

Estudo de estabilidade de controlo analítico em método multi-substâncias por LC/MS-MS do SQTF

Carla Mustra, Suzana Fonseca, Paula V. Monsanto, Paula Proença, João Miguel Franco

INMLCF - Serviço de Química e Toxicologia Forenses

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

O desenvolvimento e validação de métodos analíticos é uma tarefa fundamental e frequente do Serviço de Química e Toxicologia Forense (SQTF) que envolve o estudo de vários parâmetros como modelo de calibração, seletividade, sensibilidade, exatidão, precisão, estabilidade, entre outros. O grau de complexidade de uma validação aumenta a par com o número e especificidade das substâncias abrangidas pelo próprio método. Tão ou mais importante que a validação do método é o seu controlo analítico ao longo do tempo, o que designamos por controlo de qualidade interno (CQI), que permite avaliar o desempenho do método e do equipamento, garantindo a qualidade dos resultados emitidos.

O SQTF tem vindo a ampliar o leque de substâncias pesquisadas nos seus laboratórios e a melhorar os níveis de sensibilidade dos métodos com vista a dar resposta às solicitações. Este crescimento e mudança de métodos foi possível, principalmente devido à aquisição de novos equipamentos, o que implica desafios acrescidos relativamente a inúmeros aspetos, nomeadamente ao controlo de qualidade interno. O objetivo deste trabalho é demonstrar como um estudo preliminar da estabilidade de um controlo analítico pode contribuir para a adoção de critérios que permitam avaliar o desempenho do método / equipamento ou mesmo conduzir a novas propostas, como por exemplo a escolha de padrões internos mais adequados.

MATERIAIS E MÉTODOS

Durante 2 meses foi injetado juntamente com as sequências analíticas de confirmação/quantificação de substâncias medicamentosas de amostras de rotina, um controlo analítico preparado a partir de uma amostra de sangue “branca” (sangue onde previamente se confirmou a ausência das substâncias em estudo) fortificada com cerca de 180 substâncias a uma concentração de 50 ng/mL e padrão interno (PI) deuterado (clomipramina-d3). Foram avaliadas 177 substâncias medicamentosas relativamente à sua resposta ao longo do tempo (razão entre a área da substância e área de padrão interno) num total de 13 injecções.

O tratamento estatístico dos dados foi efetuado com recurso à aplicação Microsoft Office Excel® (Microsoft Corporation).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se que a maioria das substâncias, cerca de 80%, apresentaram uma resposta com estabilidade aceitável ao longo do período estudado (Fig 1- substâncias com exatidão > 60% rodeadas com linha verde). No entanto, algumas mostraram variações assinaláveis, nomeadamente o Grupo 1 (Fig. 2), com baixa razão entre as áreas e o Grupo 2 (Fig. 3) cujo coeficiente de variação da razão das áreas é superior a 60%.

Grupo substâncias estudadas

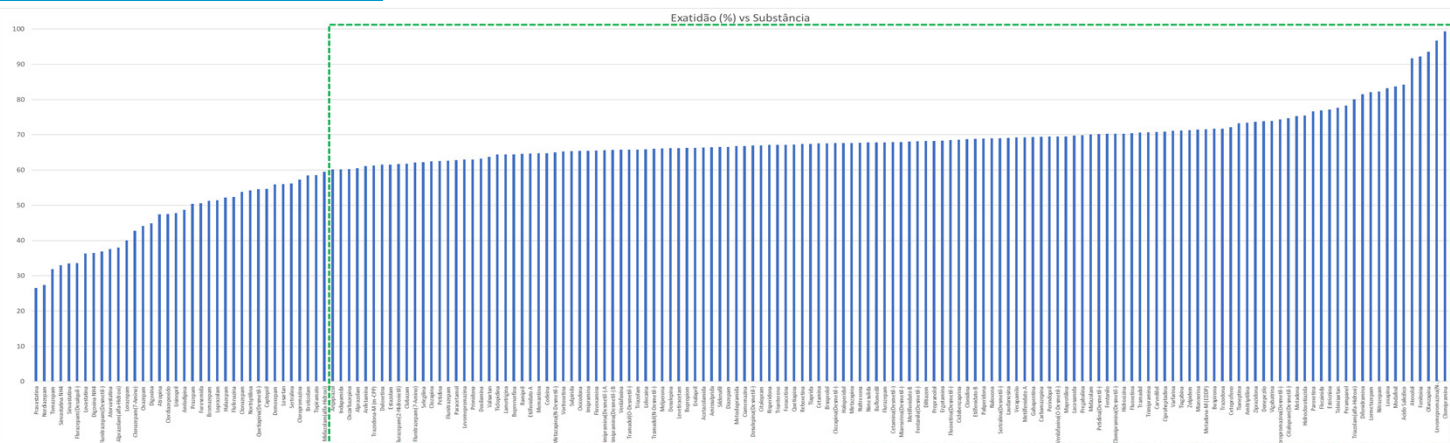


Fig. 1 – Resultados da exatidão das substâncias estudadas aplicando a clomipramina d3 como padrão interno após 13 injecções no período de 2 meses (área da substância/área PI).

Nestes casos é importante avaliar as causas dessas variações, procurando soluções, por exemplo a seleção de padrão interno com resposta mais adequada à substância (e.g. PI de ionização negativa, PI deuterado). Estas variações podem também indicar alterações no desempenho do método e/ou equipamento, podendo ser adotadas como marcadores desse desempenho para adoção de ações preventivas.

Grupo 1

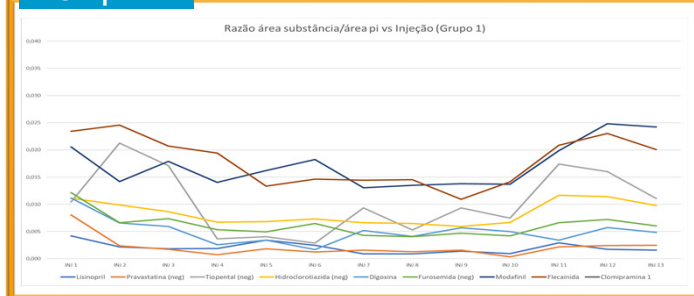


Fig.2 – Variação da razão de algumas substâncias estudadas ao longo das injecções (Grupo 1).

Grupo 2

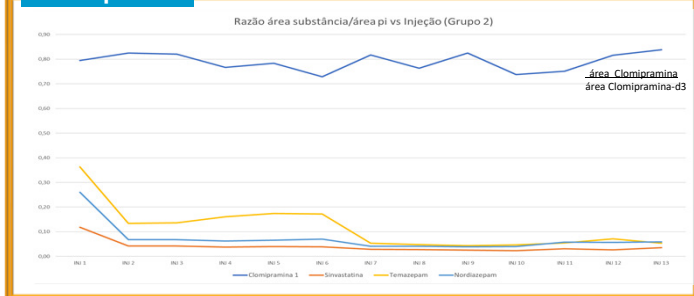


Fig.3 – Variação da razão de algumas substâncias estudadas ao longo das injecções (Grupo 2).

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos neste estudo são um ponto de partida para a escolha de substâncias que podem servir de marcadores de desempenho do método e do próprio equipamento, contribuindo para a seleção de futuros critérios a aplicar no controlo de qualidade interno do SQTF e garantia qualidade dos resultados emitidos.