

COMPARAÇÃO INTERLABORATORIAL DE CONSTITUINTES MENORES E TRAÇOS EM SORO HUMANO: ESTIMATIVA DA INCERTEZA DE MEDIÇÃO

Resumo

O Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial – Inmetro – é uma autarquia federal, vinculada ao Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior e dentre as suas competências e atribuições destacam-se planejar e executar programas de comparação interlaboratoriais, em nível nacional.

Neste programa de comparação interlaboratorial, os elementos traços Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, Se e Zn em soro humano foram determinados por 4 laboratórios utilizando os seus métodos rotineiros. Neste estudo, foi estimada a incerteza padrão combinada das análises onde foram consideradas as incertezas da curva de calibração, diluição e repetitividade, sendo a maior fonte de contribuição detectada a proveniente da curva de calibração. Os resultados codificados estão graficamente expressos e comparados com os valores de referência certificados estabelecidos pelo Institute for Reference Materials and Measurements – IRMM.

Palavras-chave: comparação interlaboratorial, soro humano, incerteza de medição

Summary

The National Institute of Metrology, Normalization and Industrial Quality - Inmetro - is a federal autarchy, tied with the Industry, Ministry of Public Works and the Economy and Foreign Commerce and amongst the abilities and attributions they are distinguished to plan and to execute proficiency assays, in national level.

In this evaluation program the trace elements Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, Se and Zn in human serum had been determined by 4 laboratories using its routine methods. In this study, the standard combined uncertainty was estimated where the calibration curve, dilution and repetitivity had been considered and the biggest contribution was proceeding from the calibration curve. The codified results are graphically reported and compared to certified reference values established by Institute for Reference Materials and Measurements – IRMM.

Keywords: proficiency testing, human serum, measurement uncertainty

Introdução

Os programas de comparação interlaboratoriais, através de ensaios de proficiência, constituem-se numa das ferramentas para que os Países adquiram competência e reconhecimento mútuo, adequando sua infra-estrutura tecnológica aos padrões internacionais, superando desta forma as barreiras técnicas e aumentando sua inserção no comércio exterior (1).

Um dos objetivos é o de demonstrar continuamente a competência técnica dos laboratórios participantes, através de comparações dos resultados obtidos pelos diferentes laboratórios. Vários são os benefícios para um laboratório advindos da participação em ensaios de proficiência (2), como por exemplo, contar com uma avaliação externa, regular e independente da

qualidade dos seus dados de ensaio; ter do organizador do programa uma fonte de assessoramento técnico e orientação sobre problemas analíticos, além de ser capaz de comparar regularmente o seu desempenho com o de outros laboratórios semelhantes, podendo alguns estudos fornecerem informações sobre as características de desempenho dos métodos analíticos.

Com a crescente demanda das solicitações de serviços e conhecimentos de metrologia, os ensaios de proficiência surgem como uma ferramenta fundamental para a avaliação da qualidade dos resultados, da capacidade e confiabilidade metrológica dos laboratórios brasileiros (3). Este trabalho apresenta o programa de comparação interlaboratorial coordenado pela Divisão de

Akie K. Ávila*¹, Thiago O. Araujo¹, Paulo R. G. Couto² e Renata M. H. Borges**¹

¹ Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial, Divisão de Metrologia Química

² Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial, Divisão de Metrologia Mecânica

*¹Autor para correspondência: INMETRO – Div. de Metrologia Química
Av. Nossa Senhora das Graças, 50, Prédio 4
CEP 25250-020. Rio de Janeiro. RJ
akavila@inmetro.gov.br

**¹mborges@inmetro.gov.br

Metrologia Química do Inmetro para as determinações de Ca, Cu, Fe, K, Mg, Na, Se e Zn em soro humano e suas respectivas estimativas de cálculo de incerteza de medição.

Metodologia

A amostra de soro humano fresco fornecido pelo IRMM está dentro do escopo do programa de comparação interlaboratorial IMEP-17 (Trace and Minor Constituents in Human Serum) (4). O sangue original foi coletado de pacientes saudáveis, depois de filtrado (0,22mm) e mantido a -80°C.

Aos laboratórios participantes foi enviado um protocolo com formulários para serem preenchidos com os dados coletados nos ensaios.

O cálculo da estimativa da incerteza de medição foi baseada no "International Organization for Standardization, Guide to the Expression of Uncertainty in Measurements (GUM) (5) e no Guia para a Expressão da Incerteza de Medição - EURACHEM/CITAC (6).

