



Protocolo de EP Dimci/Lapep nº 004/2024 – Revisão 02

Ensaio de Proficiência em Alcoolemia – 4ª rodada

ORGANIZAÇÃO E COORDENAÇÃO

Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia - Inmetro

Diretoria de Metrologia Científica, Industrial e Tecnologia – Dimci

Laboratório de Programas de Ensaios de Proficiência – Lapep

Av. Nossa Senhora das Graças, 50 - Xerém - Duque de Caxias - RJ - 25250-020

Telefone e fax: +55 21 2145-3023/3004

E-mail: pep-inmetro@inmetro.gov.br

Site: <https://www.gov.br/inmetro/pt-br/assuntos/metrologia-cientifica/servicos/ensaios-de-proficiencia/analise-forense/alcoolemia>

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Proporcionar ferramenta para os laboratórios de toxicologia forense avaliarem os seus desempenhos na determinação de concentração de etanol em sangue;
- Cumprir a meta 2 do plano de trabalho do Termo de Execução Descentralizada (TED) 001/2021 assinado entre Inmetro e Segen/Senasp (MJSP);
- Contribuir para o aumento da confiança dos laboratórios forenses nacionais;
- Contribuir para a melhoria contínua dos métodos analíticos de cada laboratório.

PARTICIPAÇÃO

Este EP será destinado a laboratórios de toxicologia forense, localizados no Brasil, que realizem análises de alcoolemia. A participação neste EP será restrita a laboratórios de perícia da Polícia Federal, instituições de polícia técnico-científica estaduais, institutos de criminalística estaduais, institutos médico-legais estaduais, bem como laboratórios oficiais de toxicologia ou responsáveis pela análise de alcoolemia. O número máximo é de 30 participantes, que terão sua inscrição confirmada levando-se em consideração a ordem de chegada da ficha de inscrição.

Será feita ampla divulgação do EP para os potenciais participantes que, no período de inscrição, deverão preencher a ficha de inscrição diretamente no site do Inmetro.

A participação nesse EP será gratuita, sendo o prazo de inscrição de 15/08/2024 a 28/08/2024.

ITEM DE ENSAIO DE PROFICIÊNCIA

Os itens de ensaio consistem em: frascos tipo *criovial* contendo 2 mL de amostra de sangue fortificado com etanol (item A), e frascos tipo *headspace* contendo 5 mL de solução de etanol em água (item B), ambos na faixa de concentração entre 0,5 dg/L e 50 dg/L.

Cada laboratório participante receberá um total de 4 frascos, sendo 2 frascos para cada um dos itens de ensaio. Os itens de ensaio deverão ser identificados pelo nome “EP em Alcoolemia – Item de ensaio A” e “EP em Alcoolemia – Item de ensaio B” no rótulo, acompanhado por numeração unívoca referente à ordem de envase de cada lote.

Será enviado também aos participantes 1 frasco contendo aproximadamente 1,5 mL de etanol de pureza elevada. O Inmetro irá informar o valor da pureza do etanol desse frasco para uso opcional para calibração do método de análise.

DISTRIBUIÇÃO DO ITEM DE ENSAIO DE PROFICIÊNCIA

Na data estabelecida no cronograma, serão enviados para cada participante 4 frascos com conteúdo a ser analisado, além de 1 frasco contendo calibrante, acondicionados em caixas de isopor, preenchida com material adequado para evitar danos aos frascos e com gelo seco. Será utilizada etiqueta indicadora de temperatura nas embalagens. O Lapep será o responsável pela embalagem e pelo envio dos itens de ensaio e calibrante, que será feito por transportadora e deverá garantir que haja gelo seco até a entrega da caixa ao destinatário. **O formulário de recebimento do item de ensaio apresenta campo para que o participante registre o estado da etiqueta indicadora de temperatura imediatamente após abertura da embalagem.**

RECEBIMENTO

No ato do recebimento, o participante deverá realizar uma inspeção dos itens de ensaio para verificar se existe algum dano que possa invalidar os resultados. O participante deverá registrar a informação da etiqueta de temperatura imediatamente após abertura da caixa. O resultado da inspeção deve ser registrado no formulário de recebimento do item de ensaio. **O formulário deverá ser baixado do site do Inmetro (<https://www.gov.br/inmetro/pt-br/assuntos/metrologia-cientifica/servicos/ensaios-de-proficiencia/analise-forense/alcoolemia>), preenchido e enviado diretamente à coordenação do EP pelo e-mail pep-inmetro@inmetro.gov.br, tão logo os itens sejam recebidos.**

