

3 CONFIABILIDADE METROLÓGICA EM LABORATÓRIO DE ENSAIO

Mudanças cada vez mais rápidas e significativas no ambiente competitivo demandada uma incessante busca por qualidade e produtividade. Dessa forma, indústrias, entre outros, têm procurado uma resposta para o aumento de sua competitividade basicamente em duas "frentes de ataque": na otimização dos seus processos produtivos, bem como no incremento dos seus processos de desenvolvimento de novos produtos.

É neste contexto que a confiabilidade adquire um elevado grau de importância, dado o seu enorme potencial para o aumento de produtividade e melhoria da qualidade dos serviços.

Quando se trata de um laboratório de ensaio, o conceito de confiabilidade não é diferente. A confiabilidade de uma análise, por exemplo, está associada ao grau de veracidade da resposta dos dados fornecidos, ou seja, é algo obrigatório, óbvio. Assim, a noção de confiabilidade exerce grande influência na percepção e avaliação que os usuários fazem sobre a qualidade destes dados ou até mesmo sobre os laboratórios que realizaram o ensaio.

Nesse sentido, e em se tratando de um trabalho com grande relevância a saúde ambiental, e para a sociedade de forma geral, tentou-se buscar resultados com um certo nível de qualidade e confiabilidade. Sendo assim, esta lacuna começou a ser preenchida fazendo uma abordagem da estrutura da confiabilidade metrológica, sistemas de garantia da qualidade, bem como validação de metodologias analíticas, que pode ser observado a seguir.

3.1. ESTRUTURA DA CONFIABILIDADE METROLÓGICA

Segundo *Cerqueira Neto*, citado por Paiva (2201), a produção de informações laboratoriais necessita da presença de três contribuições:

- A ação dos operadores de laboratório, habilitados para executar a medida;
- A existência da metodologia referendada que descreva os passos a serem seguidos pelo operador na busca de uma medida;
- O instrumento calibrado que possibilitará efetuar a medida, segundo a metodologia de posse do operador;

O estudo da medida (metrologia) é o estudo destas três contribuições, ditas e conhecidas como fatores metrológicos.

Um laboratório de ensaio não conseguirá obter Confiabilidade Metrológica em todas as suas medições. Problemas em certas medições dificultam ou, até mesmo, impedem a obtenção de Confiabilidade Metrológica em outras medições (INMETRO & ABPTI, 1986).

A Figura 8 mostra os principais componentes para a obtenção da confiabilidade Metrológica. O reconhecimento da necessidade da Confiabilidade Metrológica é somente o início do processo.