Resultados e Discussão

Neste programa de comparação interlaboratorial, as determinações de cálcio, cobre, ferro, potássio, magnésio, sódio, zinco e selênio em amostras de soro humano foram executadas pelos laboratórios da Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais – CETEC, Instituto Adolfo Lutz – IAL, Laboratório de Espectroscopia – SENAI-CETIND e Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA. Os laboratórios participantes utilizaram a técnica de espectrometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP-OES) e a técnica de espectrometria de absorção atômica com chama (Chama-AAS).

Estimativa da incerteza de medição

A incerteza é um parâmetro associado ao resultado de uma medição e é caracterizada como a dispersão dos valores que podem ser razoavelmente atribuídos ao mensurando, segundo o Guia para a Expressão da Incerteza de Medição (VIM) (7). A incerteza associada ao resultado da análise pode ser proveniente de várias fontes que podem incluir desde a digestão incompleta da amostra, incertezas nas pesagens e nas vidrarias, amostragem, efeitos de matriz e interferências, condições ambientais, etc. Neste ensaio de proficiência foram identificadas e estimadas algumas fontes de incerteza.

A Figura 1 apresenta o diagrama de causa efeito (8) das contribuições consideradas nos cálculos da estimativa de incerteza de medição para a determinação de metais em soro humano.

Quantificação das fontes de incerteza

Curva de calibração (u_1)

A quantidade do metal foi calculada utilizando uma curva de calibração preparada manualmente. Os padrões foram medidos

três vezes cada e a curva de calibração foi representada pela expressão $A_j = C_i \cdot B_1 + B_0$ onde A_j é a j ésima medida de absorvância do i ésimo padrão de calibração, C_i é a concentração do i ésimo padrão de calibração, B_1 é o coeficiente angular e B_0 é o ponto de interseção do eixo das ordenadas.

A incerteza associada à curva de calibração foi calculada pela Equação 1 cujo o desvio padrão residual S foi obtido através da Equação 2 e S_{xx} , pela Equação 3, onde p é o número de medições para determinar C_0 , n é o número de medições para a curva de calibração, C_0 é concentração do metal determinada,

\bar{C} é o valor médio dos diferentes padrões de calibração (para um número n de medições), i é o índice para o número de padrões de calibração e j é o índice para o número de medições para obter a curva de calibração.

$$u_1 = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(C_0 - \bar{C})^2}{S_{xx}}} \quad \text{Eq. 01}$$

$$S = \frac{\sum_{j=1}^n [A_j - (B_0 + B_1 \cdot C_j)]^2}{n - 2} \quad \text{Eq. 02}$$

$$S_{xx} = \sum_{j=1}^n (C_j - \bar{C})^2 \quad \text{Eq. 03}$$

Fator de diluição (u_2)

Na diluição da amostra os volumes das soluções contidos no frasco volumétrico e na pipeta estão sujeitos aos efeitos da calibração da vidraria, temperatura, coeficiente de expansão da água. Estas 3 contribuições são combinadas para se obter a incerteza padrão u_2 em relação a diluição da amostra.

Repetitividade (u_3)

A incerteza associada à repetitividade das leituras da amostra foi calculada pela Equação 4, onde σ_{Abs} é o desvio padrão das absorvâncias relativas às leituras da amostra, f_{dil} é o fator de diluição da amostra, n é o número de determinações da amostra e B_1 é o coeficiente angular da curva de calibração.

$$u_3 = \frac{\sigma_{Abs}}{\sqrt{n}} \cdot \frac{f_{dil}}{B_1} \quad \text{Eq. 04}$$

As Tabelas 1 - 8 apresentam as incertezas relativas obtidas pelos diferentes laboratórios nas determinações dos metais em soro humano.