PREPARO E ACONDICIONAMENTO

Os frascos do item de ensaio A (preparado em sangue) deverão ser armazenados em freezer, em temperatura inferior a -10 °C. Os frascos do item de ensaio B (solução de etanol em água) e a ampola do calibrante deverão ser acondicionados em temperatura ambiente, não ultrapassando 25 °C, em local limpo e seco. No momento da análise, os frascos do item de ensaio A devem ser mantidos em temperatura ambiente (20 °C a 25 °C) até que estejam descongelados. Todos os frascos devem ser homogêneos por agitação manual, manipulados rapidamente e utilizados logo após a abertura, para evitar possíveis alterações na concentração da solução. Os frascos são de uso único, tanto dos itens de ensaio quanto dos calibrantes. O preparo das amostras deve ser realizado na faixa de temperatura de 20 a 25 °C.

MANUSEIO E SEGURANÇA

Durante sua manipulação, utilizar equipamentos de proteção individual e coletivo adequados que impeçam o contato das amostras com a pele e olhos. **O item de ensaio A não foi testado para doenças transmissíveis pelo contato com material biológico de origem humana. Portanto, deve ser manipulado como um produto que apresenta risco biológico, capaz de transmitir doenças infecciosas.**

DOCUMENTOS DO EP

Os documentos listados abaixo serão fornecidos aos participantes:

- (1) Protocolo do EP contendo todas as informações pertinentes, incluindo o cronograma de todas as etapas do EP e qualquer informação sobre método de medição e/ou preparação necessária;
- (2) Ficha de inscrição;
- (3) Código de identificação do participante do EP;
- (4) Formulário de recebimento do item de ensaio;
- (5) Formulário de registro de resultados;
- (6) Formulário de envio de resultados;
- (7) Relatório preliminar do EP;
- (8) Relatório final do EP; e

(9) Certificado de participação no EP.

Os documentos 1, 2, 4, 5 e 6 serão disponibilizados no site do Inmetro (<https://www.gov.br/inmetro/pt-br/assuntos/metrologia-cientifica/servicos/ensaios-de-proficiencia/analise-forense/alcoolemia>). Os documentos 3, 7, 8 e 9 serão enviados por e-mail aos participantes.

CRONOGRAMA

Descrição	Data de Início	Data de Término/Data limite
Período de inscrições.	15/08/2024	28/08/2024
Envio dos códigos de identificação de cada participante.	30/08/2024	04/09/2024
Envio dos itens de ensaio aos participantes.	05/09/2024	09/09/2024
Envio dos resultados para o Lapep.	—	11/10/2024
Tratamento estatístico dos resultados.	16/10/2024	22/10/2024
Envio do relatório preliminar aos participantes.	---	21/11/2024
Envio das considerações do relatório preliminar à Coordenação deste EP.	22/11/2024	28/11/2024
Aprovação do relatório final.	---	10/12/2024
Envio do relatório final aos participantes.	---	11/12/2024
Envio do certificado de participação no EP.	12/12/2024	13/12/2024

MÉTODOS DE MEDIÇÃO

Os participantes poderão escolher as metodologias analíticas normalmente utilizadas pelo laboratório e deverão relatar cada etapa, por exemplo técnica analítica (ex: CG-DIC, CG-EM); transições utilizadas em caso de análise por EM (íons utilizados na quantificação); abordagem de quantificação (calibração externa, adição padrão, calibração interna); padrões utilizados (fornecedor e pureza), bem como a origem do valor da pureza declarado e informações adicionais que julgarem pertinentes. Caso o laboratório determine os limites de detecção e quantificação de sua metodologia, recomenda-se que estes dados também sejam relatados. Correções para a pureza dos materiais de referência utilizados na calibração dos métodos deverão ser feitas para cada resultado. O laboratório poderá utilizar seu próprio calibrante ou o calibrante que será enviado pelo Inmetro junto com os itens de ensaio.

A alíquota mínima que deve ser utilizada dos itens de ensaio é de 100 µL.

REGISTRO DAS MEDIÇÕES E ENVIO DOS RESULTADOS

Os participantes receberão 2 frascos para cada item de ensaio (A e B). Destes, 1 frasco poderá ser utilizado em testes preliminares e 1 frasco deverá ser destinado à medição do EP para obter os resultados que serão relatados. Preferencialmente, 3 alíquotas do frasco selecionado para medição deverão ser analisadas. Se o volume contido no frasco não for suficiente para realizar a medição em 3 alíquotas (triplicata) de acordo com o procedimento do participante, um número menor de alíquotas poderá ser usado. Para cada item de ensaio, os participantes deverão relatar a concentração de etanol para cada alíquota e a concentração média para o item de ensaio analisado. Os participantes que estimarem a incerteza de medição podem relatar essa informação no formulário. Opcionalmente, os participantes poderão relatar a presença de outras substâncias voláteis detectadas no ensaio.

