

6. ELEMENTOS DA CONFIABILIDADE METROLÓGICA EM LABORATÓRIOS ANTIDOPING

Em consonância à prática internacional enfatizada por muitos autores, dentre os quais Oliveira (2002), a confiabilidade metrológica de laboratórios requer desenvolvimento e validação de técnicas e processos capazes de assegurar que medições sejam realizadas com base em procedimentos normalizados e que os resultados atendam aos requisitos aplicáveis, adquirindo, portanto, credibilidade técnica. Assim a confiabilidade metrológica refere-se a um sistema que engloba técnicas e procedimentos de operação e de organização capazes de orientar um laboratório de ensaio ou de calibração a produzir certificados de calibração e/ou relatórios de ensaios confiáveis e formalmente reconhecidos. A medida pode, portanto, ser entendida como o resultado de um processo de medição e ela deve ser reconhecidamente de qualidade, isto é, “metrologicamente confiável”.

Nesse contexto, o laboratório para controle de dopagem do Jockey Club Brasileiro (LAD/JCB), diante da sua incessante busca por qualidade e produtividade em seus serviços, reconhece a necessidade da implantação da estrutura da confiabilidade metrológica contemplada por seus principais elementos técnicos, conforme ilustrado na Figura 8 (adaptado de Rodrigues, 2003), caracterizando seu comprometimento com um padrão de qualidade declarado. O LAD/JCB vem mantendo, por intermédio da implantação de práticas metrológicas adequadas, constante preocupação em demonstrar a confiabilidade dos resultados oriundos de suas análises e procurando estabelecer, de forma segura e concreta, competitividade nacional e internacional.

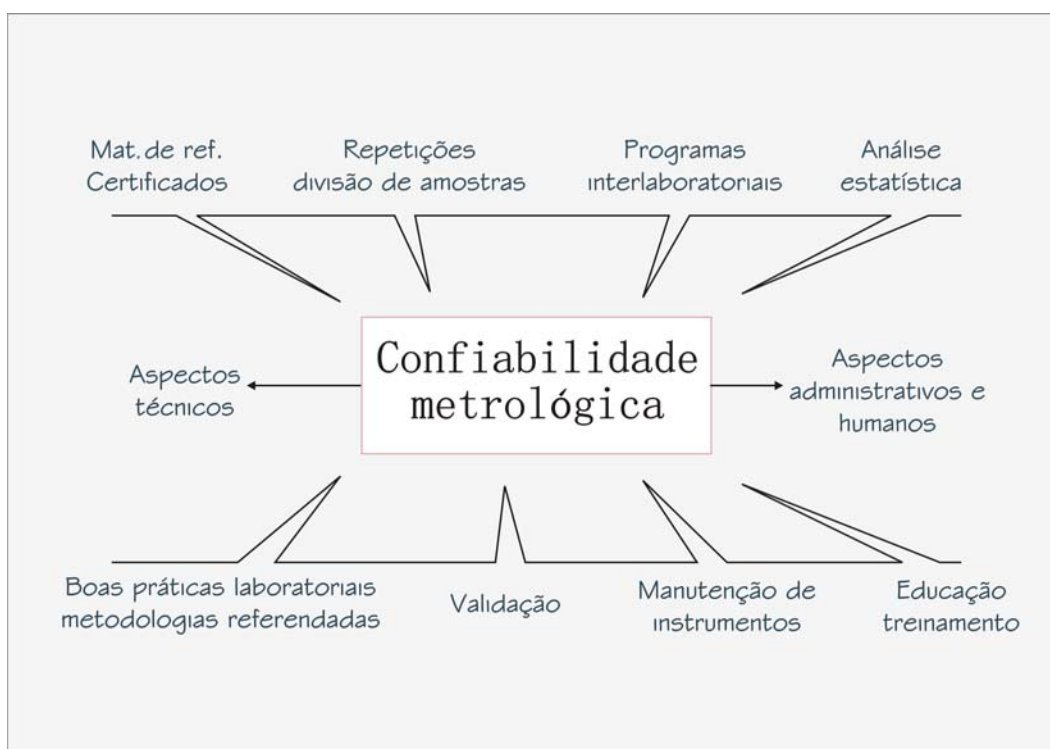


Figura 8. Elementos da Confiabilidade Metrológica.

6.1. Sistema de gestão laboratorial

Os requisitos aplicáveis aos Sistemas de Gestão da Garantia da Qualidade de qualquer organização encontram-se bem caracterizados na NBR ISO 9001:2000 que apresenta como objetivos gerais: primeiro, a necessidade da organização demonstrar sua capacidade para fornecer de forma coerente produtos que atendam aos requisitos do cliente e requisitos regulamentares aplicáveis, e segundo, a melhoria da satisfação do cliente por meio de efetiva aplicação do sistema, incluindo processos para a melhoria contínua do sistema e a garantia da conformidade com requisitos do cliente e requisitos regulamentares aplicáveis. Cabe destacar que a aplicação de todos os requisitos da Norma NBR ISO 9001 são genéricos e devem ser aplicáveis à organização como um todo, sem levar em consideração a sua natureza, seu porte e escopo da sua atuação. Nos casos específicos de laboratórios de ensaio e calibração, portanto também aplicado ao laboratório para controle de dopagem do Jockey Club Brasileiro (LAD/JCB), a norma a ser referenciada é a NBR ISO/IEC 17025¹³, que requer como premissa básica do sistema da qualidade (sistema de gestão) comprometimento de cada elemento da equipe envolvida com o trabalho desenvolvido no laboratório, independentemente do nível hierárquico, com vistas

¹³ A norma internacional ISO/IEC 17025 em sua edição 2000 inclui os elementos da ISO 9001.

a assegurar que os objetivos estabelecidos pelo laboratório possam ser alcançados e cumpridos de maneira satisfatória na sua totalidade e que este sistema de gestão seja apropriado ao escopo das atividades estabelecidas pelo laboratório.