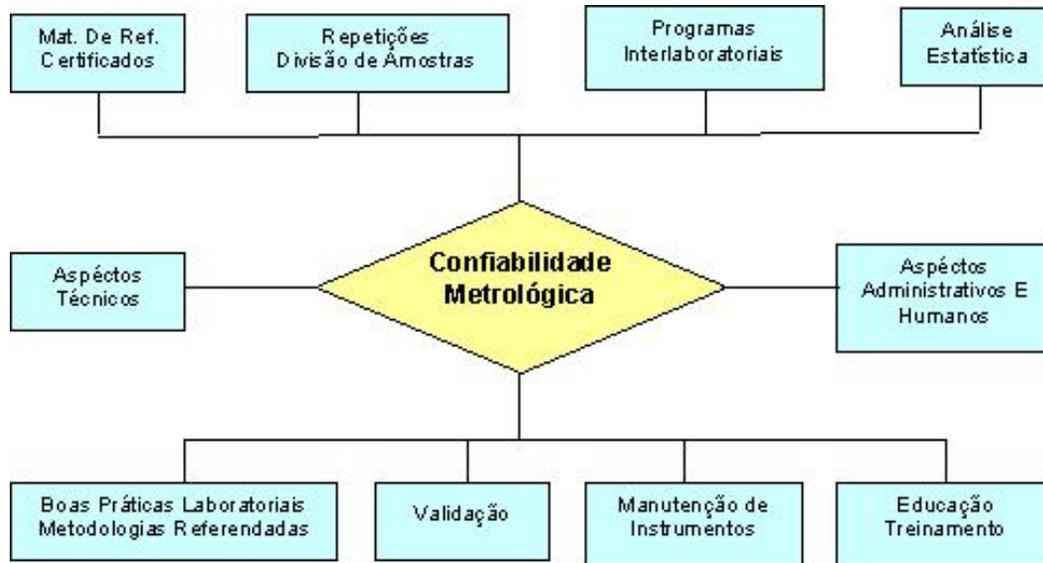


Figura 8. Estrutura da confiabilidade Metrológica (Adaptado de Paiva, 2001).

3.2. SISTEMAS DA QUALIDADE

O objetivo do Sistema de Garantia da Qualidade é prevenir e/ou detectar qualquer erro ou não-conformidade em suas atividades.

A aplicação do Sistema de Garantia da Qualidade requer o compromisso de todo o pessoal do laboratório, independentemente do nível hierárquico, formação e nível educacional, para alcançar o objetivo desejado.

O compromisso do responsável pelo laboratório com a qualidade se demonstra pela disponibilidade dos recursos necessários, humanos, instrutivos e materiais, e pelo seu empenho para que se cumpram as pautas e procedimentos documentados.

Este compromisso se baseia na necessidade do Laboratório alcançar confiabilidade externa para obter assim contratos de análises. Além disso, se existe a possibilidade do Laboratório intervir em ações legais, as medições e resultados de investigação devem ser não somente acreditáveis cientificamente, mas também legalmente defendíveis.

Assim sendo, o intuito de operar sob um Sistema de Garantia de Qualidade inclui e fornece uma extensa documentação das atividades do

Laboratório, o que permite o rastreamento de amostras, padrões e operações em geral.

A política de qualidade do Laboratório se baseia na adoção da [Guia ISO 17025](#) para estabelecer o Sistema de Garantia da Qualidade. Para isto, a premissa básica é a conscientização e compromisso total com os conceitos de Boas Práticas de Laboratório (BPL), Controle de Qualidade e Garantia da Qualidade.

“O novo momento econômico e a lógica inerente ao processo de globalização, que estimula a livre concorrência no contexto de um mercado global, têm levado as organizações a implementarem um sistema da qualidade e a demonstração da competência técnica e de suas unidades envolvidas na produção de bens de serviços”. (Gomes, 2000).

Segundo Gomes (2000), embora esta lógica esteja mundialmente aceita e relativamente bem implantada no ambiente dos laboratórios industriais (calibração e ensaios), praticamente muito pouco foi percebido no âmbito dos laboratórios de ensino, pesquisa e desenvolvimento existentes em universidades e centros de pesquisa. Ainda que sensibilizados pela importância do credenciamento, a quase totalidade desses laboratórios encontra dificuldades em satisfazer as complexas exigências do organismo credenciador.

“No Brasil, o primeiro impulso forte para o desenvolvimento de sistemas da qualidade em laboratórios de ensaio originou-se em regulamentações oficiais, dentre outros nos setores de meio ambiente e agricultura, como exigência para o reconhecimento mundial de boletins de ensaios emitidos com fins de registro no ministério ou intercâmbio internacional de produtos. Dentre estas iniciativas, merece particular destaque à do Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e Recursos Renováveis – IBAMA ao exigir que os laboratórios que realizam ensaios ou temas destinados a verificar riscos de impacto ambiental devem adequar-se a critérios estabelecidos pelo Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial – INMETRO, baseados em procedimentos de reconhecimento internacional”. (Paiva, 2001).

