



3 Controlo interno da qualidade dos ensaios

3.2 Análises replicadas

3.2.1 Validação

Na sequência da validação do procedimento deve provar-se que a repetibilidade e a precisão intermédia estimadas são adequadas ao objectivo do ensaio.

- A repetibilidade é quantificada pelo desvio padrão: s_r ;

- A precisão intermédia é quantificada pelo desvio padrão: s_1 .

Estas medidas de imprecisão podem ser estimadas de diferentes formas:

1) Análise replicada de um item (amostra ou item de referência) homogéneo [replicados gerados numa escala de tempo adequada];

2) Considerando a dispersão de medições replicadas de diversos itens [replicados, de cada item, gerados numa escala de tempo adequada](...)

rjsilva@fc.ul.pt

1



3 Controlo interno da qualidade dos ensaios

3.2 Análises replicadas

3.2.1 Validação

Estas medidas de imprecisão podem ser estimadas de diferentes formas:

(...)

2) Considerando a dispersão de medições replicadas de diversos itens em que cada item é analisado **as mesmas n vezes**.

$$s_r \text{ ou } s_1 = \sqrt{\sum_{j=1}^t \sum_{k=1}^n (y_{jk} - \bar{y}_j)^2 / t(n-1)}$$

t - número de itens analisados n vezes;

y_{jk} - resultado replicado k (k varia de 1 a n) do item j (j varia de 1 a t);

\bar{y}_j - média aritmética dos resultados de n ensaios realizados sobre o item j .

Recomenda-se que $t(n-1)$ seja pelo menos igual a 15.

rjsilva@fc.ul.pt

2



3 Controlo interno da qualidade dos ensaios

3.2 Análises replicadas

3.2.1 Validação

Estas medidas de imprecisão podem ser estimadas de diferentes formas:

(...)

2) Considerando a dispersão de medições replicadas de diversos itens. Caso o número de réplicas varie com o item analisado pode-se calcular o desvio padrão agrupado (“pooled”):

$$s_r \text{ ou } s_1 = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^t (n_j - 1) s_j^2}{\sum_{j=1}^t (n_j - 1)}} = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) s_1^2 + (n_2 - 1) s_2^2 + \dots + (n_t - 1) s_t^2}{n_1 + n_2 + \dots + n_t - t}}$$

t - número de itens analisados;

s_j - desvio padrão nas n_j réplicas da análise da amostra j ($j=1$ a t);

Recomenda-se que $\sum(n_j - 1)$ seja pelo menos igual a 15.

rjsilva@fc.ul.pt

3



3 Controlo interno da qualidade dos ensaios

3.2 Análises replicadas

3.2.2 Controlo da qualidade

- Critério de aceitação

i) Considerando a lei de propagação de desvios padrão: O desvio padrão da diferença de dois valores é $\sqrt{2}$ maior que o desvio padrão de valores individuais. Desta forma, a diferença de dois valores com o desvio padrão σ é menor que $1,96\sqrt{2}\sigma = 2,77\sigma$ para 95% das diferenças geradas.



$r = 2,8 \sigma_r$ ► Limite de repetibilidade;

$I = 2,8 \sigma_1$ ► Limite de precisão intermédia.

(...)

rjsilva@fc.ul.pt

4

C

3 Controlo interno da qualidade dos ensaios

3.2 Análises replicadas

- Critério de aceitação (do controlo da qualidade)

i) (...)

Quando o critério anterior não é aceite, é necessário investigar os valores. Neste caso, suspeita-se que um dos valores é aberrante.



International
Organization for
Standardization

A Norma ISO 5725-6 propõe uma metodologia para a avaliação de replicados e determinação do valor final

Esta abordagem só é aplicável a procedimentos com precisão conhecida. A ISO 5725 propõe que estas avaliações sejam realizadas com um nível de probabilidade de 95 %.

Nalguns casos, pode ser aconselhável repetir todos os ensaios!