O laboratório que se propõe a operar sob um sistema de garantia da qualidade deve possuir documentação própria caracterizando todas as suas atividades, assim permitindo, a qualquer momento, rastreamento de amostras, padrões e procedimentos. Todas as políticas do sistema de gestão do laboratório, incluindo uma declaração da política de qualidade, devem estar definidas em um Manual da Qualidade, que deve também descrever a estrutura da documentação usada no Sistema de Gestão. Esse Manual da Qualidade, segundo o Relatório Técnico ABNT ISO/TR 10013¹⁴ deve ser único para cada organização permitindo flexibilidade na definição de sua estrutura, formato, conteúdo ou método de apresentação.

O laboratório para controle de dopagem do Jockey Club Brasileiro (LAD/JCB), dentro do escopo das suas atividades, se orienta pela NBR ISO/IEC 17025, pois esta é a norma que estabelece os requisitos da prática internacional que qualquer laboratório de ensaio deve atender de forma a demonstrar que tem implementado um sistema de gestão e que o laboratório é tecnicamente competente para produzir resultados confiáveis.

6.2. Validação de metodologias analíticas

O objetivo central de um laboratório é realizar serviços para os propósitos a que se propõe, serviços cujos resultados devem ser formalizados em certificados de calibração ou relatórios de ensaios isento de ambigüidades, descrevendo resultados confiáveis e as incertezas que lhes são associadas, assim permitindo inferir o grau de exatidão de seus resultados e obedecendo a um critério de adequabilidade (*fitness for purpose*). Na rotina diária de qualquer laboratório, a preocupação do metrologista é produzir medições que descrevam fenômenos físico-químicos ou que caracterizem propriedades de materiais. No caso específico de um laboratório *antidoping*, para que os dados gerados

¹⁴ O ABNT ISO/TR 10013 fornece diretrizes para o desenvolvimento e a manutenção da documentação necessária para assegurar um efetivo sistema de gestão da qualidade, adaptado às necessidades específicas da organização. O uso dessas diretrizes auxilia no estabelecimento de um sistema documentado como requerido pelas normas de sistema de gestão da qualidade aplicáveis. A família de normas internacionais da ISO 9000 requer que o sistema de gestão da qualidade de uma organização seja documentado. O ABNT ISO/TR 10013 promove a adoção de uma visão abrangente dos processos envolvidos no desenvolvimento e implementação do sistema de gestão da qualidade, e na melhoria da sua eficácia.

tenham confiabilidade, algumas etapas se fazem imprescindíveis e estarão necessariamente inseridas em bons programas de controle e segurança de qualidade analítica, tais como: utilização de métodos analíticos validados, confirmação da identidade do analito de interesse, escolha de métodos qualitativos adequados, utilização de material de referência e validação de métodos e técnicas pela participação em testes de proficiência, que permitem a comparação interlaboratorial.

Nesse contexto, o primeiro cuidado a ser tomado para a obtenção de resultados analíticos confiáveis será a validação da metodologia analítica selecionada, entendendo-se por validação de um método o processo de comprovação de que os requisitos para uma aplicação ou uso específicos pretendidos foram atingidos, o que deve sempre ser feito com base em evidência objetiva.

No presente trabalho de mestrado, o método analítico selecionado emprega para separação e identificação da substância dopante cafeína em matrizes biológicas de cavalos de corrida, a técnica da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, que requer um desempenho adequado da instrumentação utilizada. Esta é uma técnica que mostrou-se eficaz à obtenção de resultados confiáveis. Obviamente, os instrumentos devem ser calibrados contra padrões de referência e o sistema analítico como um todo testado antes e durante os procedimentos de análise. Os métodos analíticos devem ser sistematicamente validados antes de seu uso na rotina e após qualquer mudança introduzida em seus parâmetros devendo, sempre que possível, ser empregado material de referência certificado. Soares (2001) recomenda que esse material de referência seja certificado para validar suas propriedades com base em procedimentos tecnicamente validados por um organismo certificador acreditado.

Com base no documento de orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos do INMETRO¹⁵, o desempenho de qualquer método analítico deve contemplar os seguintes atributos a seguir conceituados em duas categorias: (i) fatores críticos convencionais e (ii) proposição de um novo fator crítico para validação de metodologias analíticas.

¹⁵ INMETRO (DOQ/CGCRE-008, INMETRO 2003). Documento de caráter orientativo que versa sobre “validação de métodos de ensaios químicos”.

6.2.1. Fatores críticos convencionais

Conceituam-se, a seguir, sete fatores críticos que serão estudados no Capítulo 8 para validação do método alternativo proposto ALCAC-18.