“Até o final de 1999, a norma de referência para implantação de sistemas de garantia da qualidade em laboratórios era o ISO/IEC Guia 25:1993 editado pela Associação Brasileira de Normas Técnicas – ABNT, o qual estava também direcionado à avaliação da competência técnica de um laboratório quanto a organização e execução de ensaios ou calibrações específicas. A sua atualização em fórum internacional foi desenvolvida e publicada no início de 2000 pela International Organization for Standardization – ISO como norma ISO/IEC 17025:1999. Nesta última versão (ISO 1999), estão apresentados aspectos de serviço ao cliente e de controle de fornecedores de forma muito mais detalhada, cobrindo, desta forma, praticamente todos os requisitos relevantes das normas NBR ISO Série 9000:1994. Isto significa que um laboratório que está em conformidade com a norma ISO/IEC 17025, também o está (dentro do escopo particular estabelecido) com a Série ISO 9000. Entretanto, o oposto não é verdade, já que esta última não se ocupa da competência técnica do laboratório”. (Paiva, 2001).

“Do ponto de vista da especificidade do laboratório de ensaios, deve-se ter em consideração que a norma ISO/IEC 17025 é muito geral e aplicável a qualquer tipo e complexidade de ensaios. Em consequência, é recomendado que aqueles laboratórios que realizam estudos (ensaios ou conjunto de ensaios) destinados a verificar as propriedades de uma substância e/ou seu risco quanto a sua segurança ambiental ou ao respeito à saúde humana ou animal complementam os requisitos da norma ISO/IEC 17025 e os critérios complementares do INMETRO (Norma NIG-DINQP-020) com os critérios da BPL (Boas Práticas de Laboratório), estabelecidos pelo INMETRO através da norma NIE-DINQP-093, onde aplicável”. (Paiva 2001).

3.3. VALIDAÇÃO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS

“Sempre que disponível e apropriado, o laboratório deve referenciar seus procedimentos analíticos em métodos normalizados, isto é, publicados como normas nacionais ou internacionais, procedimentos oficiais de organismos públicos ou privados de renome e reconhecimento em âmbito nacional ou internacional ou, ainda, publicados em revistas de reconhecimento pela comunidade científica pertinente. A aderência do procedimento analítico utilizado à norma referenciada deve ser completa no que diz respeito aos aspectos substantivos do método. Qualquer desvio com relação ao método normalizado deve ser justificado e, quando necessário, validado”. (Paiva, 2001).

A validação de um método estabelece por meio de estudos laboratoriais que suas características de desempenho estão de acordo com as especificações apresentadas para a intenção do uso dos resultados analíticos (Paiva, 2001). Segundo o manual de orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos do INMETRO, as características de desempenho determinadas incluem:

- Seletividade e especificidade;
- Faixa de trabalho;
- Linearidade;
- Sensibilidade
- Limite de Detecção;
- Limite de Quantificação;
- Exatidão;
- Precisão;

Depois de determinados todos esses parâmetros, o método deve contê-los de forma clara, para que o usuário possa avaliar se o método é adequado para as suas necessidades (INMETRO, 2000).

Segundo a EURACHEM, citado por Paiva (2001), são feitas milhões de medidas analíticas diariamente em milhares de laboratórios em todo o mundo.

Entretanto, o custo de realização dessas medições é alto, e custos adicionais decorrem das decisões feitas em cima desses resultados. Fica claro, portanto, a importância de se obter resultados corretos e de ser capaz de mostrar que os mesmos estão corretos.

3.3.1. SELETIVIDADE E ESPECIFICIDADE

Uma amostra, de maneira geral, consiste dos analitos a serem medidos, da matriz e de outros componentes que podem ter algum efeito na medição, mas que não se quer quantificar. A especificidade e a seletividade estão relacionadas ao evento da detecção. Um método que produz resposta para apenas um analito é chamado específico. Um método que produz respostas para vários analitos, mas que pode distinguir a resposta de um analito da de outros, é chamado seletivo. Entretanto, os termos especificidade e seletividade são freqüentemente utilizados indistintamente ou com diferentes interpretações. Na prática, diferentes testes de especificidade e seletividade tentam abordar o mesmo problema: o que nós medimos é o que pensamos que medimos? Entender os diferentes mecanismos que causam interferências pode ajudar na estruturação dos testes e achar soluções para os problemas encontrados. A medição pode ser alterada porque os reagentes, a matriz da amostra ou outros componentes alteram a sensibilidade do detector que mede o analito de interesse ou porque estes compostos afetam diretamente a resposta. O efeito de erros constantes (interferências) e erros proporcionais (efeito de matriz) podem ocorrer ao mesmo tempo. Uma vez conhecidos estes problemas podem ser superados através de adição-padrão, análise de múltiplos componentes ou por uma mudança no pré-tratamento, separações, ou detecções (INMETRO, 2002).

