

7 Considerações Finais

Este trabalho estudou os principais parâmetros utilizados na validação de métodos propondo metodologias alternativas e/ou complementares com o intuito de obter parâmetros de desempenho mais confiáveis. Apresentou uma metodologia geral para validação de métodos analíticos, através de uma abordagem que combinou quatro diferentes aspectos da validação: a modelagem da curva de calibração; o controle da especificidade do método; a comparação da tendência e precisão (repetitividade e precisão intermediária) do método com um método de referência; e a estimação das componentes de incerteza inerentes a todos esses aspectos.

Na modelagem geral para obtenção da curva de calibração foram utilizadas técnicas estatísticas para avaliação da linearidade e para o cálculo do mínimo valor detectável e do mínimo valor quantificável.

Foram apresentadas algumas transformações para a variável resposta, a partir da análise visual do gráfico que relaciona os resíduos com os valores previstos do modelo proposto para curva de calibração, pois se esta relação se apresentar curvilínea isto será sinal de não-aditividade do modelo; nesse caso, a não-aditividade pode ser eliminada por uma transformação adequada.

Para testar a normalidade dos resíduos, além da análise visual, utilizou-se o teste de normalidade de Anderson-Darling. É uma modificação do teste de Kolmogorov-Smirnov, sendo um teste mais sensível do que este último.

Apesar da literatura (Hubert et al., 1999) sugerir o teste de Levene para avaliar o pressuposto de homogeneidade de variância, utilizou-se o teste de Bartlett para testar a igualdade de variância, por ser mais sensível quando as medições seguem uma distribuição normal, ou quase normal (Montgomery, 1996).

A teoria de regressão clássica foi utilizada, de acordo com a literatura referente à validação de métodos analíticos, que pressupõe que a variável x não contém erro de medição e que as medições são independentes. Entretanto, sabe-se que, especialmente em procedimentos de medição química, existem erros de medição em x ; além disso, a não consideração de possíveis correlações entre as medições reflete-se nas estimativas dos parâmetros. Essas questões são possibilidades abertas para pesquisa.

Os parâmetros de avaliação da especificidade do método analítico, obtidos pelos mínimos quadrados, foram testados a partir de um teste de hipóteses simultâneas, porque o uso de testes de hipóteses individuais, embora seja o procedimento usual, é inadequado.

De modo geral, para avaliar a variabilidade observada de um procedimento de medição, considera-se a soma da variabilidade do procedimento mais a variabilidade do erro de medição, ou seja:

$$\sigma^2_{\text{Total}} = \sigma^2_{\text{Procedimento}} + \sigma^2_{\text{Medição}}$$

Em termos de repetitividade e reprodutibilidade, tem-se que:

$$\sigma^2_{\text{Medição}} = \sigma^2_{\text{Reprodutibilidade}} + \sigma^2_{\text{Repetitividade}}$$

Com $\sigma^2_{\text{Reprodutibilidade}}$ representando a variação de pelo menos uma fonte de variação.

A reprodutibilidade, para estudos intralaboratoriais, não pode ser avaliada da maneira definida pela ISO, mas a precisão intermediária sim, desde que esta contribua para a variabilidade das medições do laboratório (Maroto, 1999).

No estudo da tendência e da precisão do método quando comparado a um método de referência, utilizou-se um modelo hierárquico de quatro níveis, conforme sugerido pela ISO.

As estimativas das componentes de variabilidade obtidas pela análise de variância do modelo hierárquico, freqüentemente, podem ser negativas. A ISO sugere que nesse caso os valores de tais estimativas sejam substituídos por zero.

Montgomery (1996) sugere que se retire do modelo a fonte de variação que ocasionou tal resultado, ou que se utilizem outros métodos de estimação de

componentes de variância, como os métodos de verossimilhança restrita e os estimadores quadráticos não tendenciosos de variância mínima.

Outro importante enfoque dado neste trabalho é a estimação da incerteza da curva de calibração. Foram apresentados os intervalos fiduciais obtidos a partir da estatística *t* de *Student* e a partir da estatística *F*, utilizando um intervalo de Working-Hotelling.

Segundo Hunter *apud* ASQ (2001), o intervalo *t* é válido apenas para prever o sinal (resposta) média de x_0 , enquanto o intervalo de Working-Hotelling que emprega a estatística *F* de Snédecor, é válido para toda faixa de trabalho da *curva de calibração*.

Por fugir do escopo deste trabalho, não foram detalhadas as incertezas devidas à separação e pré-concentração do analito de interesse, a condições ambientais, instrumentos ou operadores, bem como à amostragem de campo (que freqüentemente não é considerada, pois se consideram somente as estimativas de incerteza correspondentes à amostra que foi preparada no laboratório, embora o valor desta componente seja usualmente muito alto e freqüentemente exceda a todas as outras).

Inúmeras mensurações analíticas são feitas diariamente em laboratórios em todo o mundo. Os custos acarretados por essas mensurações são grandes e ainda mais altos quando se consideram os resultados. Por exemplo, testes para avaliar se um alimento é apropriado para consumo ou testes para confirmar a existência de drogas proibidas poderão resultar em multas, prisões e até execuções, em alguns países. Por isso é necessária a determinação correta dos resultados e a comprovação da veracidade dos mesmos.

A principal contribuição deste trabalho é a sistematização dos procedimentos da metodologia estatística para a validação de métodos analíticos em química e a contribuição para o aperfeiçoamento e a padronização da prática laboratorial.

Para que as conclusões obtidas com o processo de validação de um método sejam aplicáveis (válidas) no uso futuro do método em operações de rotina, deve-se, no processo de validação, ter em conta as condições do uso futuro do método,

considerando a natureza, frequência de análise, tamanho dos lotes, grau de automação e a implementação do controle de qualidade interno.

O controle de qualidade interno requer que:

- i) características como faixa de concentração, sensibilidade, seletividade, sejam adequadas ao método que está sendo validado,
- ii) os equipamentos instrumentais do laboratório e acessórios técnicos sejam compatíveis com o método analítico;
- iii) o laboratório tenha condições adequadas para a manutenção dos instrumentos analíticos;
- iv) a cadeia de suprimento de reagentes, solventes, gases, bem como amostra padrão e misturas, sejam controlados;
- v) o pessoal do laboratório seja suficientemente treinado e qualificado para operações analíticas;

É recomendado especificamente o uso de gráficos de controle para monitorar a qualidade da amostra, de modo a:

- detectar *deriva* no sistema;
- detectar modificação no sinal do analito, devido ao uso de diferentes brancos;
- checar a repetitividade da amostra através da análise em duplicatas.

Já o controle de qualidade externo ajuda no alto desempenho de reprodutibilidade entre laboratórios e erros sistemáticos. É importante no rastreamento das medições em níveis nacionais e internacionais. É uma forma de monitorar a proficiência dos resultados, como uma maneira de garantir os protocolos de qualidade.

Uma vez que o processo de validação do método tenha sido concluído, é importante documentá-lo sem ambigüidades, pois a documentação irá ajudar em sua aplicabilidade em outras ocasiões, já que a sua consistência tem efeito direto em sua aplicação.