Os participantes deverão preencher o formulário de registro de resultados, elaborado pelo Inmetro e disponibilizado no site do Inmetro (<https://www.gov.br/inmetro/pt-br/assuntos/metrologia-cientifica/servicos/ensaios-de-proficiencia/analise-forense/alcoolemia>). O formulário será um arquivo

Excel contendo uma aba com instruções e outra para relato dos resultados. Antes de preencher as informações e os resultados na planilha, é importante ler as orientações na aba “Instruções”. Após o preenchimento dos dados, a planilha deverá ser protegida com uma senha. Clicar na aba "Revisão" e depois em "Proteger Planilha". Irá abrir uma caixa de diálogo onde será necessário definir uma senha conhecida apenas pelo participante. Depois, clicar em "OK" e salvar a planilha.

O formulário de registro de resultados preenchido pelo participante deverá ser enviado à coordenação do EP até **11/10/2024** anexando ao **Formulário de envio de resultados** disponível no site do Inmetro (<https://www.gov.br/inmetro/pt-br/assuntos/metrologia-cientifica/servicos/ensaios-de-proficiencia/analise-forense/alcoolemia/4a-rodada/formulario-de-envio-de-resultados>)

A concentração de etanol para ambos itens de ensaio deverá ser expressa em dg/L.

Os participantes devem conferir as informações relatadas no formulário de registro de resultados, pois não poderão ser corrigidas ou alteradas após o prazo limite para envio dos mesmos.

Para que o Comitê Técnico possa acessar os dados enviados pelos participantes é importante seguir as instruções de proteção da planilha descritas acima. Em que caso de dúvida, entrar em contato com a coordenação do EP.

Observação: Somente serão analisados os resultados relatados no formulário de registro de resultados, identificado com o código do laboratório (enviado pela coordenação do EP), protegidos com senha e dentro do prazo estabelecido no cronograma. Caso o participante obtenha para os itens de ensaio resultados de concentração inferiores aos seus limites de detecção e/ou quantificação e mesmo assim opte por relatar os resultados dos itens de ensaio, seus resultados de concentração serão considerados.

VALOR DESIGNADO E SUA INCERTEZA

O valor designado e a sua incerteza associada serão estabelecidos pelo Inmetro. O valor designado para o Item A (amostra de sangue) será estabelecido pelo método de diluição isotópica, utilizando a técnica de (HS-CG-EMDI). O etanol-D₆ será usado como padrão interno. O valor designado para o item B será obtido por formulação, ou seja, pelo preparo gravimétrico da solução de etanol em água corrigido pela pureza do etanol, e confirmado por CG-EMDI. A incerteza será calculada seguindo a abordagem clássica do Guia para Expressão de Incerteza de Medição (GUM 2008) [5], ABNT ISO GUIA 35 [3] e ISO 13528 [4], combinando os valores de incerteza da caracterização, homogeneidade e estabilidade de armazenamento, quando aplicáveis.

A incerteza combinada do valor designado deverá ser menor que $0,3 \times \sigma_{pt}$ para que o desempenho dos participantes seja avaliado pelo índice z . Caso contrário, será avaliado pelo índice z' .

AValiação DE DESEMPENHO

Todos os resultados relatados pelos participantes serão avaliados, independentemente do limite de detecção ou quantificação informado pelo participante. Se a incerteza do valor designado pelo Inmetro for menor que $0,3 \times \sigma_{pt}$, a avaliação de desempenho será realizada por meio do índice z . Se a incerteza do valor designado pelo Inmetro for maior que $0,3 \times \sigma_{pt}$ a avaliação de desempenho será feita pelo índice z' . Para os participantes que relatarem a incerteza de medição também será calculado o erro normalizado.

Índice z

O índice z (z score) representa uma medida da distância do resultado apresentado por um laboratório específico em relação ao valor designado do EP e, portanto, serve para verificar se o resultado da medição de cada participante está em conformidade com o valor designado. O índice z será calculado conforme a Equação 1.

$$z_i = \frac{x_i - x_{pt}}{\sigma_{pt}} \quad (1)$$

Onde:

z_i é o índice z para o i -ésimo participante;

x_i é o valor médio reportado pelo i -ésimo participante;

x_{pt} é o valor designado do EP, que será determinado pelo laboratório de referência (Labor/Dquim/Inmetro);

σ_{pt} é o desvio-padrão para avaliação de proficiência.

