

Devem ser tidos em conta todos os fatores acima referidos, mas devem ser apresentadas razões válidas se uma característica de desempenho não for avaliada.

xi) Desenho experimental.

Dentro destas abordagens, os laboratórios devem seguir preferencialmente o Eurachem Guide: The Fit of Purpose of Analytical Methods. Podem ser seguidas outras abordagens, desde que o laboratório possa apresentar provas científicas de que a sua abordagem é válida**.**

6. APLICAÇÃO E REVISÃO

6.1 Analisar os dados aplicando as ferramentas estatísticas apropriadas, por exemplo, Análise de Variância (ferramenta ANOVA, no Excel, para estatística), regressão linear, teste t, teste f, etc.

Nota*:* Certifique-se de que as convenções relativas à utilização de números significativos e dados de arredondamento são aplicadas antes de analisar os dados. Lembre-se de que, ao arredondar

dados de cálculos químicos, pode ser necessário carregar um dígito extra em todos os cálculos para evitar erros de arredondamento. Ao arredondar um número terminado em 5, arredondar sempre para que o resultado termine com um número par. Por exemplo: 5,45 será 5,4, 5,35 será 5,4, 5,55 será 5,6.

Nota: As unidades dão dimensões aos números, portanto, não se esqueça das suas unidades de medida.

6.2 Fazer uma declaração sobre a aptidão para o fim a que se destina

6.3 Manter registos da validação, incluindo dados em bruto e outras provas adequadas.

6.4 O relatório de validação final deve conter conclusões, resumos de dados experimentais e cálculos que fundamentem cada um dos parâmetros de desempenho analítico aplicáveis.

7. RELATÓRIO DE SÍNTESE

7.1 O laboratório deve dispor de um relatório para revisão, resumindo todos os métodos de validação/verificação de todos os métodos utilizados no laboratório. O relatório deve incluir:

7.1.1 Referência ao método de ensaio validado/verificado. Isto inclui informações sobre equipamento, reagentes, calibração, etc. (pode surgir confusão se o método não cumprir os critérios de desempenho e for necessário um maior desenvolvimento do método).

7.1.2 Referência ao procedimento ou plano de validação/verificação utilizado para gerar as características de desempenho do método de ensaio.

7.1.3 Um resumo das características de desempenho do método de ensaio e do modo como estas foram calculadas ou definidas. Os dados brutos também devem estar disponíveis para revisão.

7.1.4 Os critérios de desempenho do método de ensaio com base nos quais as características foram avaliadas e se o método é ou não adequado à sua finalidade.

7.1.5 A utilização pretendida do método.

7.1.6 Estimativas da incerteza de medição com base em documentos interpretativos da ISO GOM, tais como o Guia Eurachem/CITAC. Quando se utiliza uma abordagem de método global, deve utilizar-se como base uma precisão intermédia.

7.1.7 O número de algarismos significativos que devem ser comunicados para o resultado da medição depende da incerteza do resultado; a incerteza deve ser arredondada para dois algarismos significativos. Os resultados devem ser arredondados de modo a serem compatíveis com a incerteza apresentada.

7.2 Se o método que não é um método padrão publicado é usado rotineiramente, espera-se que ao longo do tempo haja modificações ou melhorias feitas. Estas informações devem ser documentadas e estar disponíveis para avaliação. Os dados dos testes de proficiência em curso e os dados do controlo da qualidade devem ser revistos pelo laboratório para confirmar a adequação do método.

7.3 A SADCAS exige que todos os dados de validação/verificação estejam prontamente disponíveis no laboratório enquanto o método constar do calendário de acreditação.

8. REVALIDAÇÃO/REVERIFICAÇÃO

Espera-se que o laboratório prove continuamente que a validação/verificação ainda está em curso através dos procedimentos de controlo de qualidade que incluem as características/parâmetros de desempenho do método. Pode considerar-se a possibilidade de revalidação/reverificação parcial ou total quando:

i) é introduzido um novo instrumento;

ii) são introduzidas novas amostras com novos compostos ou novas matrizes (Huber: 8.3);

iii) é utilizado um novo local com diferentes condições ambientais (Huber: 8.3);

iv) são utilizados novos produtos químicos e/ou normas de referência (Huber: 8.3);

v) modificações são implementadas devido a problemas analíticos (Huber: 8.3);

vi) uma revisão do controlo de qualidade indica que um método estabelecido está a mudar com o tempo;

vii) programado de acordo com os procedimentos laboratoriais;

viii) no caso dos critérios de desempenho do método não abrangidos pelos critérios de aceitação (Huber 8.3).

Nota 4: No caso de ser nomeado um novo analista para realizar análises, espera-se que o laboratório assegure que o analista é competente e cumpre os critérios de desempenho do método/procedimento relevante.

9. REFERÊNCIAS

- B. Magnusson e U. Ornemark (orgs.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2ª ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. www.eurachem.org.
- ISO/IEC 17025 - Requisitos gerais de competência para laboratórios de ensaio e calibração. SADCAS TR 26-03 – Critérios de validação de métodos utilizados por laboratórios químicos nas indústrias do Carvão, Petróleo, Petróleo, Metais e Minerais, Alimentar, Farmacêutica, Água e afins.
- Guia PALCAN para a Validação de Métodos de Ensaio. Can-P-1629. Novembro de 2006. Conselho de Normas do Canadá.
- Skoog, D.A. & West, D.M. Fundamentos de Química Analítica, 99ª Edição, 2014.
- SLR Ellison e A Williams (eds.) Eurachem/CITAC Guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, (3ª ed. 2012). Disponível a partir de www.eurachem.org.
- International Vocabulary of Metrology - Basic Concepts and Associated Terms (VIM), (2ª ed. 2008) pelo Grupo de Trabalho 2 da Comissão Mista de Guias em Metrologia.

- GUM: Guia para a Expressão da Incerteza na Medição. ISO, Genebra (1993).
- (ISBN 92-67-10188-9) (Reimpresso em 1995: Reeditado como Guia ISO 98-3 (2008), também disponível na http://www.bipm.org como JCGM 100:2008). http://www.bipm.org como JCGM 100:2008)
- Projetos VAM 3.2.1 Desenvolvimento e Harmonização de Princípios de Incerteza de Medição Parte (d) Protocolo para avaliação de incertezas a partir de dados de validação. V J Barwick e S L R Ellison. Janeiro de 2000 LGC/VAM/1998/088.

APÊNDICE – REGISTO DE ALTERAÇÕES

Estado da revisão	Alteração			Aprovado por	Data de Entrada em Vigor
	N.º da página	Cláusula	Descrição da alteração		
Nº 1	-	-	-	SADCAS CEO	2018-03-24