3.3.2. FAIXA DE TRABALHO

“Para qualquer método quantitativo, é necessário determinar a faixa de concentração do analito ou de valores próprios dentro da qual o método pode ser aplicado. No limite inferior da faixa de concentração os fatores limitantes são os valores dos limites de detecção e/ou quantificação. No limite superior da faixa de concentração as limitações serão impostas por diversos fatores dependendo do sistema de resposta do instrumento”. (Paiva, 2001).

3.3.3. LINEARIDADE

A linearidade é a habilidade de um método analítico em produzir resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito em amostras, em uma dada faixa de concentração. A quantificação requer que se conheça a dependência entre a resposta medida e a concentração do analito.

A linearidade de um método pode ser observada pelo gráfico dos resultados dos ensaios em função da concentração do analito ou então calculados a partir da equação da regressão linear, determinada pelo método dos mínimos quadrados.

A Figura 9 ilustra uma nuvem de pontos, indicando que as variáveis (X,Y) não são independentes, existe entre elas uma relação aproximadamente linear.

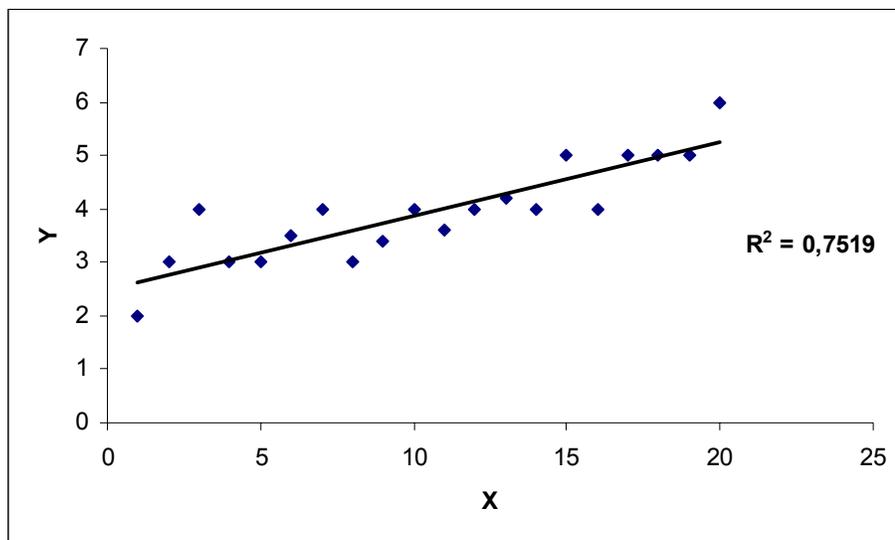


Figura 9. Ilustração de linearidade entre as variáveis (X, Y).

A Figura 10 ilustra uma nuvem de pontos, indicando que as variáveis (X,Y) são quase independentes, a relação linear entre elas é muito pequena e não parece que existe outro tipo de relação entre elas.