- **Seletividade ou especificidade** – Conceito definido pelo Guia EURACHEM “*The Fitness for Purpose of Analytical Methods*”, **seletividade** de um método refere-se à sua capacidade de resposta a um determinado composto de interesse associado a uma matriz com várias substâncias químicas detectáveis ou não. Como existem poucos métodos que respondem a um único analito, o termo seletividade é usualmente o mais empregado.
- **Limite de detecção** – Igualmente caracterizado pelo Guia EURACHEM “*The Fitness for Purpose of Analytical Methods*”, **limite de detecção** refere-se à menor concentração de um analito em uma amostra, que pode ser detectada por um procedimento analítico ao qual se associa um nível de confiança especificado, mas não necessariamente quantificado.
- **Linearidade** – Com base na mesma referência EURACHEM, a **linearidade** de um método analítico é expressa pela sua habilidade em gerar resultados que sejam diretamente proporcionais às concentrações do analito em amostras, correspondente à uma determinada faixa de concentração. Nessa faixa é possível relacionar o valor da variável dependente (medida) com base no conhecimento da variável independente (concentração). A curva de linearidade é calculada por meio de uma equação de regressão linear ($y = a + b x$). O coeficiente de correlação linear (r) é freqüentemente usado para indicar o grau de adequação de se utilizar uma função linear como modelo matemático. Um valor maior que 0,90 para o coeficiente de correlação linear é, usualmente requerido, conforme referenciado pelo INMETRO (DOQ/CGCRE-008, INMETRO 2003).
- **Exatidão** – Conforme caracterizado pelo Vocabulário Internacional de Termos Fundamentais e Gerais de Metrologia (VIM), **exatidão** refere-se ao grau de concordância entre o resultado de uma medição e um valor verdadeiro do mensurando. Exatidão em procedimentos analíticos refere-se à concordância entre o valor real (valor de referência) da

concentração de um analito em uma amostra e o estimado pelo processo analítico. Uma baixa exatidão resulta de erros sistemáticos que contribuem para desvios ou tendências (*bias*) nos resultados (Chasin, 1994). Usualmente, a exatidão é expressa em porcentagem de erros sistemáticos e aleatórios e calculada com base na seguinte expressão:

$$Exatidão = \left(1 - \left| \frac{\text{valor obtido} - \text{valor real}}{\text{valor real}} \right| \right) \times 100 \quad (1)$$

- **Precisão** – Caracterizada pelo Guia EURACHEM “*The Fitness for Purpose of Analytical Methods*”, **precisão** refere-se ao grau de concordância associado a resultados de testes individuais quando o procedimento é aplicado repetitivamente a múltiplas amostragens. Este é um conceito que reflete a variação dos resultados quando análises repetidas são feitas em uma mesma amostra. Seu valor pode ser afetado por erros sistemáticos, aleatórios e grosseiros. A precisão é normalmente expressa com base em cálculo do coeficiente de variação (CV) que expressa o desvio padrão relativo (%), segundo duas categorias: repetitividade e reprodutibilidade. Em procedimentos analíticos que utilizam a cromatografia como técnica de separação de analitos, atenção especial deve ser dispensada à precisão do tempo de retenção e à área¹⁶ dos picos cromatográficos, uma vez que o tempo de retenção é o significado primeiro para a identificação de um pico cromatográfico enquanto o valor da área do mesmo é utilizado para o cálculo de quantidades de analito em análises quantitativas. A precisão é expressa como “precisão intradia” quando os procedimentos analíticos são realizados em um mesmo dia e “precisão interdias” quando realizados em dias diferentes. Cuidados especiais devem ser tomados ao se referir à precisão, conceito que não se constitui em sinônimo de exatidão. Embora essa denominação “precisão” tenha caído em desuso no meio metrológico, o termo precisão ainda constitui parte do jargão praticado pelos químicos analistas e, portanto, não deve ser desprezado. Cabe ainda a observação de que pelo fato de

¹⁶ Unidade indicada pelo cromatógrafo, proporcional aos impactos de íons captados pelo detector de massas acoplado ao cromatógrafo (visualizados pelas áreas dos picos cromatográficos medidos por integral).

referir-se aos conceitos de repetitividade e reprodutibilidade, um experimento pode ser sistematicamente reproduzido sem estar exato, tal qual ocorre nos casos de presença de erros e desvios de natureza sistemática. Já a precisão requer a associação de dois conceitos, “repetitividade” e reprodutibilidade, a seguir caracterizados.

