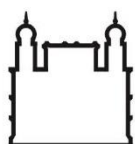


**Ensaio de Proficiência em Produtos  
Sujeitos ao Regime de Vigilância Sanitária  
(EP/INCQS)**

**Ensaio de Proficiência para Determinação  
de Resíduo de Micotoxinas em  
Alimentos – 12<sup>a</sup> Rodada  
Aflatoxina M1 em Leite em Pó  
Rodada EP MIC 12/22**



Ministério da Saúde  
FIOCRUZ  
Fundação Oswaldo Cruz





Ensaio de Proficiência em Produtos Sujeitos ao Regime de Vigilância Sanitária  
(EP/INCQS)

## **Ensaio de Proficiência para Determinação de Resíduos de Micotoxinas em Alimentos 12ª Rodada – Aflatoxina M1 em Leite em Pó**

### **RELATÓRIO FINAL**

#### **ORGANIZAÇÃO E COORDENAÇÃO**



Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - INCQS

Avenida Brasil, 4365 – Manguinhos

Rio de Janeiro - RJ – Brasil - Cx. Postal 926 - CEP: 21040-900

#### **COMISSÃO ORGANIZADORA DA RODADA**

##### **- COMISSÃO DO PROGRAMA DE ENSAIO DE PROFICIÊNCIA**

Armi Wanderley da Nóbrega – Coordenador Geral

Marcus Henrique Campino de la Cruz – Coordenador Técnico

Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso – Coordenadora da Qualidade

Margarita Corrales – Secretária *ex officio* da RILAA (*ad hoc*)

##### **- COMITÊ TÉCNICO**

André Victor Sartori

Maria Heloisa Paulino de Moraes

Rosana Pereira dos Santos

Autorizada a emissão – Armi W. da Nóbrega  
(Coordenador Geral)

27/Março/2023

## SUMÁRIO

1. Introdução .....	3
2. Objetivos .....	3
3. Produção dos Itens de Ensaio .....	4
3.1. Escolha da Matriz .....	4
3.2. Preparo dos Itens de Ensaio .....	4
3.3. Faixa de Concentração Esperada.....	4
3.4. Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio .....	4
3.5. Armazenamento e Envio dos Itens de Ensaio.....	5
3.6. Recebimento dos Itens de Ensaio .....	5
4. Análise dos Resultados .....	5
4.1. Resultados das Medições dos Laboratórios .....	5
4.2. Estabelecimento do Valor de Referência .....	5
4.3. Análise Estatística .....	5
4.3.1. Avaliação da Estabilidade dos Itens de Ensaio.....	6
4.3.2. Avaliação da Homogeneidade dos Itens de Ensaio .....	6
4.3.3. Desvio Padrão para Avaliação de Proficiência.....	6
4.3.4. Índices z .....	6
5. Resultados da Avaliação da Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio .....	7
5.1. Avaliação da Homogeneidade .....	7
5.2. Avaliação da Estabilidade.....	7
5.2.1. Estabilidade de Transporte .....	7
5.2.2. Estabilidade de Armazenamento .....	7
6. Atribuição do Valor de Referência .....	8
7. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes .....	8
7.1. Laboratórios Participantes .....	8
7.2. Resultados dos Laboratórios Participantes.....	9
7.3. Considerações Sobre os Métodos de Análise.....	9
7.3.1. Método de Análise do Laboratório de Resíduos de Micotoxinas do INCQS .....	9
7.3.2. Parâmetros da Quantificação .....	9
7.3.3. Método de <i>Clean-up</i> .....	10
7.4. Cálculo do Índice z .....	10
8. Conclusões e Comentários.....	11
9. Confidencialidade.....	11
10. Modificações em Relação a Versão Anterior .....	12
11. Referências Bibliográficas .....	12
12. Laboratórios Participantes .....	12
Anexo A – Homogeneidade Segundo a Norma ISO 13528 .....	13

## 1. Introdução

Ensaio de proficiência (EP) é o uso de comparações interlaboratoriais com o objetivo de avaliar a habilidade de um laboratório realizar um determinado ensaio ou medição de modo competente e demonstrar a confiabilidade dos resultados gerados. Em um contexto geral, o ensaio de proficiência propicia aos laboratórios participantes: avaliação do desempenho 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.