A interpretação do valor do índice z está descrita a seguir:

$|z| \leq 2,0$ - indica desempenho “satisfatório”;

$2,0 < |z| < 3,0$ - indica desempenho “questionável”;

$|z| \geq 3,0$ - indica desempenho “insatisfatório”.

Índice z'

Caso a incerteza combinada do valor designado seja maior do que $0,3 \times \sigma_{pt}$, o índice z' será utilizado. O índice z' (z' score) também representa uma medida da distância do resultado apresentado por um laboratório específico em relação ao valor de referência do ensaio de proficiência. Contudo, o desvio-padrão para avaliação de proficiência (σ_{pt}) será acrescido da contribuição da incerteza do valor designado, $u(x_{pt})$. Dessa forma, o denominador da equação será expandido, anulando o efeito da incerteza do valor designado sobre a avaliação de desempenho dos participantes. O índice z' será calculado conforme a Equação 2.

$$z'_i = \frac{x_i - x_{pt}}{\sqrt{\sigma_{pt}^2 + u^2(x_{pt})}} \quad (2)$$

Onde:

z'_i é o índice z' para o i -ésimo participante;

x_i é o valor médio reportado pelo i -ésimo participante;

x_{pt} é o valor designado do EP, que será determinado pelo laboratório de referência (Labor/Dquim/Inmetro);

σ_{pt} é o desvio-padrão para avaliação de proficiência;

$u(x_{pt})$ é a incerteza-padrão do valor designado.

A interpretação do valor do índice z' está descrita abaixo:

$|z'| \leq 2,0$ - indica desempenho “satisfatório”;

$2,0 < |z'| < 3,0$ - indica desempenho “questionável”;

$|z'| \geq 3,0$ - indica desempenho “insatisfatório”.

Erro normalizado

Para os participantes que relataram a incerteza expandida de medição também será calculado o erro normalizado. Este parâmetro avalia se o resultado da medição de cada participante está em conformidade com o valor designado, levando em consideração não apenas os resultados das medições, mas também suas respectivas incertezas. O erro normalizado é calculado conforme a Equação 3.

$$E_{ni} = \frac{x_i - x_{pt}}{\sqrt{U^2(x_i) + U^2(x_{pt})}} \quad (3)$$

Onde:

E_{ni} é o erro normalizado para o i-ésimo participante;

x_i é o valor médio reportado pelo i-ésimo participante;

x_{pt} é o valor designado do EP, que será determinado pelo laboratório de referência (Labor/Dquim/Inmetro);

$U(x_{pt})$ é a incerteza expandida do valor designado;

$U(x_i)$ é a incerteza expandida reportada pelo i-ésimo participante.

A avaliação do desempenho de cada laboratório participante “i” será realizada a partir do cálculo do seu índice E_{ni} , obedecendo ao seguinte critério:

$|E_n| < 1$ Desempenho “satisfatório”

$|E_n| \geq 1$ Desempenho “insatisfatório”

Caso o participante reporte somente a incerteza-padrão, sem considerar o fator de abrangência, o índice *zeta* (ζ) poderá ser calculado no lugar do erro normalizado. O índice *zeta* (ζ) é calculado conforme a Equação 4.

$$\zeta_i = \frac{x_i - x_{pt}}{\sqrt{u^2(x_i) + u^2(x_{pt})}} \quad (4)$$

Onde:

ζ_i é o índice *zeta* para o i-ésimo participante;

x_i é o valor médio reportado pelo i-ésimo participante;

x_{pt} é o valor designado do EP, que foi determinado pelo laboratório de referência (Inmetro/Dquim/Labor);

$u(x_i)$ é a incerteza-padrão reportada pelo i-ésimo participante;

$u(x_{pt})$ é a incerteza-padrão do valor designado.

A interpretação do valor do índice *zeta* está descrita a seguir:

$|\zeta| \leq 2,0$ indica desempenho “satisfatório”;

$2,0 < |\zeta| < 3,0$ indica desempenho “questionável”;

$|\zeta| \geq 3,0$ indica desempenho “insatisfatório”.