- **Repetitividade** – Caracterizado pelo Vocabulário Internacional de Termos Fundamentais e Gerais de Metrologia (VIM), **repetitividade** refere-se ao 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. Repetitividade de uma análise refere-se a replicata da mesma análise, realizada em um mesmo laboratório pelo mesmo operador, em um espaço de tempo considerado “curto” o suficiente para assegurar uniformidade das condições experimentais.
- **Reprodutibilidade** – Conceituada pelo Vocabulário Internacional de Termos Fundamentais e Gerais de Metrologia (VIM), **reprodutibilidade** refere-se ao grau de concordância entre os resultados de medições de um mesmo mensurando, efetuadas sob condições variadas de medição. A reprodutibilidade pode ser determinada para um método que seja empregado num mesmo laboratório, mas em dias diferentes. A reprodutibilidade também pode ser aplicada a um mesmo método considerando-se diferentes operadores, equipamentos ou uma combinação de ambos.
- **Recuperação** – É um conceito clássico segundo o qual se avalia a capacidade de um método analítico em recuperar o valor de um analito adicionado a uma amostra que será submetida a um processo analítico. Uma fração de um analito é adicionada a uma amostra (amostra fortificada) antes de proceder-se à análise. Em seguida, quantifica-se a substância nas amostras fortificadas e não fortificadas, utilizando-se a mesma metodologia. A porcentagem de R é calculada pela fórmula:

$$\% R = [(CF - CN)/CA] \times 100 \quad (2)$$

Em cuja expressão, as variáveis denotam:

CF: concentração do analito medida na amostra fortificada;

CN: concentração do analito medida na amostra não fortificada;

CA: concentração do analito adicionada (referindo-se ao valor calculado e não ao valor obtido pelo método).

- **Robustez** – Em conformidade ao Guia EURACHEM “*The Fitness for Purpose of Analytical Methods*”, **robustez** de um procedimento analítico é a medida da sua capacidade de permanecer inalterado frente a pequenas, mas deliberadas, variações dos parâmetros associados ao método, demonstrando sua confiabilidade durante seu uso na rotina de trabalho.

6.2.2. Proposição de um novo fator crítico para validação de metodologias analíticas

Não obstante os atributos tradicionais já consagrados para validação de métodos e ensaios químicos, como contribuição inovadora da presente pesquisa de mestrado foi proposto e avaliado analiticamente um novo atributo adicional para se validar o desempenho de métodos analíticos para uso em laboratórios *antidoping*, um parâmetro adicional que provou-se de interesse e que foi denominado “valor-limite de determinação”, a seguir conceituado:

- **Valor-limite de determinação (vld)** – é o valor limite da concentração de um analito (cafeína) em uma amostra (urina) que determina uma faixa na qual podem ocorrer falso-positivos e falso-negativos do referido analito na amostra analisada, conforme esquematicamente ilustrado na Figura 9.

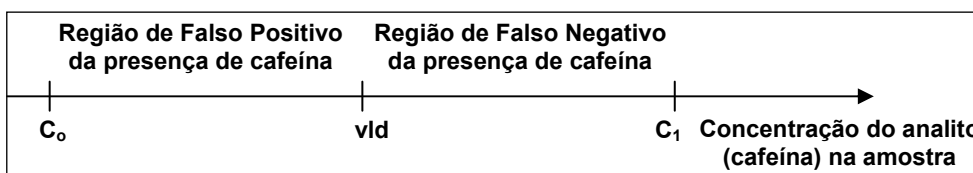


Figura 9. Região de falso-positivo e falso-negativo de cafeína na amostra analisada e o valor-limite de determinação.

Este valor limite “vld” é determinado com base na análise dos íons gerados pela espectrometria de massas da amostra de urina analisada, que permite decodificar, pela interpretação “SIM” ou “NÃO”, os picos associados a

abundância dos referidos íons, assim caracterizando, respectivamente, “presença” ou “ausência” da substância sob investigação (no caso, a cafeína). Este valor-limite de determinação está associado a um critério de probabilidade de falso-positivo ou falso-negativo (ausência ou presença de cafeína) em 50% das replicatas das análises conduzidas em amostras independentes da mesma urina, mantidas suas concentrações. A avaliação com enfoque na resposta binária SIM/NÃO é fortemente dependente da prática analítica, conduzida pelo profissional responsável. Para que não ocorra uma dependência exclusiva do fator pessoal, o “**valor-limite de determinação**” foi adotado pelo laboratório para controle de dopagem do Jockey Club Brasileiro (LAD/JCB) como um atributo relevante para a validação qualitativa dos métodos analíticos empregados, incorporado às rotinas de análise laboratorial, pois fornece informação para tomada de decisão que orienta o analista a evitar repetições desnecessárias de análises e também é um indicador da confiabilidade dos resultados de positividade em amostras analisadas.

6.3. Controle de equipamentos e instrumentos de medição

Em laboratórios de análise comprometidos com a emissão de resultados confiáveis, e portanto passíveis de serem reproduzidos, a prática do controle do desempenho de seus equipamentos e instrumentos de medição deve ser parte integrante da rotina de trabalho desenvolvida no laboratório. Em geral, nos laboratórios de análise, e também no laboratório para controle de dopagem do Jockey Club Brasileiro (LAD/JCB), a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas é a técnica de separação e identificação de substâncias químicas mais comumente utilizada. O sistema cromatógrafo a gás/espectrômetro de massas (CG/EM) é utilizado para uma variedade de outras aplicações incluindo testes químicos, ambientais, processos petroquímicos e alimentares e aplicações na indústria farmacêutica.

O sistema cromatógrafo a gás/espectrômetro de massas (CG/EM) é composto de partes individuais dentre as quais se incluem: controladores de fluxo, injetor de amostras, forno para controle de temperatura de amostra e detector elementos que requerem calibração e testes periódicos de forma a qualificar o sistema como um todo.