Com a crescente demanda por provas regulares e independentes de competência pelos organismos reguladores e clientes, o ensaio de proficiência é relevante para todos os laboratórios que testam a qualidade de produtos. Além do baixo número de provedores de ensaios de proficiência na área de alimentos, os custos cobrados para a participação nestes ensaios principalmente de provedores internacionais, são normalmente muito elevados, o que inviabiliza, em muitos casos, a participação de um laboratório em um número maior de ensaios.

A presença de micotoxinas em alimentos tem sido correlacionada a várias patologias humanas, e as autoridades de saúde no mundo todo tem implementado ações para diminuir a ingestão dessas substâncias pela dieta. A Aflatoxina M1 é um metabólito tóxico formado como produto da biotransformação da aflatoxina B1 em mamíferos, podendo ser encontrado como contaminante em leite. Devido à toxicidade, alto potencial de contaminação e consumo, principalmente por crianças, a presença de Aflatoxina M1 em leite tem sido regulamentada em diversos países. No Brasil, o limite aceitável de Aflatoxina M1 em leite em pó foi fixado em  $5 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  (Brasil, 2022) Esse fato reflete a importância da utilização de metodologias analíticas confiáveis para determinação de Aflatoxina M1 em leite para assegurar a qualidade das medições.

As investigações sobre a incidência de micotoxinas em alimentos são de suma importância para que esforços possam ser concentrados na prevenção e no controle da contaminação dos produtos susceptíveis a esse tipo de contaminação.

Visando a promoção da saúde e em apoio a maior competitividade da agroindústria nacional, o INCQS promoveu o Ensaio de Proficiência para Determinação de Resíduos de Micotoxinas em Alimentos, 12ª Rodada – Aflatoxina M1 em Leite em Pó, seguindo as diretrizes da [ABNT ISO/IEC 17043](#), apresentando neste relatório os resultados da avaliação de desempenho dos laboratórios participantes.

## 2. Objetivos

O objetivo deste Ensaio de Proficiência é fornecer aos laboratórios participantes uma ferramenta efetiva para verificar a sua competência nos ensaios de rotina. Portanto:

- A aflatoxina M1 presentes no leite em pó deverá ser quantificada pelos laboratórios participantes no item de ensaio recebido empregando a metodologia analítica utilizada em sua rotina;
- A partir destes resultados, o desempenho dos laboratórios participantes para o ensaio proposto será avaliado;
- Subsídios serão fornecidos aos laboratórios para a identificação e solução de problemas .

### 3. Produção dos Itens de Ensaio

Os procedimentos de preparo dos itens de ensaio e as análises foram realizados no Departamento de Química/Setor de Resíduos e Contaminantes/Laboratório de Resíduos de Micotoxinas do INCQS/FIOCRUZ. As análises dos itens de ensaio para as avaliações de homogeneidade, estabilidade e caracterização foram realizadas segundo os requisitos da norma [ABNT ISO/IEC 17025](#).

#### 3.1. Escolha da Matriz

O leite é um produto de grande importância na balança comercial do país e consumido em larga escala pelos brasileiros, o que torna a escolha relevante no que se refere à vigilância sanitária. Portanto, a sua inocuidade é de suma importância para que estes não venham a causar prejuízos às exportações e riscos à saúde do consumidor.

#### 3.2. Preparo dos Itens de Ensaio

A amostra de leite em pó foi adquirida diretamente no mercado local. Esta foi peneirada, fortificada com a aflatoxina M1 e em seguida homogeneizada. Após a homogeneização, a amostra foi envazada em sachês aluminizados a vácuo, contendo cada um 25g ± 2g de leite em pó. O lote preparado contém a aflatoxina M1 em nível de concentração significativo, porém abaixo do Limite Máximo Tolerado (LMT) pela legislação brasileira ([Brasil, 2022](#)).