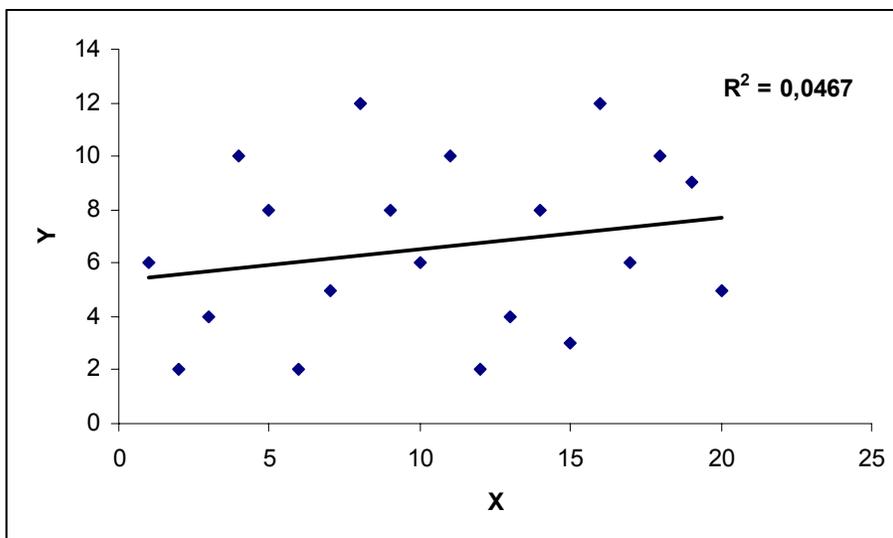


Figura 10. Ilustração de não linearidade entre as variáveis (X, Y).

O coeficiente de correlação linear (r) é a direção e a proximidade da relação linear entre suas variáveis, que são medidos pelo coeficiente de correlação, freqüentemente usado para indicar o quanto pode ser considerado adequado à reta como modelo matemático. Um valor maior que 0,90 é, usualmente, requerido (INMETRO, 2002).

3.3.4. SENSIBILIDADE

Sensibilidade é um parâmetro que demonstra a variação da resposta em função da concentração do analito. Pode ser expressa pela inclinação da curva de regressão linear de calibração e, é determinada simultaneamente aos testes de linearidade. A sensibilidade depende da natureza do analito e da técnica de detecção utilizada.

3.3.5. LIMITE DE DETECÇÃO DO MÉTODO

Quando são realizadas medidas em amostras com baixos níveis do analito ou de uma propriedade, como por exemplo análise em nível de traços, é importante saber qual o menor valor de concentração do analito ou da propriedade que pode ser detectado pelo método. A importância desta determinação e os problemas associados a ela advêm do fato de que a probabilidade de detecção não muda rapidamente de zero para um quando seu

limiar é ultrapassado. Os problemas têm sido investigados estatisticamente e diversos critérios de decisão têm sido propostos. Muitas controvérsias são originadas devido ao fato de não haver atualmente uma concordância da terminologia aplicável. O termo “limite de detecção” não é aceito por todos, apesar de ser usado em alguns documentos setoriais. O limite de detecção do equipamento (LDE) é definido como a concentração do analito que produz um sinal de três a cinco vezes a razão ruído/sinal do equipamento. O limite de detecção do método (LDM) é definido como a concentração mínima de uma substância medida e declarada com 95% ou 99% de confiança que a concentração do analito é maior que zero. O LDM é determinado através de análise completa de uma dada matriz contendo o analito (INMETRO, 2002).

O LDM para um procedimento analítico pode variar em função do tipo da amostra. É fundamental assegurar-se de que todas as etapas de processamento do método analítico sejam incluídas na determinação desse limite de detecção. Para a validação de um método analítico, é normalmente suficiente fornecer uma indicação do nível em que a detecção do analito começa a ficar problemática, considerando análise de sete ou mais amostras de branco.

3.3.6. LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO

O Limite de quantificação é a menor concentração do analito que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão e veracidade. Pode ser considerado como sendo a concentração do analito correspondente ao valor da média do branco mais 5, 6 ou 10 desvios padrão. Algumas vezes é também denominado “Limite de Determinação”. Na prática, corresponde normalmente ao padrão de calibração de menor concentração (excluindo o branco). Este limite, após ter sido determinado, deve ser testado para averiguar se a exatidão e a precisão obtidas são satisfatórias. A diferença entre os limites de detecção e de quantificação é a ordem de grandeza das incertezas associadas (INMETRO, 2002).