Relacionam-se, a seguir, os componentes do cromatógrafo a gás, com suas respectivas funções no processo de análise cromatográfica, conforme esquematicamente ilustrados na Figura 10:

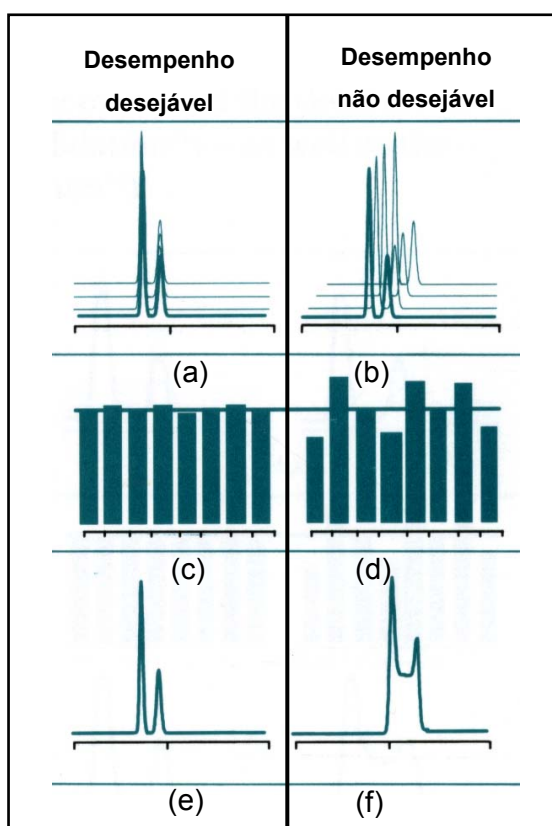


Figura 10. Componentes do Cromatógrafo a gás.

Esta figura apresentada com seis detalhes ilustra, respectivamente, desempenhos típicos “desejáveis” e “não desejáveis” dos componentes essenciais do cromatógrafo a gás. Os detalhes **10a** e **10b** referem-se ao desempenho do controlador de fluxo; **10c** e **10d** refletem os diagramas do desempenho do injetor de amostras; enquanto **10e** e **10f** ilustram traçados de resposta do sistema de controle da temperatura da coluna cromatográfica.

- (i) **Controladores de fluxo.** Função: controlar o fluxo de gás de arraste, considerado parâmetro de influência no tempo de retenção dos analitos. Conforme ilustrado na seqüência de desempenhos caracterizados na Figura 10, a situação 10a caracteriza um desempenho ideal já que apresenta uma sucessão de picos cromatográficos ordenados exibindo o mesmo tempo de retenção. Essa característica contrasta com o desempenho ilustrado pela situação 10b, não desejável por apresentar tempos de retenção não repetitivos, normalmente induzidos por uma disfunção do controlador de fluxo.

- (ii) **Injetor de Amostra.** Função: assegurar uniformidade de volume das amostras dispensadas para as análises cromatográficas. O desempenho desejável para o injetor, ilustrado na situação 10c, apresenta um mesmo volume de amostra dispensada, em contraste com a situação 10d, que caracteriza uma situação não ideal por demonstrar desigualdade de volume das respectivas amostras analisadas.
- (iii) **Sistema de controle da temperatura da coluna cromatográfica** – Um dos fatores críticos da análise cromatográfica refere-se ao controle da temperatura da coluna cromatográfica que contém o extrato da matriz biológica objeto da análise de separação por cromatografia, no presente caso urina do cavalo de corrida puro-sangue que se deseja analisar para comprovar a ausência ou presença de substâncias dopantes proibidas. Para assegurar uniformidade do campo de temperatura na região da amostra de urina a ser analisada o sistema de cromatografia a gás faz uso de um forno (HP Modelo 5890) que propicia uma zona de temperatura uniforme obtida pelo sofisticado sistema de aquecimento conjugado a um sistema de sensor e controle de temperatura que minimizam indesejáveis gradientes térmicos na região da coluna cromatográfica. Ilustrado nas Figuras 11a e 11b, o sistema *triac* do forno controla a passagem de corrente para a resistência de aquecimento, com base numa voltagem de referência gerada pela placa-circuito principal do instrumento. Esta placa-circuito principal recebe o sinal do sensor de temperatura e comanda o *triac*, aquecendo a resistência se a temperatura for inferior a um valor pré-definido e cortando a voltagem se a temperatura ultrapassar o ponto de controle também pré-especificado. Com o auxílio de uma ventoinha que força ar através da resistência e o circula pelo forno, a transferência de calor por convecção é estimulada, garantindo aquecimento uniforme na região da coluna. O sensor de temperatura (resistência de platina, Pt-100) é colocado na passagem do ar e próximo à resistência de aquecimento, permitindo a leitura e o controle da temperatura do forno na região da análise. Função: controlar a temperatura da coluna cromatográfica. A temperatura da coluna cromatográfica segundo

dois modos possíveis; (i) em campo isotérmico e (ii) com programação automática de taxa de variação de temperatura¹⁷ é um parâmetro crítico na seletividade e tempo de retenção dos analitos. O desempenho do forno (caracterizado na situação 10e) é considerado ideal por apresentar boa resolução (separação) dos picos cromatográficos caracterizando o analito e definindo seu tempo de retenção. Essa característica não é observada na situação 10f, que ilustra descontrole de temperatura por apresentar co-eluição dos picos cromatográficos (baixa resolução) e indefinição do tempo de retenção.