#### 3.3. Faixa de Concentração Esperada

A concentração nominal teórica final da micotoxina estará entre 0,25 e 5,00 µg kg<sup>-1</sup> para a Aflatoxina M1.

#### 3.4. Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio

Foram separados aleatoriamente dez itens de ensaio representativos do conjunto preparado para o teste de homogeneidade. Cada item de ensaio foi dividido em duas partes e analisados de forma independente.

A estabilidade foi avaliada no intervalo de tempo<sup>1</sup> anterior ao envio do item de ensaio até após a data final de entrega dos resultados pelos laboratórios participantes.

Os testes estatísticos foram feitos segundo a norma [ISO 13528](#) e a [ISO GUIA 35](#).

Os resultados obtidos nos testes estão apresentados no [item 5](#) deste relatório.

---

<sup>1</sup> Início em 05/10/2022 e término em 16/01/2023.

### 3.5. Armazenamento e Envio dos Itens de Ensaio

Para cada [laboratório inscrito](#) na 12ª Rodada do Ensaio de Proficiência para Determinação de Resíduos de Micotoxinas em Alimentos – Aflatoxina M1 em leite em Pó foi enviado um item de ensaio contendo, cada um, cerca de  $25\text{g} \pm 2\text{g}$  de leite em pó.

Os sachês foram armazenados em *freezer* ( $< -15\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) até o momento em que foram enviados aos laboratórios participantes. O envio aos laboratórios foi realizado por sedex, em envelopes devidamente lacrados e adequados ao transporte.

O envio aos laboratórios estrangeiros foi realizado pela Rede Interamericana de Laboratórios de Análise de Alimentos – RILAA e ocorreu de forma a garantir a integridade do item de ensaio. Os itens de ensaio foram distribuídos aos participantes em sachês rotulados com as seguintes informações: nome do programa, item a ser ensaiado, código da amostra e rodada.

### 3.6. Recebimento dos Itens de Ensaio

Ao receber os itens de ensaio, os laboratórios foram instruídos a inspecioná-los quanto a integridade da embalagem e das amostras. As informações foram registradas no “**Formulário de Recebimento de Item de Ensaio**”.

## 4. Análise dos Resultados

### 4.1. Resultados das Medições dos Laboratórios

Os laboratórios receberam um item de ensaio contendo amostra e foram orientados a proceder como em análise de amostra de rotina. Além dos resultados analíticos, expressos em  $\mu\text{g kg}^{-1}$  ( $\text{ng g}^{-1}$ ), os laboratórios participantes informaram também a recuperação (%), o limite de detecção, o limite de quantificação e a incerteza referente ao método empregado. As informações foram descritas no Formulário de Registro de Resultados; informações sobre as técnicas e os equipamentos utilizados também foram solicitadas.

### 4.2. Estabelecimento do Valor de Referência

Como não foi atingido o mínimo de 6 resultados válidos<sup>2</sup>, reportados pelos laboratórios participantes, para a aflatoxina M1, o valor designado não foi calculado a partir das técnicas de estatística robusta e sim fornecido pelo INCQS, passando a ser denominado como **Valor de Referência**, sendo a metodologia analítica utilizada a descrita no item 7.3.1.

### 4.3. Análise Estatística

Neste tópico estão descritas as análises estatísticas utilizadas para a avaliação da homogeneidade e da estabilidade das amostras, para a obtenção do desvio padrão utilizado na avaliação dos laboratórios ([desvio padrão de Horwitz](#)), bem como para a avaliação do desempenho dos laboratórios participantes.

---

<sup>2</sup> Critério 5, item 12 do Protocolo da Rodada.

