

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

Preparado por: Comissão Consultiva do SADCAS - TLAP	Aprovado por: Director Executivo	Data de Aprovação: 2018-03-24 Entrada em Vigor: 2018-04-01
--	--	---

Índice

	Página
1. OBJECTIVO E ÂMBITO	3
2. DEFINIÇÕES.....	3
3. HISTÓRICO	6
4. CARACTERÍSTICAS E CRITÉRIOS DE DESEMPENHO DE UM MÉTODO DE ENSAIO.....	7
5. PLANO DE VALIDAÇÃO	7
6. IMPLEMENTAÇÃO E REVISÃO.....	8
7. RELATÓRIO DE SÍNTESE.....	9
8. REVALIDAÇÃO/REVERIFICAÇÃO	10
9. REFERÊNCIAS	10
APÊNDICE - REGISTO DE ALTERAÇÕES.....	12

Preparado por: CEO DA SADCAS	Aprovado por: Conselho de Administração da SADCAS	Data de Aprovação: 07/05/2015 Substitui: SADCAS BP 04 Edição 1 Data de vigência: 11/05/2015
-------------------------------------	--	--

1. OBJECTIVO E ÂMBITO

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

Estes critérios são aplicáveis a ensaios químicos de Carvão, Óleo, Petróleo, Metais, Minerais, Alimentos, Farmacêuticos, Água e indústrias relacionadas.

Os elementos abaixo não fazem parte deste documento:

- Amostragem;
- Tratamento de amostras; e
- Transporte.

2. DEFINIÇÕES

2.1 **Precisão** - Até que ponto os resultados dos ensaios gerados pelo método e o verdadeiro valor estão conforme. A exactidão também pode ser descrita como a proximidade de concordância entre o valor adoptado, seja como um valor de referência convencional, verdadeiro ou aceite, e o valor encontrado. A exactidão inclui tanto a veracidade como a precisão.

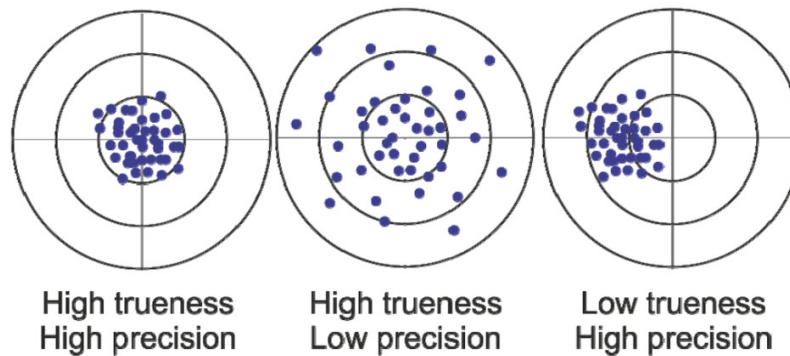
2.2 **Veracidade** - A proximidade de concordância entre a média de um número infinito de valores de quantidades medidas replicadas e um valor de quantidade de referência. A veracidade está inversamente relacionada com o erro sistemático de medição.

2.3 **Tendência** - É uma estimativa do erro sistemático de medição que é um componente do erro de medição em medições replicadas permanece constante ou varia de uma forma previsível. Varia inversamente com a veracidade. A determinação da tendência depende da 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 de material de referência certificado (o mais próximo possível), através de testes de recuperação usando amostras perfuradas, por comparação com outro método validado (padrão ou de referência) ou através da participação em testes de proficiência.

2.4 **Precisão** - A proximidade de concordância entre os resultados de testes independentes obtidos por medições replicadas na mesma amostra ou em amostras semelhantes sob condições especificadas (quão próximos estão os valores medidos uns dos outros). Normalmente é expresso como o desvio padrão, desvio padrão relativo (RSD) ou RSD% (coeficiente de variação).