3.3.7. EXATIDÃO

“A exatidão é o grau de concordância entre o resultado de uma medição e um valor verdadeiro do mensurando. A verificação da

exatidão dos resultados por meios apropriados se impõe principalmente quando são introduzidas modificações no processo analítico ou admitidos novos equipamentos, quando um analista utiliza um método pela primeira vez ou quando um novo método de análise é proposto”. (Paiva, 2001).

A Figura 11 traz uma ilustração de uma tentativa de acerto, o que pode ser comparado com a exatidão.

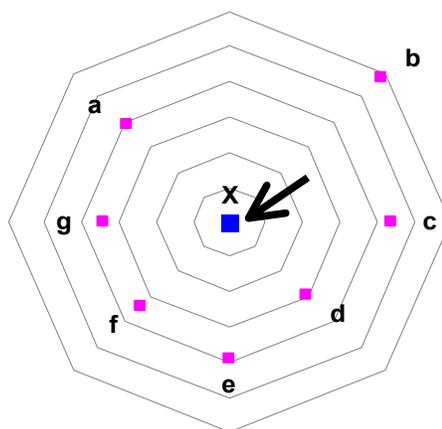


Figura 11. Exemplo da dispersão dos resultados em relação ao resultado verdadeiro.

De acordo com a Figura 11, tem-se que X, indicado pela seta, seja o alvo, ou seja, o ponto mais próximo de X será o resultado mais próximo do exato, e se um dos pontos atingisse o alvo X, teria-se o resultado exato.

“O uso de amostras padrões é particularmente importante nos estudos referentes ao desenvolvimento ou aperfeiçoamento de métodos analíticos. O uso de amostras padrões com a presente finalidade encontra uma séria limitação na dificuldade que há, muitas vezes, em preparar uma amostra com composição realmente comparável a de um complexo material natural. Para conferir a exatidão de um método analítico, efetuam-se várias determinações do constituinte interessado usando uma amostra padrão que contenha aquele constituinte em uma quantidade conhecida. Uma boa estimativa do desvio padrão pode assim ser conhecida. Se houver uma diferença significativa entre os valores observado e conhecido – que só o tratamento estatístico poderá revelar mais apropriadamente - o método provavelmente

apresentará um erro determinado. Não havendo diferença significativa, a exatidão do método é determinada por sua representatividade).

A exatidão de um método pode ser verificada pela análise da mesma amostra com um outro método, independente, reconhecido válido, e também via estudos de intercomparação laboratorial. Estas alternativas são particularmente úteis naqueles casos para os quais não se dispõe de amostras padrão.

Na avaliação da exatidão utilizando um material de referência, os valores obtidos pelo laboratório – média e o desvio padrão de uma série de ensaios em replicata – devem ser comparados com os valores certificados do material de referência”. (Paiva, 2001).

3.3.8. PRECISÃO

Precisão é um termo geral para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, em condições definidas.

A Figura 12 apresenta um exemplo de um ensaio, onde houve um nível de precisão entre os resultados.

De acordo com a Figura 12, percebe-se que os resultados não estão próximos ao alvo (exatos), entretanto, apresentam um grau elevado de repetitividade entre si, estão muito próximos uns dos outros.

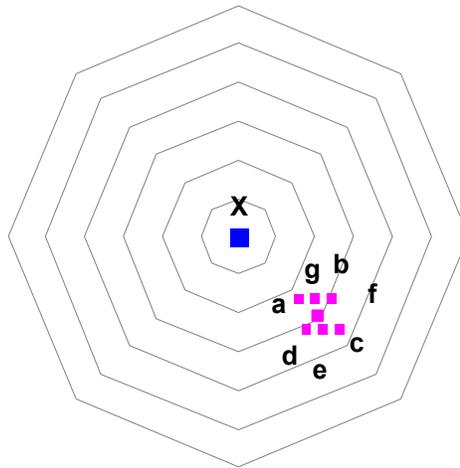


Figura 12. Exemplo de um repetitividade dos resultados de um ensaio.