Tabela 1. Incerteza relativa das fontes que contribuem na determinação de cobre

Laboratório	u_1	u_2	u_3	técnica
1	0,031	0,0031	0,016	ICP-OES
2	-	-	-	-
3	0,061	0,0040	0,035	ICP-OES
4	0,012	0,0037	0,005	chama-AAS

u_1 – curva de calibração; u_2 – diluição; u_3 – repetitividade

Tabela 2. Incerteza relativa das fontes que contribuem na determinação de cálcio

Laboratório	u_1	u_2	u_3	técnica
1	0,0240	0,0031	0,012	ICP-OES
2	0,0190	0,0021	9,1E-06	chama-AAS
3	0,0008	0,0040	0,037	ICP-OES
4	-	-	-	-

u_1 – curva de calibração; u_2 – diluição; u_3 – repetitividade

Tabela 3. Incerteza relativa das fontes que contribuem na determinação de ferro

Laboratório	u_1	u_2	u_3	técnica
1	0,039	0,0031	0,058	ICP-OES
2	-	-	-	-
3	0,041	0,0040	0,110	ICP-OES
4	-	-	-	-

u_1 – curva de calibração; u_2 – diluição; u_3 – repetitividade

Tabela 4. Incerteza relativa das fontes que contribuem na determinação de potássio

Laboratório	u_1	u_2	u_3	técnica
1	0,015	0,0031	0,016	ICP-OES
2	0,005	0,0021	0,001	chama-AAS
3	0,001	0,0040	0,042	ICP-OES
4	-	-	-	-

u_1 – curva de calibração; u_2 – diluição; u_3 – repetitividade

Nas determinações de Cu, Ca, Zn, Se e K, em geral, a fonte que mais contribuiu para a estimativa da incerteza de medição foi a proveniente da curva de calibração. Enquanto que na determinação do Fe a predominância foi da repetitividade da amostra. Para Mg, apenas dois laboratórios participaram da determinação e o resultado não foi conclusivo. Estes dados demonstram que um trabalho mais criterioso pode ser realizado em relação à curva de calibração possibilitando a diminuição da influência desta fonte na estimativa do cálculo de incerteza de medição. Outra observação constatada refere-se à técnica

Tabela 5. Incerteza relativa das fontes que contribuem na determinação de magnésio

Laboratório	u_1	u_2	u_3	técnica
1	0,041	0,0031	0,017	ICP-OES
2	-	-	-	-
3	0,003	0,0040	0,032	ICP-OES
4	-	-	-	-

u_1 – curva de calibração; u_2 – diluição; u_3 – repetitividade

Tabela 6. Incerteza relativa das fontes que contribuem na determinação de sódio

Laboratório	u_1	u_2	u_3	técnica
1	0,015	0,0031	0,015	ICP-OES
2	0,013	0,0023	0,012	chama-AAS
3	0,093	0,0040	0,037	ICP-OES
4	-	-	-	-

u_1 – curva de calibração; u_2 – diluição; u_3 – repetitividade

Tabela 7. Incerteza relativa das fontes que contribuem na determinação de zinco

Laboratório	u_1	u_2	u_3	técnica
1	0,032	0,0031	0,020	ICP-OES
2	-	-	-	-
3	0,092	0,0040	0,078	ICP-OES
4	0,017	0,0037	0,002	chama-AAS

u_1 – curva de calibração; u_2 – diluição; u_3 – repetitividade

Tabela 8. Incerteza relativa das fontes que contribuem na determinação de selênio

Laboratório	u_1	u_2	u_3	técnica
1	0,017	0,0031	0,014	GH-AAS
2	-	-	-	-
3	0,14	0,0040	0,14	GF AAS
4	-	-	-	-

u_1 – curva de calibração; u_2 – diluição; u_3 – repetitividade

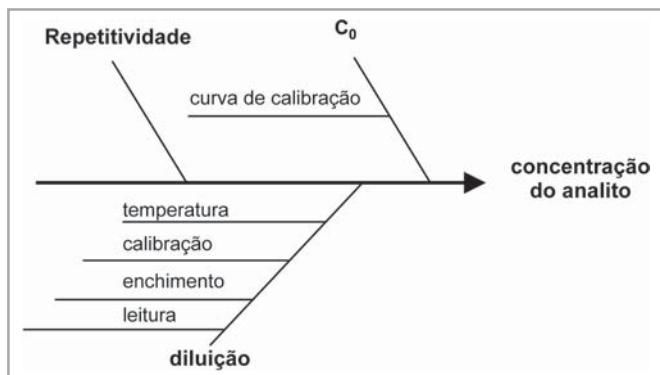
GH-AAS – geração de hidreto; GF AAS – forno de grafite

escolhida para a análise. Embora os laboratórios 1 e 3 tenham utilizado a mesma técnica na determinação dos metais, a avaliação das incertezas relativas das contribuições não mostraram a mesma tendência para os analitos Ca, K e Mg.

