

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE ADENINA EM BOLSA DE SANGUE

Anna Maria B. S. Fust¹*(TM), Ana Cristina M.de A. Nogueira²(PQ), Michele Feitoza-Silva¹ (PQ), Filipe S. Q. da Silva¹ (PQ).

1,3,4 – anna.fust@incqs.fiocruz.br – Fiocruz - Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde – Dept^o Química.

2 - Fiocruz - Instituto Oswaldo Cruz – Laboratório de Biotecnologia e Fisiologia de Infecções virais(LABIFIV).

Palavras Chave: adenina, CLAE e validação

Introdução

As bolsas de coleta de sangue humano no Brasil são regulamentadas pela Portaria nº 950, de 26 de novembro de 1998. A adenina é um dos componentes desta solução, utilizada para diminuir a hemólise durante a estocagem do sangue. O objetivo deste estudo foi desenvolver e validar um método alternativo aos oficiais para determinação quantitativa por cromatografia líquida de alta eficiência de fase reversa com pareamento iônico da adenina. A importância deste estudo é a diminuição do custo das análises e a possível alteração da legislação vigente no que concerne à normatização de bolsas de sangue utilizadas no Brasil.

Resultados e Discussão

O desenvolvimento do método foi feito otimizando a fase estacionária, o pH, a concentração do pareador, modificador orgânico, buscando os melhores resultados quanto a adequação do sistema. O procedimento que apresentou o melhor desempenho foi semelhante a outros métodos descritos na literatura para adenina, optando-se por colunas de fase reversa e adição de um pareador iônico na fase móvel. A condição final foi o uso de uma coluna cromatográfica de fase reversa Symmetry® C₈ (250 x 4,6 mm; 5,0µm), fase móvel 2,5% de ácido acético + 0,02% acetato de amônio + 0,005 % heptano sulfonato de sódio + 5% de acetonitrila, fluxo de 0,6 mL/min e detecção UV a 262 nm. Pode-se observar na figura 01, que o pico apresentou uma pureza e retenção adequada, através dos espectros de absorção no ultravioleta em 3D obtido com auxílio do detector DAD.

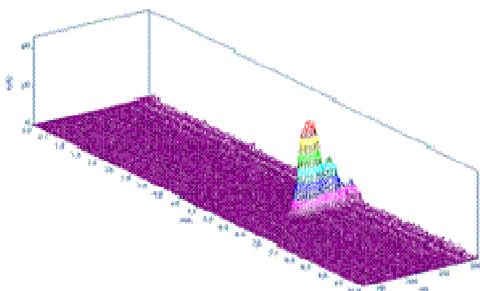


Figura 1. Cromatograma em 3D da adenina, demonstrando sua pureza

A validação do método foi feita observando-se as figuras de mérito necessárias para métodos de determinação de constituintes de uma amostra. A tabela 01 apresenta um resumo desses valores. Os valores demonstraram que o método atinge os objetivos para a determinação de constituintes.

Tabela 1. Resultados da Validação

Figuras de Méritos	Resultados
Especificidade e Seletividade	Único sinal no λ máx (262 nm)
Efeito matriz	Não há efeito de matriz
Linearidade	Linear de 0,0264 a 0,0480 mg/mL
Exatidão	104 a 107% - Método de adição padrão
Precisão-Repetitividade	DPR _r = 1,6
Precisão intermediária	DPR (Si) = 3,6
Robustez	Robusto à pequenas variações

DPR_r – Desvio padrão relativo de repetitividade

DPR_(Si) – Desvio padrão relativo de precisão intermediária

Conclusões

A metodologia analítica é confiável e reprodutível quanto aos parâmetros de Validação Analítica, recomendados por ANVISA, 2003 e INMETRO, 2010.

Agradecimentos

À FIOCRUZ e ao INCQS.

BRASIL, Resolução n.899, de 29 de maio de 2003. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos. **Diário Oficial da União**, Brasília, Seção 1, 2 jun 2003.

INMETRO. **DOQ-CGCRE-008 (Rev.03)**: Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos. Rio de Janeiro, 2010.