

Ensaio de Proficiência para Laboratórios de Nutrição Animal - EPLNA -

Protocolo de funcionamento para 2013 (Ano 16)

Um dos objetivos do Ensaio de Proficiência, desde sua criação, é a melhoria da precisão e eficiência dos laboratórios participantes de modo a garantir confiabilidade nos resultados emitidos para seus clientes. O programa permite também a comparação entre resultados de instituições semelhantes, favorecendo a redução do coeficiente de variação entre laboratórios para uma mesma análise química.

O Ensaio de Proficiência para Laboratórios de Nutrição Animal – **EPLNA**¹ utiliza mecanismos de checagem de exatidão e precisão com a repetição aleatória de determinadas amostras, sem prévio conhecimento do participante. O desempenho do laboratório é demonstrado com a constante emissão de relatórios estatísticos, e ao final do ano um estudo completo ajuda a estabelecer um perfil e indica oportunidades de aprimoramento de métodos, procedimentos e rotinas laboratoriais. Esse desempenho também pode ser acompanhado com o uso de Amostras de Referência que são certificadas pelos próprios membros do Programa. O uso dessas amostras rotineiramente faz parte da Gestão da Qualidade e auxilia na tomada de decisão após a identificação de problemas analíticos.

Taxa de administração

A taxa de administração para 2013 (16º ano) será de R\$ 450,00 com vencimento para 30/05/2013. A efetivação do pagamento confirma a participação do laboratório o valor deverá ser pago via depósito bancário. Os dados bancários para depósito ainda não foram definidos, portanto, assim que tivermos a confirmação para depósito enviaremos informações por email.

Amostras:

As amostras utilizadas durante o ano foram preparadas no laboratório de Nutrição Animal da Embrapa Pecuária Sudeste, estando, porém, a cargo da Coordenação a separação, embalagem e rotulação das amostras e a definição dos lotes. Cada lote será composto três amostras, sendo: uma amostra de forrageira (amostras: 16/01, 16/04, 16/07 e 16/10), uma amostra de concentrado (amostras: 16/02, 16/05, 16/08 e 16/11) e uma amostra de suplemento mineral (amostras: 16/03, 16/06, 16/09 e 16/12). As amostras referência deverão ser analisadas apenas na segunda rodada, com três repetições para cada ensaio (analito), e estão identificadas como amostra : MRV16, MRC16 e MRS16. **Os resultados das amostras referência deverão ser enviados por email para a coordenação em planilha Excel que será enviada oportunamente.**

Análises

Para as amostras de volumoso e concentrado deverão ser realizadas as seguintes determinações e apresentados os resultados nas seguintes unidades:

Análises	Unidade	Análises	Unidade
GRUPO A (análises bromatológicas)		GRUPO B (macro e micronutrientes)	
Matéria seca (MS)	%	Cálcio (Ca)	g/kg
Proteína bruta (PB)	%	Magnésio (Mg)	g/kg
Fibra em detergente neutro (FDN)	%	Fósforo (P)	g/kg
Fibra em detergente ácido (FDA)	%	Potássio (K)	g/kg
Fibra Bruta (FB)	%	Sódio (Na)	g/kg
Cinzas (CIN)	%	Cobre (Cu)	mg/kg
Extrato etéreo (EE)	%	Ferro (Fe)	mg/kg
		Manganês (Mn)	mg/kg
		Zinco (Zn)	mg/kg
GRUPO C- outras análises			
Lignina via ácido sulfúrico (Lignina)	%	Nitrogênio Insolúvel em Fibra Deterg. Neutro (NIDIN)	%
Digestibilidade "in vitro" da matéria seca (DIVMS)	%	Nitrogênio Insolúvel em Fibra Deterg. Ácido (NIDA)	%
Nitrogênio Não Protéico (NNP)	%	Nitrogênio Insolúvel em Tampão Borato-Fosfato (NITBF)	%

Não há obrigatoriedade de realizar todos os ensaios, contudo, o laboratório obriga-se a apresentar os resultados expressos EXCLUSIVAMENTE nas unidades citadas.

Todos os resultados devem estar corrigidos na matéria seca a 105°C.

No ensaio de Fibra em Detergente Neutro das amostras de concentrado (amostras 16/02, 16/05, 16/08 e 16/11) e a amostra referência de concentrado MRC 16, **APENAS** os

Pecuária Sudeste

laboratórios que utilizarem uréia e alfa-amilase na extração devem enviar resultados. O procedimento para o tratamento prévio da amostra para hidrólise do amido está disponível nas seguintes referências:

- ✚ Disponível na página do EPLNA: Van Soest et al, 1991²; Souza et al, 1999³.
- ✚ Livros: Van Soest, 1994⁴; Silva & Queiroz, 2002⁵; Nogueira & Souza, 2005⁶.