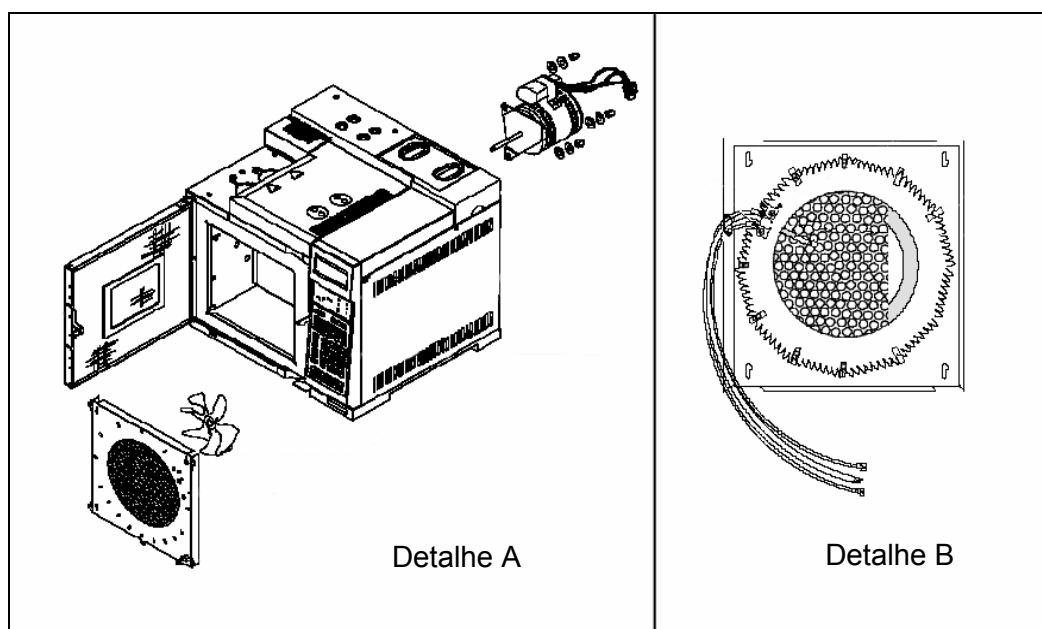


Figura 11. Sistema sensor-forno-controlador de temperatura.

Sistema sensor-forno-controlador de temperatura para assegurar uniformidade de temperatura na região da coluna cromatográfica. Detalhe A: Vista geral do forno e seus componentes. Detalhe B: Vista da seção reta mostrando o sistema de resistência elétrica e uniformizadores de fluxo, visando assegurar uniformidade do campo térmico na vizinhança da coluna cromatográfica. Fonte: Catálogo do Equipamento HP 5890.

Nas pesquisas conduzidas no âmbito da presente investigação, a precisão do fluxo do gás de arraste (gás Hélio) foi verificada pela repetitividade do tempo de retenção do padrão interno (Diazepam) utilizado no método ALCAC-18 em “amostras de branco de reagente” (água pura) por intermédio do coeficiente de variação (CV). A precisão do volume de injeção do injetor automático foi

¹⁷ O sistema HP-5890 admite programação de temperatura nas seguintes taxas: 35 °C/min; 45 °C/min; 65°C/min; 95 °C/min; 120 °C/min.

verificada pela repetitividade da área do íon mais abundante (íon 256) do padrão interno (Diazepam), também utilizado no método ALCAC-18 em “amostras de branco de reagente” (água pura) por intermédio do coeficiente de variação (CV) conforme caracterizado na Tabela 1.

Tabela 1. Precisão do fluxo do gás de arraste e do volume de injeção do injetor automático.

Amostra de “branco de reagente”	Área do íon 256 do padrão interno (Diazepam)	TR** do padrão interno Diazepam
0512REA1	7508270 ucd*	15,906
0512REA2	7440324 ucd	15,905
0512REA3	7399331 ucd	15,905
0512REA4	7521478 ucd	15,906
0512REA5	7562945 ucd	15,905
MÉDIA	7486470 ucd	15,905
DESV.PAD.	65711 ucd	0,001
CV(%)	1	0,003

***ucd**: unidade indicada pelo cromatógrafo, proporcional aos impactos do íon característico do padrão interno de diazepam captados pelo detector acoplado ao cromatógrafo (visualizados pelas áreas dos picos cromatográficos medidos por integral de área).

**TR: tempo de retenção (min).

O desempenho do espectrômetro de massas (detetor) foi verificado por intermédio de um procedimento de auto-calibração denominado **autotune**, que é o diagnóstico crítico do adequado funcionamento do espectrômetro de massas. Para o procedimento de auto-calibração é utilizada uma substância química padrão – Perflurotributilamina (PFTBA) – ionizada e fragmentada produzindo um espectro de massas (massa/carga) com seus íons característicos – os íons 69, 219 e 502. O **autotune** tem por objetivo verificar (i) as razões massa/carga indicadas da substância padrão utilizada; (ii) a razão entre a abundância dessas massas e (iii) o formato dos picos gerados. Estas são as características-chave necessárias ao perfeito funcionamento do equipamento. O resultado do diagnóstico **autotune** é emitido na forma de um relatório pelo *software* do espectrômetro de massas conforme documentado no Anexo F.