A precisão é normalmente determinada para circunstâncias específicas de medição e as duas formas mais comuns de expressá-la são por meio da repetitividade e a reprodutibilidade, sendo usualmente expressa pelo desvio padrão (INMETRO 2002).

3.3.8.1. REPETITIVIDADE

É o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo mensurando, efetuadas sob as mesmas condições de medição, chamadas de condições de repetitividade, a seguir:

- Mesmo procedimento de medição;
- Mesmo observador;
- Mesmo instrumento usado nas mesmas condições;
- Mesmo local, e
- Repetições em curto espaço de tempo.

A repetitividade pode ser expressa quantitativamente em termos da característica da dispersão dos resultados e pode ser determinada por meio da análise de padrões, material de referência ou adição a branco em várias concentrações na faixa de trabalho. INMETRO (2000), sugere 7 ou mais

repetições para o cálculo do desvio padrão para cada concentração, chamado desvio padrão de repetitividade.

Limite de repetitividade:

A partir do desvio padrão dos resultados dos ensaios sob condição de repetitividade é aconselhável calcular o limite de repetitividade “r” que capacita o analista a decidir se a diferença entre análises duplicatas de uma amostra, determinada sob condições de repetitividade, é significativa (INMETRO, 2000).

3.3.8.2. REPRODUTIBILIDADE

É o grau de concordância entre os resultados das medições de um mesmo mensurando, efetuadas sob condições variadas de medição. As condições alteradas podem incluir: o princípio de medição, o método, o operador, o instrumento, o laboratório e as condições de utilização (INMETRO, 2002).

Embora a reprodutibilidade não seja um componente de validação de um método executado por um único laboratório, é considerada importante quando um laboratório busca a verificação do desempenho dos seus métodos em relação aos dados de validação obtidos através de comparação interlaboratorial.

A precisão sob condições de reprodutibilidade, por exemplo, onde resultados dos ensaios são obtidos com o mesmo método, variando-se laboratórios, operadores ou equipamentos é denominada “precisão intermediária” (INMETRO, 2000).

Limite de reprodutibilidade:

Do mesmo modo que para repetitividade, o limite de reprodutibilidade (R), para um nível de confiança de 95%, é dado por (INMETRO, 2000).

3.4. FONTES DE ERRO

“Erro de medição é o resultado de uma medição menos o valor verdadeiro do mensurando (INMETRO, 1995). Como o valor do mensurando não é verdadeiramente conhecido, o erro é um conceito idealizado, não podendo ser conhecido exatamente.

Supõe-se que amostras são representativas das condições da população, na ocasião da coleta. A validade dessa hipótese é condicionada por muitos fatores de erros, entre os quais têm-se erros inerentes aos processos de coleta, de manuseio e de medição da amostra. Além desses erros, tem-se o erro humano que podem ocorrer em qualquer ocasião, durante o ciclo, desde a coleta até a emissão de relatórios (INMETRO & ABPTI, 1986).

Estas fontes de erros podem ser muito pequenas e requerem uma cuidadosa averiguação antes de serem citadas nos procedimentos operacionais. Para tal finalidade, é interessante aplicar uma ferramenta de qualidade denominada Diagrama de Causa e Efeito (ou diagrama 6M ou Diagrama de Ishikawa ou Espinha de Peixe), que consiste num diagrama para representar a relação entre um efeito e todas as possibilidades de causa que podem contribuir para esse efeito. O efeito do problema (neste caso, o erro) é colocado no lado direito do gráfico e os grandes contribuidores ou “causas” são citados à esquerda, como mostra a Figura 13”. (Paiva, 2001)