Para as amostras de Suplementos Minerais serão analisados apenas os seguintes analitos:

Análise	Unidade	Análise	Unidade
Cálcio (Ca)	g/kg	Magnésio (Mg)	g/kg
Fósforo (P)	g/kg	Potássio (K)	g/kg
Sódio (Na)	g/kg	Cobre (Cu)	mg/kg
Ferro (Fe)	mg/kg	Zinco (Zn)	mg/kg
Manganês (Mn)	mg/kg		

Os resultados dessas análises deverão ser expressos no **"material como fornecido"**, sem correção pela matéria seca.

Cronograma

A realização das análises e o envio de resultados devem obedecer à seguinte programação:

Amostras	Época de análises	Data limite para envio de resultados
16/01, 16/02 e 16/03	Abri e Maio	30/05/2013
16/04, 16/05 e 16/06	Maio a Julho	30/07/2013
16/07, 16/08 e 16/09	Julho a Setembro	15/09/2013
16/10, 16/11 e 16/12	Setembro e Novembro	12/11/2013
MRV16, MRC16 e MRSM16	Maio a Julho	30/07/2013

Ressaltamos a importância de obedecer às datas de realização das análises e de envio de resultados. O acesso a digitação dos resultados estará liberado apenas sete dias que antecedem a data limite para envio de resultados e bloqueado na data limite.

Identificação dos participantes

Cada laboratório participante do **EPLNA** é identificado por um **código** conhecido apenas por ele próprio e pela coordenação. Recebe também uma **SENHA** para acessar a página da Internet onde devem ser digitados os resultados. Cada participante é responsável por manter em sigilo seu código e sua senha e, responsabiliza-se, portanto, pela correta digitação de seus dados na página.

Resultados

O envio dos resultados analíticos para a Coordenação deverá obedecer ao cronograma do EPLNA para envio de resultados e poderá ser feito das seguintes formas:

- via Internet, através do *Link* do Ensaio de Proficiência na página da Embrapa Pecuária Sudeste: <http://eplna.cppse.embrapa.br>. Para acessar a área restrita aos participantes deverá ser digitado: **usuário: eplna + o número do laboratório e senha de seis números fornecidos pela coordenação**, e para digitar os resultados cada participante deverá entrar com sua senha individual de acesso que foi informada em carta de encaminhamento junto com as amostras.

Todos os resultados das amostras de volumosos e concentrados já devem estar **corrigidos na matéria seca a 105 °C**. Os resultados das amostras de suplementos minerais deverão ser expressos **no material como fornecido**.

Avaliação estatística

Na página da internet da Embrapa Pecuária Sudeste [-http://eplna.cppse.embrapa.br](http://eplna.cppse.embrapa.br), no *link* do Programa, estará disponível após o encerramento de cada lote, um quadro estatístico com informações que os laboratórios podem consultar e utilizar. Este quadro estará disponível exclusivamente aos participantes do **EPLNA**, em área restrita, com o acesso através da senha. A avaliação estatística será realizada empregando o **Índice z robusto** (Fórmula 1), que é um dos conceitos recomendado pelas normas ISO/IEC 17043:2010⁷ e pelo protocolo Internacional harmonizado para Ensaio de Proficiência para Laboratórios Analíticos⁸.

$$z = \frac{(x_i - \bar{X})}{s}$$

Fórmula 1. Equação utilizada para calcular o Índice z.

Onde, x_i é o resultado informado pelo laboratório participante, $\bar{X}$ é o valor designado (valor alvo) e "s" é o desvio padrão alvo.

- ♦ Para a definição dos valores de $\bar{X}$ e s , será utilizada estatística robusta, a qual possui a vantagem de não receber interferência de valores dispersos na estimativa da posição central e da dispersão dos resultados. Nesse método, o valor designado é dado pela **mediana** ($\bar{X}$), e o valor de dispersão (s) é calculado pelo valor da amplitude interquartílica normalizada (**IQN**)^{9,10} ou por meio da estimativa do desvio padrão obtido após a exclusão de "Outliers" pelo teste de Hampel.
- ♦ O valor da amplitude interquartílica normalizada (**IQN**) será calculado pela relação: **IQN = IQ x 0,7413**, o qual torna a **IQN** comparável com o desvio padrão⁹.
- ♦ A amplitude interquartílica (**IQ**) é a diferença entre o maior quartil (Q3) e o menor quartil (Q1). Sendo Q1 o valor abaixo do qual estão presentes 25% dos resultados e Q3 os valores acima do qual estão presentes outros 25% dos resultados.
- ♦ Para as análises cuja dispersão determinada por meio do **IQN** apresentar-se muito elevada, será escolhido desvio padrão alvo, (s), após a exclusão de "outliers" pelo teste de Hampel. O teste de Hampel é considerado método robusto para detectar resultados considerados "outliers"¹¹.
- ♦ Para definir os resultados que estão fora do intervalo de confiança será adotado o seguinte critério: o resultado que estiver dentro do intervalo $|z| \leq 2$ será considerado **satisfatório** e, portanto não receberá asterisco; o resultado que estiver no intervalo $2 < |z| < 3$ será considerado resultado **questionável** e receberá um asterisco (*); e o resultado que estiver acima do intervalo $|z| \geq 3$ será considerado **insatisfatório** e receberá dois asteriscos (**)¹.
- ♦ O índice de desempenho do laboratório (**ID**) é baseado na quantidade de análises cujos resultados foram considerados satisfatórios, indicando assim a eficácia do laboratório na realização das análises. O ID será calculado empregando a Fórmula 2¹.