Esta metodologia é baseada no conhecimento da “Amplitude Crítica” (CR – “Critical Range”) de valores replicados considerando um nível de probabilidade de 95%.

rjsilva@fc.ul.pt

5

C

3 Controlo interno da qualidade dos ensaios

3.2 Análises replicadas

- Critério de aceitação (do controlo da qualidade): i) (...)

A Amplitude Crítica de n replicados para um nível de confiança de 95 % [$CR_{0,95}(n)$] é a amplitude ($x_{\max} - x_{\min}$) que majora 95% das amplitudes geradas por replicados associado a uma distribuição Normal.

$$CR_{0,95}(n) = f(n) \times \sigma$$

Desvio padrão da
repetibilidade,
precisão intermédia ou
reprodutibilidade

rjsilva@fc.ul.pt

6

C

3 Controlo interno da qualidade dos ensaios

3.2 Análises replicadas

- Critério de aceitação (do controlo da qualidade): i) (...)



Número de replicados

n	$f(n)$	n	$f(n)$
2	2,8	15	4,8
3	3,3	20	5,0
4	3,6	25	5,2
5	3,9	30	5,3
6	4,0	35	5,4
7	4,2	40	5,5
8	4,3	45	5,6
9	4,4	50	5,6
10	4,5	100	6,1