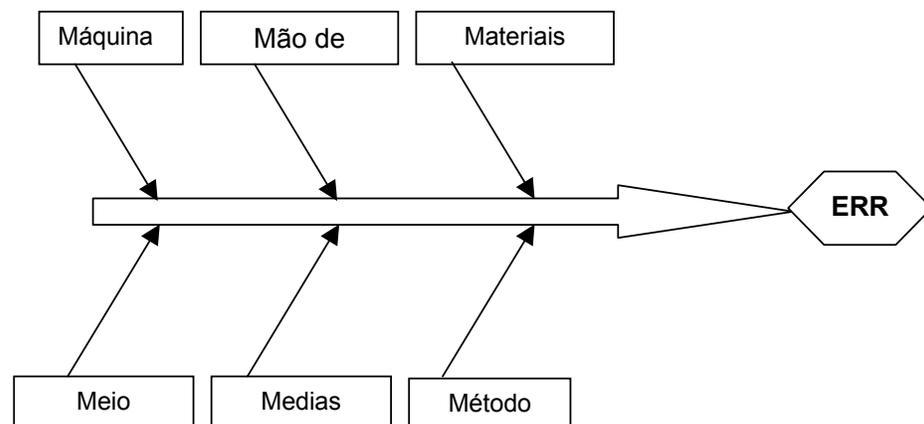


Figura 13. Diagrama de Cause e Efeito.

O erro é o desvio entre o valor medido e o valor verdadeiro; assim, é matematicamente igual a acerácea. Eles podem originar-se de uma variedade de causas, podendo ser agrupados em três categorias principais, apresentadas no Quadro 3.

Quadro 2. Classificação, características e fontes dos erros (Lionel, 1999).

Classificação dos Erros	Características	Fontes
Grosseiros	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Invalidam uma medição; ▪ Associados a falhas humanas ou mal funcionamento do instrumento; ▪ Devem ser rejeitados; ▪ Não deve ser feito nenhum esforço adicional para ser contabilizado na análise estatística; ▪ Devem ser feitos testes de “valores fora da série” para verificar a sua presença no conjunto de dados. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Amostra errada; ▪ Leitura incorreta; ▪ Erros de transcrição; ▪ Calibrações incorretas; ▪ Perda de controle estatístico; ▪ Problemas de amostragem, ▪ Desatenção aos detalhes; ▪ Contaminações; ▪ Método errado.
Sistemáticos	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Permanecem constantes ou variam de forma possível; ▪ Independem do número de medições feitas; ▪ Não podem ser reduzidas pelo aumento do número de análises sob condições constantes de medição; ▪ São constantes para um dado nível do valor da medição, porém podem variar com o nível; ▪ Efeitos que mudam sistematicamente de magnitude durante uma série de análises dão origem a erros sistemáticos que não são constantes. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Interferências de resolução; ▪ Calibração; ▪ Perdas por interferência; ▪ Não correções do branco; ▪ Tendências do operador; ▪ Efeitos de matriz; ▪ Mudança de equipamento; ▪ Ganhos por contaminação.
Aleatórios	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Variações imprevisíveis das grandezas de influência; ▪ Surgem de observações repetidas do mensurando; ▪ Não podem ser compensados por correção; ▪ Podem ser reduzidos pelo aumento do número de observações. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Instabilidade dos instrumentos; ▪ Flutuações ambientais; ▪ Perícia do operador; ▪ Variabilidade da amostra; ▪ Perdas; ▪ Falhas técnicas; ▪ Contaminações variáveis; ▪ Controle dos reagentes.

Mesmo quando os erros são reconhecidos e remediados, há variação nas leituras da amostra devido ao erro aleatório. A terceira série de dados apresentado no Quadro 3 mostra o erro aleatório, estes erros são causados por ruídos, pela fricção interna, pela histerese, e por efeitos ambientais. Podem ser minimizados pela escolha correta do instrumento e por leituras múltiplas, e podem ser tratados matematicamente usando análises estatísticas, de modo que as medidas sejam apresentadas como os valores médios com um desvio padrão e limites de confiança.

Entretanto, os valores médios devem ser usados com cuidado, porque os valores extremos podem de fato ser verdadeiros e podem indicar uma situação crítica.