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

From <http://www.mdpi.com/2218-1989/2/4/1012/htm>



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

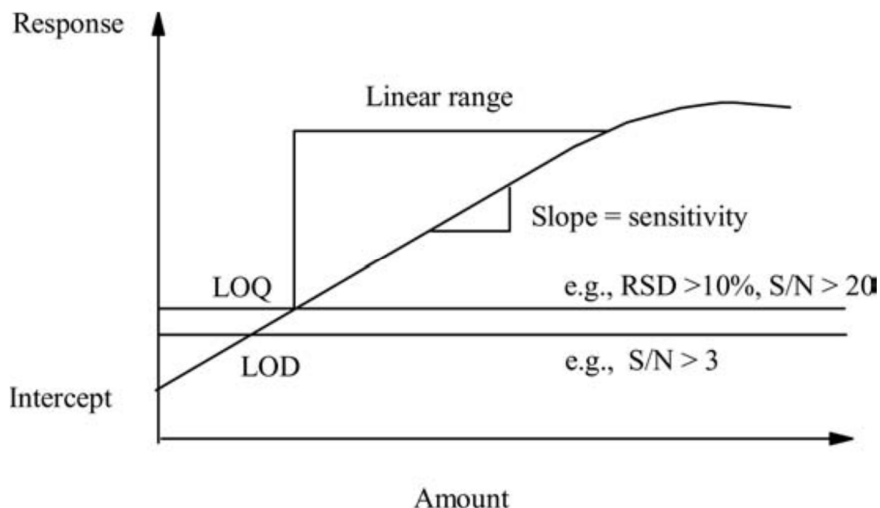
- 2.4.1. **Repetibilidade** - As condições envolvem o mesmo procedimento de medição, os mesmos operadores, as mesmas condições de operação, o mesmo sistema de medição e a mesma localização, e replicar medições no mesmo ou em objectos similares durante um curto período de tempo.
- 2.4.2. **Precisão intermediária** - Também pode ser descrita como reprodutibilidade intra-laboratorial. As condições envolvem o mesmo procedimento de medição, a mesma localização e medições replicadas sobre o mesmo ou similar objecto 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 intermediária pode ser obtida de forma mais conveniente a partir de dados derivados da análise de amostras de controlo executadas rotineiramente durante um período de tempo prolongado.
- 2.4.3. **Reprodutibilidade** - As condições incluem diferentes localizações, operadores, sistemas de medição e medições replicadas sobre o mesmo objecto ou objectos semelhantes. A reprodutibilidade pode ser obtida a partir de estudos inter-laboratoriais.
- 2.5 **Linearidade ou linearidade após uma transformação adequada**, por exemplo, ajuste quadrático - Capacidade de um método para obter resultados de ensaios proporcionais à concentração da análise dentro de uma determinada faixa de trabalho.
- 2.6 **Intervalo de trabalho** - O intervalo de um método analítico é o intervalo entre os níveis superior e inferior de uma análise, incluindo os níveis que se demonstraram serem determinados com um nível adequado e definido de precisão, exactidão e linearidade, utilizando o método tal como

escrito. O intervalo de trabalho é normalmente expresso nas mesmas unidades que os resultados dos ensaios obtidos pelo método analítico.

- 2.7 **Limite de Detecção (LOD)** - A menor concentração de análise que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada sob as condições indicadas no ensaio. 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 and U. Ornemark (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. www.eurachem.org.*
- 2.8 **Verificação** - Confirmação através de exame e fornecimento de provas objectivas de que os requisitos especificados foram cumpridos.
- 2.9 **Incerteza de Medição (Incerteza de Medição)** - Parâmetro associado ao resultado de uma medição que caracteriza a dispersão dos valores que poderiam ser razoavelmente atribuídos à medição.
- 2.10 **Limite de quantificação (LOQ)** - A menor concentração de análise que pode ser determinada com precisão (e exactidão) aceitável sob as condições indicadas no teste.
- 2.11 **Sensibilidade** - Capacidade do método para discriminar entre pequenas diferenças de concentrações de análise.
- 2.12 **Especificidade/Selectividade** - A capacidade de um método para responder a uma análise particular de interesse na presença de possíveis interferências, tais como impurezas, degradantes e efeitos de matriz.

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

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



3. HISTÓRICO

- 3.1 A validação de um método é o processo de estabelecer as características e limitações de um método e a identificação das influências que podem alterar essas características e a medida em que elas podem ser alteradas. É também o processo de verificação da adequação de um método à finalidade, ou seja, à utilização para a resolução de um problema analítico específico.
- 3.2 A verificação refere-se a um processo que fornece evidências de que o laboratório pode alcançar as características de desempenho dadas num método analítico específico, especialmente exactidão e precisão, e demonstrar que o método é adequado para o uso pretendido. A extensão e a natureza desse trabalho de verificação dependem das necessidades do cliente e da utilização pretendida.
- 3.3 A validação é sempre um equilíbrio entre custos, riscos e possibilidades técnicas.
- 3.4 Para esclarecimento sobre quando realizar a validação ou verificação, consulte a Tabela 1. Esta Tabela foi adaptada do *PALCAN Guidance for the Validation of Test Methods* (Guia PALCAN para a Validação de Métodos de Ensaio).