A estimativa da incerteza padrão combinada ($u_{(c)}$) na determinação de metais foi obtida através da expressão

$u_{(c)} = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2}$ e a incerteza expandida (U) foi obtida pelo produto da incerteza padrão combinada e o fator de abrangência k com 95% de confiança. Através do valor do grau de liberdade e da tabela de Graus de Liberdade (9) encontra-se

Figura 1. Diagrama de causa efeito para a determinação de metais no soro humano



o fator de abrangência correspondente.

As concentrações dos analitos e as incertezas expandidas estão expressas graficamente nas Figuras 2-9 junto aos valores da referência certificados.

Conclusões

O uso harmonioso da metrologia conduz, necessariamente, à redução dos custos associados à produção de bens e serviços, mediante a sistematização, racionalização e ordenação das atividades, com a conseqüente economia para clientes e fornecedores, permitindo avaliar e estabelecer requisitos técnicos destinados a assegurar a proteção da vida humana, da saúde e do meio ambiente. Nesse contexto, metrologia e normalização constituem-se em pré-condições indispensáveis à decodificação do conhecimento e sua transformação em produtos e serviços de qualidade.

A estimativa da incerteza da medição é muito importante para a confiabilidade das medições e o processo da estimativa e a sua interpretação devem ser práticos e de fácil entendimento. Dentro das fontes de incertezas estimadas, a incerteza associada à curva de calibração foi a que mais contribuiu para a estimativa

Figura 2. Resultados dos laboratórios obtidos para Ca. Valor certificado: $93,60 \pm 0,28 \text{ mg. L}^{-1}$ [$U=k \cdot u_c$ ($k=2$)]

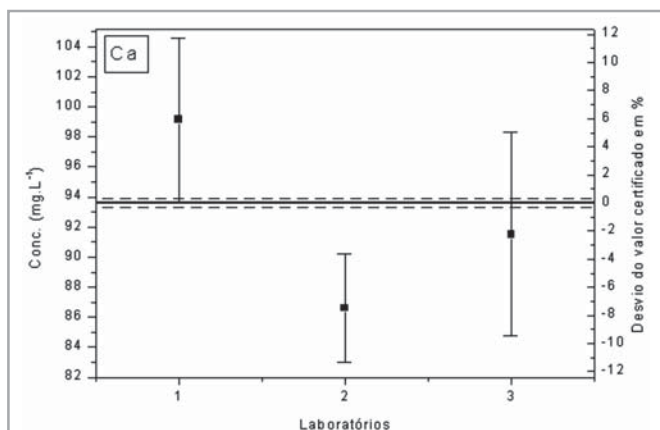


Figura 3. Resultados dos laboratórios obtidos para Cu. Valor certificado: $1,1165 \pm 0,0064 \text{ mg. L}^{-1}$ [$U=k \cdot u_c$ ($k=2$)]

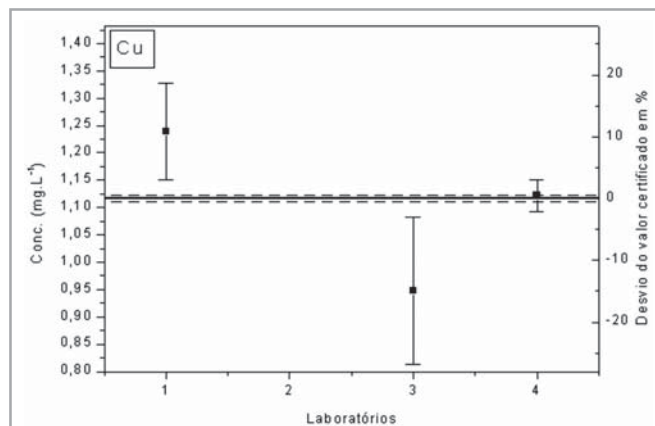


Figura 4. Resultados dos laboratórios obtidos para Fe. Valor certificado: $1,083 \pm 0,030 \text{ mg. L}^{-1}$ [$U=k \cdot u_c$ ($k=2$)]