Desvio-padrão para avaliação de proficiência (σ_{ep})

O valor de σ_{ep} para os itens de ensaio A e B será de 5 %. Esses valores foram baseados no desvio de Horwitz, nos valores de rodadas anteriores (1ª, 2ª e 3ª rodadas) do EP em alcoolemia e em dados da literatura de EP semelhantes (THOMPSON, 2000 [6]; ARCHER, 2017 [2]; WALLACE, 2010 [7]; THOMPSON, 2006 [8]).

Outros métodos estatísticos e gráficos poderão ser utilizados para avaliar o desempenho combinado dos itens de ensaio A e B, ou para avaliar o desempenho geral ao longo das rodadas, tais como, elipse de Youden, histograma, carta controle, entre outros [4].

CONFIDENCIALIDADE

Cada participante será identificado por código individual que será conhecido somente pelo próprio participante, pelos Comitês do Inmetro e pela Senasp, com exceção dos laboratórios acreditados, que terão seu código de identificação disponível para conhecimento da Coordenação-Geral de Acreditação (Cgcre). O participante receberá, via e-mail, o seu código de identificação correspondente à sua participação no EP. Este código deverá ser utilizado como identificação do participante no preenchimento do formulário de registro de resultados.

APELAÇÕES OU RECLAMAÇÕES

Caso o participante deseje formalizar uma reclamação ou apelação referente ao EP deverá enviar e-mail para pep-inmetro@inmetro.gov.br.

INFORMAÇÕES ADICIONAIS

Por meio do protocolo deste EP os participantes terão as informações e regras. O contato com o Lapep poderá ser feito pelo telefone (21) 2145-3002 ou pelo e-mail: pep-inmetro@inmetro.gov.br.

RELATÓRIO PRELIMINAR E FINAL

Os resultados serão apresentados em um relatório preliminar que será enviado por e-mail aos participantes para análise passível de propostas de correções, apelações e reclamações. Estas considerações dos participantes serão analisadas pelos Comitês do Inmetro e, se julgadas pertinentes, serão incorporadas no relatório final do EP. Todas as considerações recebidas serão respondidas pelo Lapep.

Os relatórios, preliminar e o final, serão enviados apenas para os laboratórios participantes, obedecendo a confidencialidade.

Conforme estabelecido no item 4.10.4 da ABNT ISO/IEC 17043:2011 [1], em circunstâncias excepcionais, uma autoridade reguladora pode requerer os resultados do EP e a identificação dos participantes ao provedor. Quando isto ocorrer, o provedor do EP notificará esta ação aos participantes.

Os relatórios, preliminar e final, conterão informações como:

- Nome e detalhes de contato do provedor de EP e do coordenador;
- Data de emissão e situação do relatório (por exemplo: preliminar ou final);
- Declaração da extensão da confidencialidade dos resultados;
- Identificação do item de ensaio, incluindo detalhes sobre sua preparação;
- Metodologia analítica usada pelos participantes;
- Resultados dos participantes, identificados apenas por seus códigos, apresentados em tabelas e gráficos;
- Procedimentos utilizados para a análise estatística dos dados, incluindo detalhes sobre os valores designados e faixas de resultados aceitáveis e representações gráficas;
- Procedimentos utilizados para estabelecer os valores designados, detalhes da rastreabilidade metrológica e das incertezas de medição;
- Relação com nomes de todas as instituições participantes.

REFERÊNCIAS

[1] ABNT NBR ISO/IEC 17043:2011: Avaliação da conformidade. Requisitos gerais para a competência de provedores de ensaios de proficiência.

[2] Archer, M.; Marajh, D.N.; Visser, M.S.; Fernandes-Whaley, M. Use of accumulated proficiency testing scheme results to evaluate laboratory performance in forensic ethanol analysis. J. Chem. Metrol. 11(2) (2017) 31-39. <http://doi.org/10.25135/jcm.5.17.04.038>.

[3] ABNT ISO GUIA 35:2020 Materiais de referência - Guia para caracterização e avaliação da homogeneidade e estabilidade.

- [4] ISO 13528:2022. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons.
- [5] GUM. Avaliação dos dados de medição: guia para a expressão de incerteza de medição. Rio de Janeiro, 1ª edição, 2008.
- [6] Thompson, M. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing. *Analyst* 125 (2000) 385-386.
- [7] Wallace, J. Proficiency testing as a basis for estimating uncertainty of measurement: application to forensic alcohol and toxicology quantitations. *J. Forensic. Sci.* 55(3) (2010) 767-773. <http://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2010.01344.x>.
- [8] Thompson, M.; Ellison, S.; Wood, R. The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.* 78(1) (2006) 145–196.

HISTÓRICO DA REVISÃO

- Atualização do item “Cronograma”.
-