rjsilva@fc.ul.pt

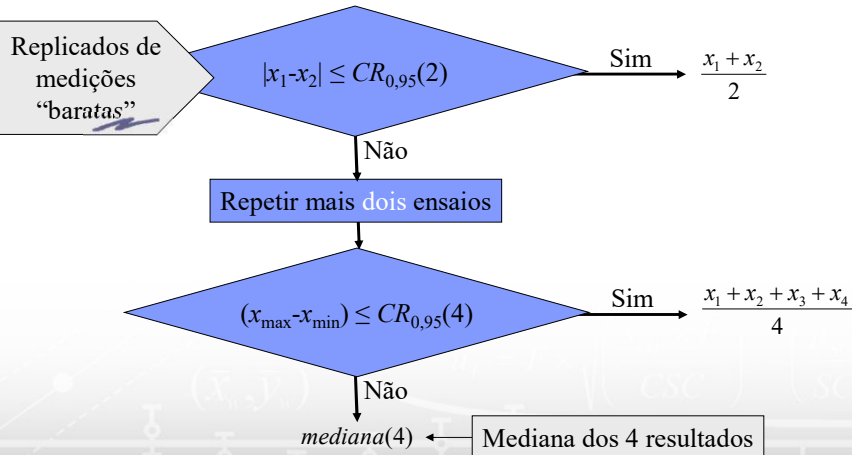
7

C

3 Controlo interno da qualidade dos ensaios

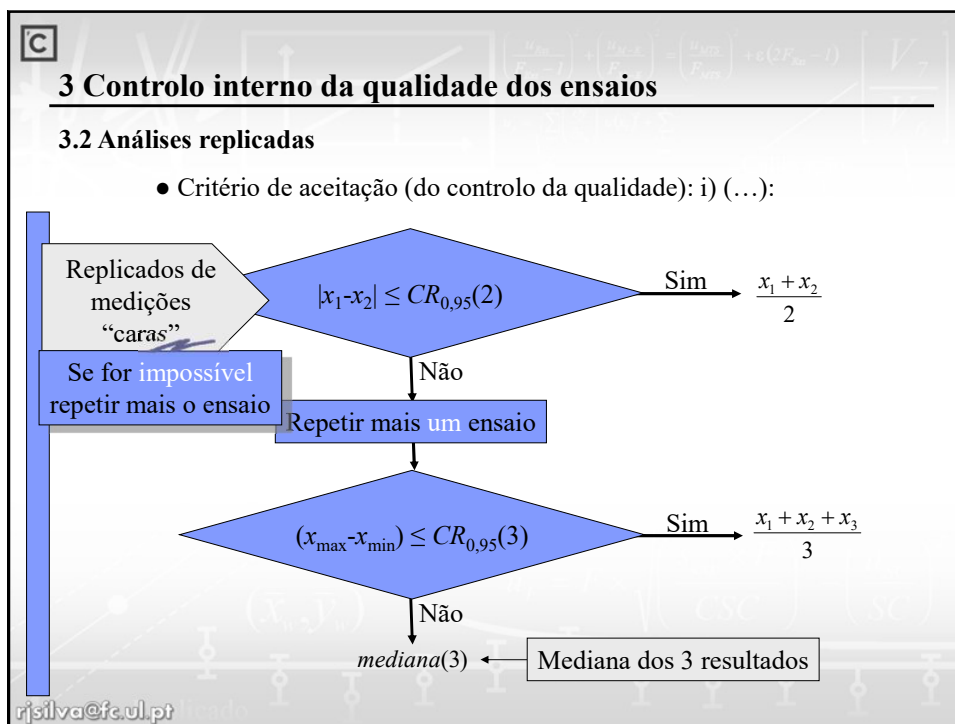
3.2 Análises replicadas

- Critério de aceitação (do controlo da qualidade): i) (...):

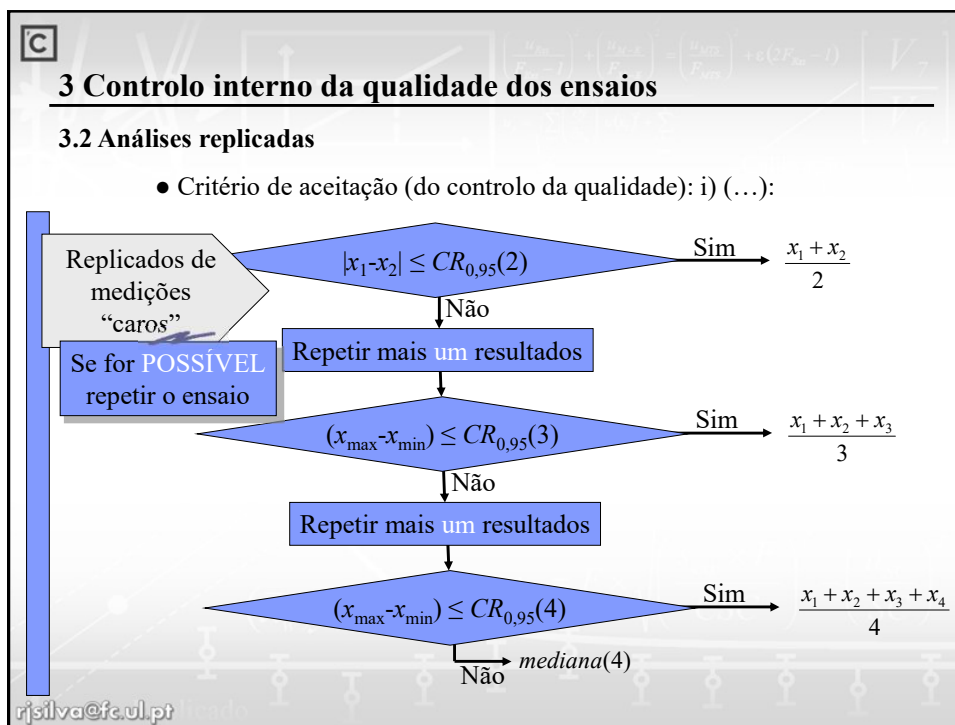


rjsilva@fc.ul.pt

8



9



10



3 Controlo interno da qualidade dos ensaios

3.2 Análises replicadas

- Critério de aceitação (do controlo da qualidade): i) (...):

Por vezes começa-se a caracterizar a amostra em triplicado...

Usar a Tabela de $f(n)$ vs. $n...$

A metodologia de “progressão” dos ensaios replicados deve estar descrita num procedimento de ensaio.

Esta metodologia é aplicável a replicados gerados em condições de repetibilidade, precisão intermédia ou reprodutibilidade

Se o critério anterior não for aceite com frequência deve-se rever a estimativa de $\sigma!$ (análise de tendências).

Idealmente, o relatório de ensaio deve referir o número de resultados considerados e se foi reportada a mediana.

rjsilva@fc.ul.pt

11



3 Controlo interno da qualidade dos ensaios

3.2 Análises replicadas

3.2.2 Controlo da qualidade

- Critério de aceitação

(...)

ii) Carta de controlo de amplitudes (alínea 3.6).