Tabela 1- Quando é que 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) de acordo com os requisitos da ISO/IEC 17025
Método padrão publicado mais documentação adicional para etapas opcionais.	A validação completa só pode ser requerida se forem feitas alterações no método Padrão.
Método desenvolvido internamente/ Método desenvolvido no laboratório	Validação completa (Vide Secção 5).
Método publicado na literatura científica sem quaisquer dados de desempenho.	Validação completa (Vide 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 grau de validação irá variar para demonstrar que a mudança não tem um impacto significativo nas características de desempenho.
Método padrão publicado e aplicado a diferentes matrizes, diferentes faixas de concentração, análises ou método padrão publicado utilizado para um propósito similar, mas em condições diferentes.	A validação é necessária e a extensão variará, por exemplo, a validação deve ser extensiva conforme necessário para responder às necessidades de uma determinada aplicação ou campo de aplicação.
Padrão arquivado publicado ou método previamente validado que é restabelecido.	Confirmação de características de desempenho anteriores (Verificação).
Análises adhoc ou especiais (acreditação de âmbito flexível)	Validação completa dos métodos acreditados de âmbito flexível, conforme necessário.
Kits de teste comerciais - testados em colaboração, avaliação por terceiros (por exemplo, AOAC).	Confirmação das características de desempenho publicadas (verificação) mas a validação pode ser necessária se, e quando forem feitas alterações ou quando as matrizes forem diferentes.
Kits de Teste Comerciais - sem dados de desempenho disponíveis, incompletos ou não aplicáveis.	Validação completa.

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

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

Nota: a validação deve ter levado em conta os Padrões de Referência utilizados e a pureza e homogeneidade da amostra.

4.2 Critérios de execução "significa requisitos para uma característica de desempenho segundo a qual se pode julgar que o método analítico é adequado para o propósito e gera resultados confiáveis".

5. PLANO DE VALIDAÇÃO

O âmbito do método e os seus critérios de validação devem ser definidos no início do processo. Estes incluem as seguintes questões:

- i) Finalidade da medição (que análises devem ser detectadas e por quê?).
- ii) Quais são as matrizes da amostra?
- iii) São esperadas substâncias interferentes, se sim, elas devem ser detectadas e quantificadas?
- iv) Existe algum requisito legal ou regulamentar específico?
- v) Quão robusto deve ser o método?
- vi) Âmbito de medição (Quais são os níveis de concentração esperados?)
- vii) Existem condições específicas de alojamento do equipamento e condições ambientais que precisam de ser consideradas?
- viii) Que tipo de equipamento deve ser utilizado? O método é para um instrumento específico, ou deve ser usado por todos os instrumentos do mesmo tipo?
- ix) Método utilizado para a preparação da amostra, subamostragem, procedimento e instrumentos a serem utilizados?
- x) Identificação das características de desempenho:
 - Exactidão
 - Tendência (Erros sistemáticos)
 - Precisão
 - Reprodutibilidade
 - Repetibilidade
 - Linearidade
 - Intervalo de trabalho

- Limite de Detecção
- Limite de Quantificação
- Sensibilidade
- Especificidade
- Incerteza de Medição
- Robustez/Resistência

Todos os factores acima referidos devem ser abordados, no entanto, devem ser apresentadas razões válidas, se uma característica de desempenho não for avaliada.

xi) Projecto experimental

Dentro destas abordagens, os laboratórios devem, de preferência, *Eurachem Guide: The Fitness of Purpose of Analytical Methods*. Outras abordagens podem ser seguidas desde que o laboratório possa apresentar evidências científicas de que a sua abordagem é válida.

6. IMPLEMENTAÇÃO E REVISÃO

6.1 Analisar os dados aplicando as ferramentas estatísticas apropriadas, por exemplo, Análise de Variância (ferramenta ANOVA, em Excel, para estatísticas), regressão linear, *t-test*, *f-test*, etc.

Nota: Certifique-se de que as convenções relativas ao uso 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. No arredondamento de um número que termina em 5, sempre arredondar para que o resultado termine com um número par. Por exemplo, o arredondamento de um número: 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 Faça uma declaração sobre a adequação ao objectivo
- 6.3 Mantenha registos da validação, incluindo dados brutos e outras evidências adequadas.
- 6.4 O relatório final de validação deve conter conclusões, resumos de dados experimentais e cálculos que fundamentem cada um dos parâmetros de desempenho analítico aplicáveis.

7. RELATÓRIO SUMÁRIO

7.1 O laboratório deve ter disponível para análise, um relatório resumindo toda a validação/verificação do método para todos os métodos utilizados no laboratório. O relatório deve incluir:

7.1.1 Referência ao método de ensaio como validado/verificado. Isto inclui informação sobre equipamento, reagentes, calibração, etc. (Pode surgir confusão se o método não responder aos critérios de execução e se for necessário um maior desenvolvimento do método).