$$ID(\%) = 100 - \left[\frac{N^* \times 100}{NE} \right]$$

Fórmula 2. Fórmula utilizada para calcular o Índice de Desempenho (**ID**) de cada Laboratório participante: **N*** quantidade análises com resultados considerados questionáveis ou insatisfatórios; **NE**: quantidade total de análises enviadas.

- ♦ O Índice de Desempenho (**ID**) dos laboratórios para o ano 16 do EPLNA será determinado por grupos de análise:

Pecuária Sudeste

- ✓ **Grupo A:** será composto pelas análises bromatológicas, que abrange as análises de MS, PB, FDN, FDA, FB, MM e EE;
 - ✓ **Grupo B:** será composto pelas análises dos macro e micronutrientes (Ca, Mg, P, K, Na, Cu, Fe, Mn e Zn);
 - ✓ **Grupo C:** demais análises (DIVMS, Lignina, NIDA, NIDN, NNP, NITBF) não serão consideradas no cálculo do desempenho, entretanto, serão contempladas no programa interlaboratorial.
- ♦ Apenas os laboratórios que participarem de pelo menos **três rodadas** e obtiverem Índice de Desempenho igual ou acima de 75% (**ID ≥ 75%**) terão direito na aquisição dos selos de qualidade. Sendo o desempenho determinado para cada grupo de análises.

Informações gerais

- ⇒ A cada lote informaremos uma avaliação das análises, indicando as que apresentaram maior dispersão dos resultados, para isso será considerado como parâmetro o coeficiente de variação (**cv**).
- ⇒ Será **excluído** do Programa o laboratório que deixar de enviar resultados por **duas vezes**, sem apresentar justificativa. Salientamos que na classificação final, será considerada a frequência do participante.
- ⇒ O selo de qualidade apenas poderá ser adquirido se o laboratório participar de no mínimo três rodadas durante o ano.
- ⇒ Não serão aceitos resultados de análises não contempladas pelo Programa.
- ⇒ Não serão aceitos resultados expressos em unidades diferentes daquelas indicadas nesta norma.
- ⇒ Não serão aceitos resultados de concentrados e volumosos sem a devida correção para 100% de MS.

Referências Bibliográficas

1. SOUZA, G. B.; NOGUEIRA, A. R. de A.; SANTO, V. R. D.; PICCHI, C. M. C.; GUIMARAES, E. da S.; JUNIOR, W. B. Proficiency testing of animal nutrition laboratories. Accreditation and Quality Assurance, v.14, N.8-9, p. 455-460, 2009
2. VAN SOEST, P.J., ROBERTSON, J.B., LEWIS, B.A. Symposium: Carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle. Methods for dietary fiber, neutral

Pecuária Sudeste

- detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal Dairy Science*, v.74, p.3583-97. 1991.
3. SOUZA, G.B., NOGUEIRA, A.R.A., SUMI, L.M., BATISTA, L.A.R., Método alternativo para a determinação de fibra em detergente neutro e detergente ácido. São Carlos: EMBRAPA-CPPSE, 1999. 21 p. EMBRAPA-CPPSE, Boletim de Pesquisa, 4.
 4. VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of the ruminant. 2a Ed. Ithaca, New York, Cornell University Press, 1994. 476p.
 5. SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. 3 ed. Viçosa:UFV, 2002, 235p.
 6. NOGUEIRA, A.R.A., SOUZA, G.B. Manual de Laboratório: Solo, água, nutrição vegetal, nutrição animal e alimentos. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, 2005. 313p.
 7. ISO/IEC 17043:2010. Conformity assessment - General requirements for proficiency testing.
 8. Thompson, M.; Ellison, S.L.R.; Wood, R.. The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories. **Pure and Applied Chemistry**, v. 78, n. 1, p. 145 – 196, 2006.
 9. Chui, Q. S. H., Bispo, J. M. A., Iamashita, C. O., O papel dos Programas Interlaboratoriais para a Qualidade dos Resultados Analíticos. **Química Nova**, v.27, n. 6, p.993 - 1003, 2004
 10. Analytical Methods Committee, Robust Statistics – How not to reject outliers Part 1. Basic Concepts, **Analyst**, 1989, 114, 1693-1697.
 11. Linsinger, T.P.J., Kandler, W., Krska, R. Grasserbauer, M. The Influence of Different Evaluation Techniques on the Results of Interlaboratory Comparison. *Accreditation and Quality Assurance*, v.3, p.322-327, 1998.

Gilberto Batista de Souza

Coordenador do Ensaio de Proficiência para Laboratórios de Nutrição Animal