Os instrumentos de medição utilizados (balança e pipetas) durante o procedimento analítico para determinação do agente dopante cafeína em fluidos biológicos (urina) de cavalos de corrida, ou possuem certificado de calibração concedido por órgão competente ou são calibrados no próprio laboratório para controle de dopagem do Jockey Club Brasileiro (LAD/JCB), conforme documentado nos Anexos G e H, respectivamente.

6.4. Rastreabilidade ao Sistema Internacional de Unidades (SI)

Qualquer processo de medição requer a indicação da qualidade dos resultados como evidência da sua credibilidade. Assim, medições consistentes requerem: (i): definição da cadeia de comparação referenciada a padrões metrológicos e expressão das incertezas associadas a cada medição, isto é, controle da “rastreabilidade” e (ii): harmonização com um sistema de unidades de medida coerente e internacionalmente aceito, de forma a assegurar uniformidade. O sistema de unidades de medida adotado oficialmente no Brasil é o Sistema Internacional de Unidades (SI), sancionado em 1960 pela XI Conferência Geral de Pesos e Medidas (CGPM), um sistema coerente, universalmente utilizado para expressar medições técnicas, científicas e comerciais que se consolidou como a base do sistema metrológico da maior parte dos países.

O Sistema Internacional de Unidades (SI) adota sete unidades de base: massa (quilograma, Kg), comprimento (metro, m), tempo (segundo, s), temperatura (Kelvin, K), corrente elétrica (ampère, A), intensidade luminosa (candela, cd) e a quantidade de matéria (mol, mol), além das unidades derivadas dessas unidades de base. Nesse contexto, uma medida deve sempre poder ser referenciada a padrões de medida e a unidades do SI, conforme ilustrado na Figura 12.

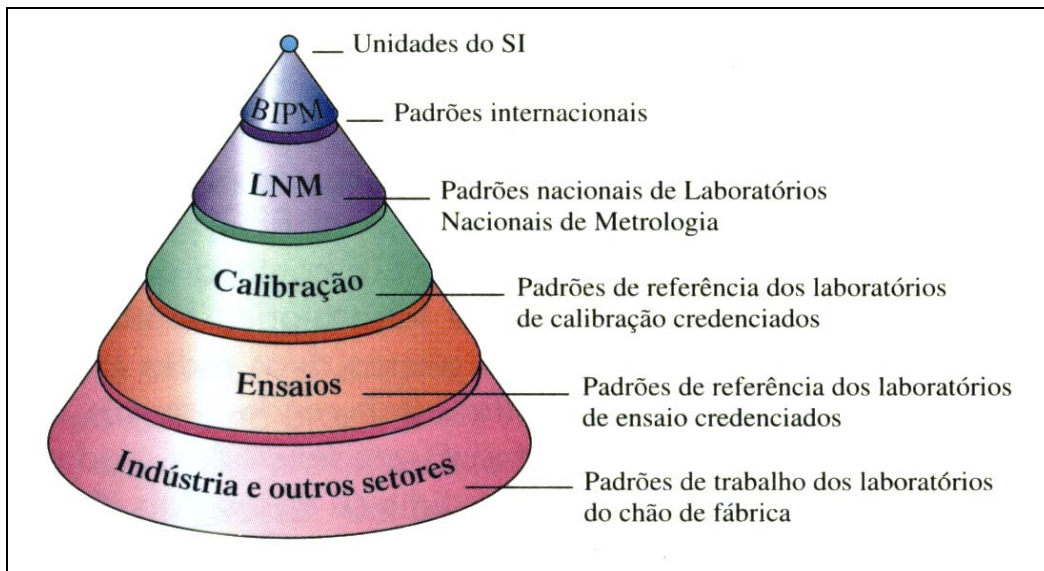


Figura 12. Estrutura hierárquica da lógica da rastreabilidade de padrões.

Em medições químicas essa correspondência não se traduz de forma trivial. Essa dificuldade é vivenciada pelos laboratórios de análises químicas e também pelo laboratório para controle de dopagem do Jockey Club Brasileiro (LAD/JCB). Observa-se, nesses laboratórios, que a cadeia de rastreabilidade ao SI pode ser interrompida por modificações químicas ou físicas sofridas pela amostra durante um processo analítico e ou pela falta ou insuficiência de procedimentos de calibração dos equipamentos e inabilidade dos operadores nesses mesmos procedimentos (Bode, 1997), portanto os laboratórios de análises químicas devem se orientar pela norma internacional ISO/IEC 17025, particularmente nos seus sub-itens 5.6.2.1.2 & 5.6.2.2.2, que tratam, de maneira específica, da rastreabilidade das medições em laboratórios de ensaio.

6.5. Fontes de erros freqüentes em laboratórios de ensaio

Um problema freqüente associado ao trabalho de rotina de qualquer laboratório envolvido com metodologias analíticas refere-se a erros cometidos de diversas naturezas, comprometendo o resultado das análises. Em laboratórios comprometidos com a qualidade de seus ensaios, a cuidadosa análise dos erros e suas fontes devem constituir-se em permanente preocupação do analista.