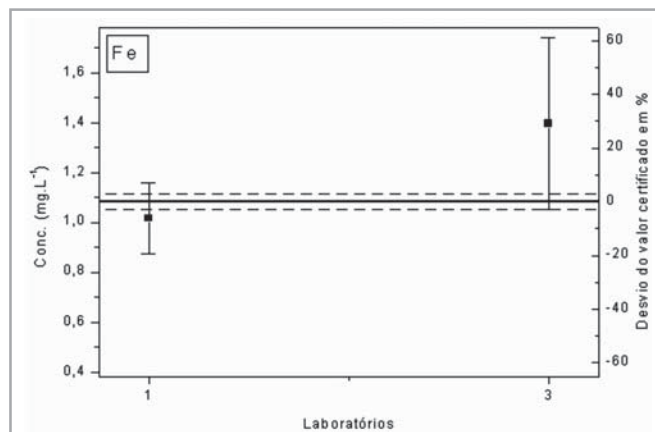
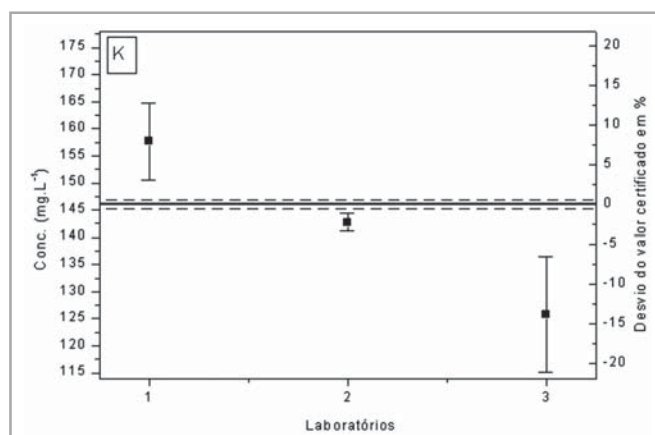


Figura 5. Resultados dos laboratórios obtidos para K. Valor certificado: $146,03 \pm 0,82 \text{ mg. L}^{-1}$ [$U=k \cdot u_c$ ($k=2$)]



da incerteza padrão combinada. Isto se deve ao fato que para se avaliar a produção de informações laboratoriais há a necessidade da presença de, no mínimo, três contribuições: a ação do operador de laboratório, habilitado para executar a medição; a existência

Figura 6. Resultados dos laboratórios obtidos para Mg.
Valor certificado: $19,75 \pm 0,14 \text{ mg. L}^{-1}$ [$U=k. u_c (k=2)$]

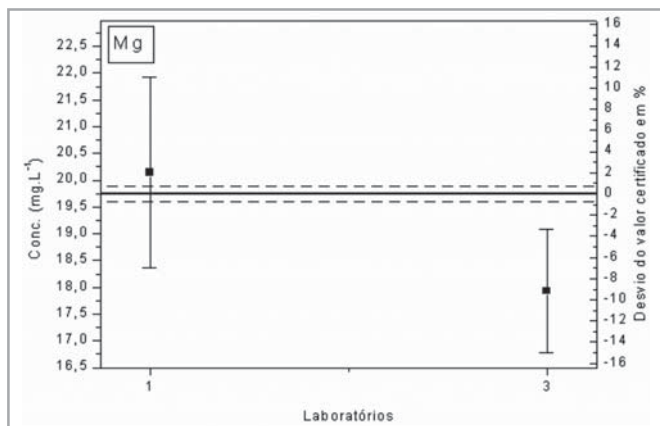
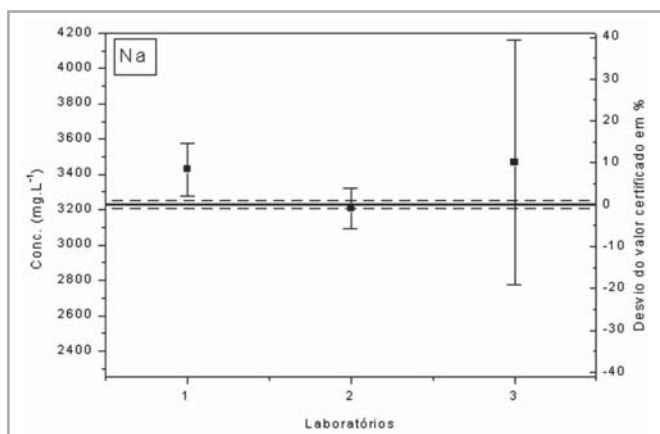


Figura 7. Resultados dos laboratórios obtidos para Na.
Valor certificado: $3228,3 \pm 21,8 \text{ mg. L}^{-1}$ [$U=k. u_c (k=2)$]



da metodologia referendada que descreva os passos a serem seguidos pelo operador na busca de uma medição e o instrumento, que possibilitará efetuar a medição, segundo a metodologia de posse do operador.