- 7.1.2 Referência ao procedimento de validação/verificação ou plano utilizado para gerar as características de desempenho do método de teste.
 - 7.1.3 Um resumo das características de desempenho do método de teste e como estas foram calculadas ou definidas. Os dados brutos também devem estar disponíveis para análise.
 - 7.1.4 Os critérios de desempenho do método de ensaio em relação ao qual as características foram avaliadas e se o método é ou não adequado à finalidade que se destina.
 - 7.1.5 O uso pretendido do método.
 - 7.1.6 Estimativas da incerteza de medição baseadas em documentos interpretativos da ISO GUM, como o *Eurachem/CITAC Guide*. Quando se utiliza uma abordagem de método completo, a precisão intermédia deve ser utilizada como base.
 - 7.1.7 O número de figuras significativas que devem ser reportadas para o resultado da medição depende da incerteza do resultado; a incerteza deve ser arredondada para dois números significativos. Os resultados devem ser arredondados para serem consistentes com a incerteza dada
- 7.2 Se o método que não é um método padrão publicado for usado rotineiramente, espera-se que ao longo do tempo haja modificações ou melhorias. Esta informação precisa de ser documentada e disponível para avaliação. Os dados de teste de proficiência em curso e os dados de controlo de qualidade devem ser revistos pelo laboratório para confirmar a adequação do método.
- 7.3 O SADCAS exige que todos os dados de validação/verificação estejam prontamente disponíveis no laboratório enquanto o método aparecer no calendário de acreditação.

8. REVALIDAÇÃO/REVERIFICAÇÃO

Espera-se que o laboratório comprove continuamente que a validação/verificação ainda é actual através dos procedimentos de controlo de qualidade que incluem as características/parâmetros de desempenho do método. A revalidação/reverificação parcial ou total pode ser considerada quando:

- i) É introduzido um novo instrumento;
- ii) Novas amostras com novos compostos ou novas matrizes são introduzidas (Huber: 8.3);
- iii) É usado um novo local com condições ambientais diferentes (Huber: 8.3);
- iv) São utilizados novos produtos químicos e/ou padrões de referência (Huber: 8.3);
- v) São implementadas modificações devido a problemas analíticos (Huber: 8.3);
- vi) Uma revisão do controlo de qualidade indica que um método estabelecido está mudando com o tempo;
- vii) Programado de acordo com os procedimentos laboratoriais;
- viii) No caso de o critério de desempenho do método estar fora dos critérios de aceitação (Huber: 8.3).

Nota 4: No caso de ser indicado um novo analista para realizar análises, espera-se que o laboratório garanta que o analista é competente e responde aos critérios de desempenho do método/procedimento necessário.

9. REFERÊNCIAS

- B. Magnusson and U. Ornemark (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. www.eurachem.org.
- ISO/IEC 17025 - General Requirements for the competence of testing and calibration laboratories. SADCAS TR 26-03 – Criteria for validation of methods used by Chemical laboratories in the Coal, Oil, Petroleum, Metals and Minerals, Food, Pharmaceuticals, water and related industries.
- PALCAN Guidance for the Validation of Test Methods. Can-P-1629. November 2006. Standards Council of Canada.
- Skoog, D.A. & West, D.M. Fundamentals of Analytical Chemistry, 99th Edition, 2014.
- SLR Ellison and A Williams (eds.) Eurachem/CITAC Guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, (3rd ed. 2012). Available from www.eurachem.org.
- International Vocabulary of Metrology - Basic Concepts and Associated Terms (VIM), (2nd ed. 2008) by Working Group 2 of the Joint Committee for Guides in Metrology.

- GUM: Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement. ISO, Geneva (1993).
- (ISBN 92-67-10188-9) (Reprinted 1995: Reissued as ISO Guide 98-3 (2008), also available from <http://www.bipm.org> as JCGM 100:2008). <http://www.bipm.org> as JCGM 100:2008)
- VAM Projects 3.2.1 Development and Harmonization of Measurement Uncertainty Principles Part (d) Protocol for Uncertainty evaluation from Validation data. V J Barwick and S L R Ellison. January 2000 LGC/VAM/1998/088.

APÊNDICE - REGISTO DE ALTERAÇÕES

Estado de revisão	Alteração			Aprovado por	Data de Vigência
	Página No.	Parágrafo	Descrição da alteração		
Edição 1	-	-	-	Director Executivo SADCAS	2018-03-24