Erros de medição originam-se de diferentes fatores. O Quadro 5 (adaptado de Rodrigues, 2003) enquadra os erros associados às medições em três categorias. Para as medições realizadas no laboratório para controle de dopagem do Jockey Club Brasileiro (LAD/JCB), adicionalmente às categorias identificadas no Quadro 5, erros de medição podem também ser provenientes dos processos de coleta, manuseio e armazenagem das matrizes biológicas de cavalos de corrida. Considera-se, ainda, o erro humano que pode eventualmente ser introduzido durante todo o procedimento, desde a coleta da amostra até o processo de compilação dos dados e emissão do relatório final de análise.

Quadro 5. Classificação de erros, características e fontes de erros freqüentes em laboratórios de ensaio.

Classificação de 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 inapropriado.
Sistemáticos	<ul style="list-style-type: none"> • Permanecem constantes • 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"> • Interferência de resolução. • Calibração. • Perdas por interferência. • Não correções do branco. • Tendências do operador. • Efeitos da 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 mensurado. • 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. • Imperícia do operador. • Variabilidade da amostra. • Perdas. • Falhas técnicas. • Contaminações variáveis. • Controle dos reagentes.

Um dos métodos convencionais usualmente praticado para se averiguar as fontes de erro e controlar o processo de análise refere-se à utilização de uma ferramenta de qualidade denominada Diagrama de Ishikawa (ou Diagrama de Causa e Efeito) que estabelece uma relação entre o efeito (erro) e os motivos que podem contribuir para esse efeito, conforme ilustrado na Figura 13.

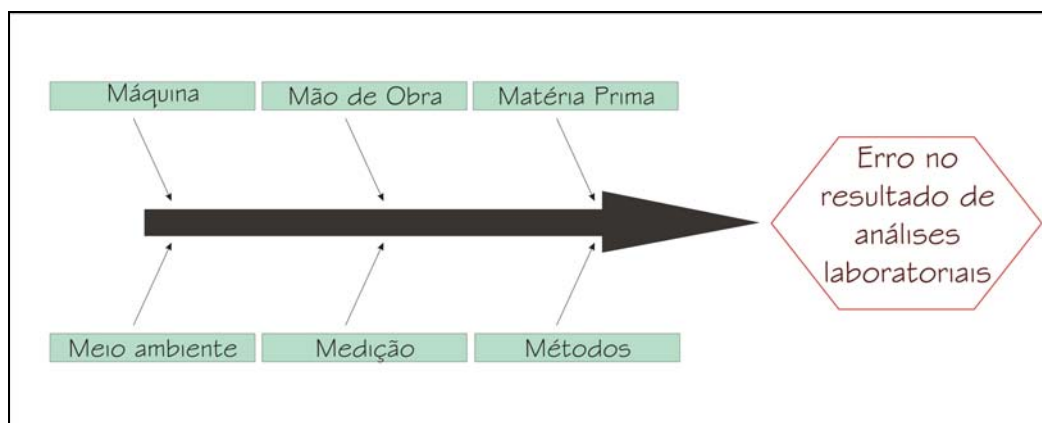


Figura 13. Diagrama de causa e efeito aplicado na identificação de fontes de erro e controle de processos de análises.

Após o reconhecimento das fontes de erro e posterior correção de suas causas, ainda assim pode haver variações nos resultados das medições especialmente no que se refere aos erros de natureza randômica, portanto as medições realizadas por um laboratório devem ser expressas com suas respectivas incertezas associadas, sistemática indispensável ao estabelecimento da confiabilidade metrológica do laboratório. É importante, nesse contexto, estabelecer a clara distinção entre erro e incerteza de medição nem sempre perfeitamente compreendida. Erro é definido como “a diferença entre o resultado de uma medição e o valor verdadeiro do mensurando” (VIM), ou seja: um valor único, enquanto que incerteza de medição é definida como o “parâmetro associado ao resultado de uma medição que caracteriza a dispersão dos valores que podem ser fundamentalmente atribuídos a um mensurando” (VIM) e, portanto uma faixa, que não pode ser corrigida. Sob o outro ponto de vista, a incerteza de medição reflete uma estimativa do erro. Em particular, o item 5.4.6.2 da NBR ISO/IEC 17025 trata de maneira específica da estimativa da incerteza associada à medição em laboratórios de ensaio.

Conforme caracterizado no presente capítulo, a confiabilidade metrológica de qualquer laboratório, e também de um laboratório *antidoping* como é o caso do laboratório para controle de dopagem do Jockey Club Brasileiro depende não apenas do controle da instrumentação e da rastreabilidade dos padrões metrológicos ao Sistema Internacional de Unidades (SI), por intermédio dos padrões nacionais¹⁸, mas também da criteriosa validação dos métodos analíticos aplicáveis. No contexto do presente trabalho, a validação do método alternativo proposto ALCAC-18 desenvolveu-se segundo o rigor dos sete fatores críticos

¹⁸ Cabendo destacar que rastreabilidade em metrologia química ainda é incipiente não apenas no Brasil, mas, também em países industrializados.

tradicionais acima descritos e pela proposição de um novo fator crítico que provou ter impacto na eficiência do método e impacto econômico do tempo laboratorial.