A participação de laboratórios em ensaios de proficiência é de fundamental importância para que se verifique a consistência das atividades desenvolvidas. Num contexto geral, o ensaio de proficiência traz como benefícios: avaliação do desempenho do laboratório e monitoração contínua; evidência de obtenção de resultados confiáveis, identificação de problemas relacionados com a sistemática de ensaios; possibilidade de tomada de ações corretivas e/ou preventivas; avaliação da eficiência de controles internos; determinação das características de desempenho e validação de métodos e tecnologias; padronização das atividades frente ao mercado, e reconhecimento de resultados de ensaios, em nível nacional e internacional.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao IRMM na pessoa da Dra. Lutgart Van Nevel pela doação das amostras de soro humano, sem as quais não seria possível a realização deste programa.

Figura 8. Resultados dos laboratórios obtidos para Se.
Valor certificado: $0,0807 \pm 0,0028 \text{ mg. L}^{-1}$ [$U=k. u_c (k=2)$]

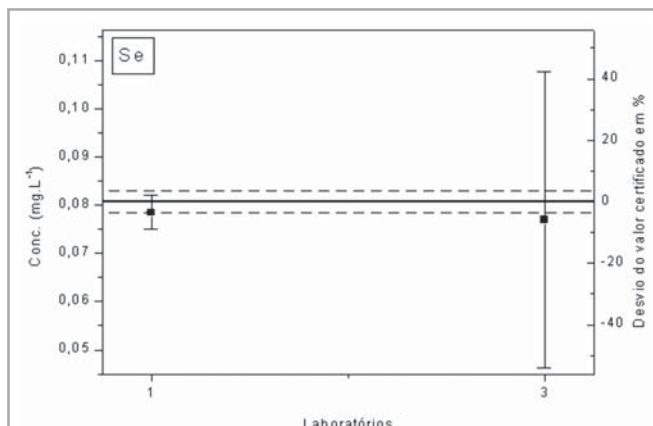
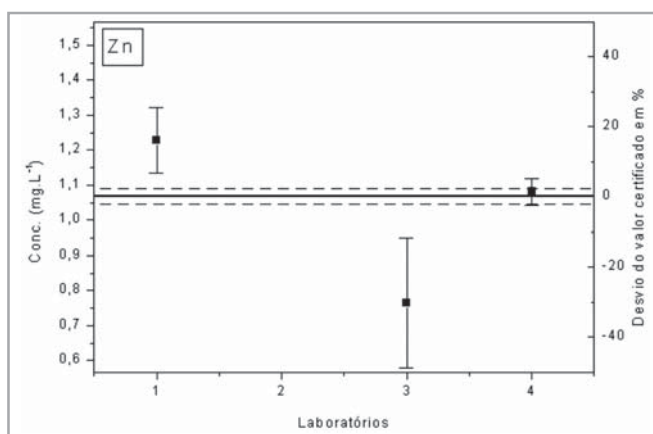


Figura 9. Resultados dos laboratórios obtidos para Zn.
Valor certificado: $1,067 \pm 0,023 \text{ mg. L}^{-1}$ [$U=k. u_c (k=2)$]



Referências

1. *Proficiency testing by interlaboratory comparisons – Part 1: Development and operation of proficiency testing schemes and Part 2: Selection and use of proficiency testing scheme by laboratory accreditation bodies. ISO/IEC Guide 43:1997.*
2. Eurachem Netherland, working group on “Interlaboratory Studies”, “Statistics and Assessment of Interlaboratory Studies” (1996).
3. **Ensaio de Proficiência – Requisitos para Provedores e Banco de Dados**, Editora Interciência Ltda, Rio de Janeiro (2000).
4. <http://www.imep.ws>
5. **International Organization for Standardization – Guide to the Expression for Uncertainty in Measurement**, Geneve, 1993, revised and reprinted in 1995 (GUM).
6. **Guia para a Expressão da Incerteza de Medição**, terceira edição brasileira em língua portuguesa, ABNT, INMETRO (2003).
7. **Vocabulário Internacional de Termos Fundamentais e Gerais de Metrologia (VIM)**, 3ª edição (2003).
8. **EURACHEM/CITAC Quantifying Uncertainty in Analytical Measurements**, Second Edition (2000).
9. Massart DL, Vandeginste BGM, Buydens LMC, De Jong S, Lewi PJ. E Smeyers-Verbeke J. **Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part A**, Elsevier (1997).