- Frequência do controlo

i) Um ensaio replicado por série de análises;

ii) Quando habitualmente as amostras não têm analito, esta frequência pode ser alargada (exemplo: sempre que a amostra apresentar teores quantificáveis).

Neste caso, a precisão global da medição deve ser monitorizada através da análise de itens de referência (...)

rjsilva@fc.ul.pt

12



3 Controlo interno da qualidade dos ensaios

3.3 Análise de amostras fortificadas

Quando se pretende avaliar a veracidade da medição e não estão disponíveis materiais, equivalentes às amostras, com teor conhecido, podem-se preparar itens de referência através da adição de quantidades conhecidas de analito a tomas de amostras.

3.3.1 Validação

- A validade das amostras fortificadas é função das seguintes regras:
 - Itens fortificados equivalentes às amostras em termos de matriz e níveis de concentração (evitar a diluição da matriz das amostras por adição de analito);
 - O analito adicionado (fortificado) deve-se comportar como o analito presente nas amostras (nalguns casos é conveniente promover a interacção entre o analito e a matriz...).

rjsilva@fc.ul.pt

13



3 Controlo interno da qualidade dos ensaios

3.3 Análise de amostras fortificadas

3.3.1 Validação

- Quantificação da recuperação de analito:
 - Habitualmente, a capacidade do procedimento recuperar o analito adicionado é quantificada através do cálculo da recuperação de analito, R :
$$R = \frac{\text{Teor estimado de analito}}{\text{Teor esperado de analito}}$$
 - Quando as amostras fortificadas têm analito nativo: “Teor esperado” = “Teor de analito nativo”+”Teor adicionado”.
 - Quando a amostra adicionada tem analito é necessário quantificar o teor de analito nativo.
 - A fortificação de itens sem analito nativo permite a produção de estimativas menos incertas da veracidade da medição.

rjsilva@fc.ul.pt

14



3 Controlo interno da qualidade dos ensaios

3.3 Análise de amostras fortificadas

3.3.1 Validação

- Avaliação da significância do erro sistemático (teste-t):

Os dados recolhidos do desempenho da medição devem ser usados para avaliar a significância do desvio da recuperação média observada em relação ao valor ideal de 100 %:

O intervalo:

$$\bar{R} \pm \frac{t(n-1;95\%)s_{\text{Rec}}}{\sqrt{n}}$$

... deve incluir o valor 1 (100 %).

Desvio padrão da recuperação média:

$$s_{\text{Rec}}/\sqrt{n}$$

rjsilva@fc.ul.pt

15



3 Controlo interno da qualidade dos ensaios

3.3 Análise de amostras fortificadas

3.3.1 Validação

- Avaliação da significância do erro sistemático (teste-t):

(...)

A utilização deste critério baseia-se no seguinte pressuposto:

- A tolerância ($t \cdot s_{\text{Rec}}/\sqrt{n}$) quantifica os desvios da recuperação média em relação ao valor ideal de 100 % (i.e., a incerteza associada à preparação dos ensaios de recuperação é desprezável ou está incluída em s_{Rec}).

Situação mais comum!

rjsilva@fc.ul.pt

16



3 Controlo interno da qualidade dos ensaios

3.3 Análise de amostras fortificadas

3.3.2 Controlo da qualidade

- Critérios

i) Estimados com base na dispersão observada, durante a validação, em ensaios de recuperação. Recuperação aceite se dentro do intervalo:

$$\bar{R} \pm t(n-1;95\%) \cdot s_{\text{Rec}}$$

\bar{R} – recuperação média;
 n – n°. de ensaios de recuperação;
 $t(n-1; 95\%)$ – t -Student para $(n-1)$ graus de liberdade e um nível de confiança de 95 %;
 s_{Rec} – desvio padrão da recuperação.

Pode-se aumentar o nível de confiança para aumentar a taxa de sucesso do critério (ex. 99 %)