#### 4.3.1. Avaliação da Estabilidade dos Itens de Ensaio

A análise de resíduos foi empregada para avaliar a estabilidade dos itens de ensaio em relação ao valor da concentração da aflatoxina M1. Assim, foram estimadas as variâncias dos valores utilizados na regressão linear, observando-se se estes apresentavam alguma tendência. Isto foi realizado utilizando a ferramenta estatística de análise de variância (ANOVA), seguindo o recomendado na [ABNT ISO GUIA 35](#). A aflatoxina M1 foi considerada estável quando a inclinação da reta não foi significativa.

#### 4.3.2. Avaliação da Homogeneidade dos Itens de Ensaio

A norma [ISO 13528](#) (item 6.1, anexo B) foi seguida na avaliação da homogeneidade dos itens de ensaio. A norma em questão permite incluir o desvio padrão devido à heterogeneidade e instabilidade das amostras, no desvio padrão de avaliação de proficiência (*Horwitz*) caso estas não se mostrem suficientemente homogêneas ou estáveis. Um resumo do procedimento estabelecido na norma [ISO 13528](#) para avaliação da homogeneidade dos itens de ensaio é apresentado no [Anexo A](#) deste relatório.

#### 4.3.3. Desvio Padrão para Avaliação de Proficiência

Nesta rodada de EP o desvio padrão para avaliação de proficiência dos laboratórios participantes foi calculado como recomendado no item 8.4.3 da norma [ISO 13528](#), isto é, como proposto originalmente por *Horwitz*, onde a precisão interlaboratorial é avaliada em termos de um desvio padrão de reprodutibilidade (Equação 1), onde:  $\sigma_H$  é o desvio padrão de *Horwitz* e  $c$  é o nível de concentração expresso em fração mássica.

$$\sigma_H = 0,02 \times c^{0,8495} \quad (\text{Equação 1})$$

Adotando-se as modificações propostas por *Thompson* onde são levados em consideração os níveis de concentração do analito expressos em fração mássica, conforme as Equações 2, 3 e 4, onde  $\sigma_H$  é o desvio padrão de *Horwitz* e  $c$  é o nível de concentração expresso em fração mássica.

$$\sigma_H = 0,02 \times c, \text{ se } c < 1,2 \times 10^{-7} \quad (\text{Equações 2})$$

$$\sigma_H = 0,02 \times c^{0,8495}, \text{ se } 1,2 \times 10^{-7} \leq c \leq 0,138 \quad (\text{Equações 3})$$

$$\sigma_H = 0,02 \times c^{0,5}, \text{ se } c > 0,138 \quad (\text{Equações 4})$$

#### 4.3.4. Índices z

Para a qualificação dos resultados dos laboratórios, o índice z (z-score, medida da distância relativa do resultado da medição do laboratório em relação ao valor designado do ensaio de proficiência) foi calculado de acordo com a Equação 5, onde  $x_i$  representa o valor do laboratório participante,  $x^*$  representa o valor de referência e  $\sigma_H$  o desvio padrão de *Horwitz*.

$$z = \frac{x_i - x^*}{\sigma_H} \quad (\text{Equação 5})$$

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

$ z \text{ ou } z'  \leq 2$	Resultado satisfatório
$2 <  z \text{ ou } z'  < 3$	Resultado questionável
$ z \text{ ou } z'  \geq 3$	Resultado insatisfatório

## 5. Resultados da Avaliação da Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio

### 5.1. Avaliação da Homogeneidade

Para o teste de homogeneidade, foram separados, aleatoriamente, 16 itens de ensaio. Os resultados do teste de homogeneidade realizado em duplicata com os itens de ensaio do lote estão demonstrados na [Tabela 1](#).

Tabela 1: Sumário dos resultados da homogeneidade

Item	Sub amostra 1		Sub amostra 2		
1	1,09		1,17		
2	1,15		1,03		
3	1,14		1,22		
4	1,16		1,22		
5	1,13		1,08		
6	1,10		1,20		
7	1,33		1,25		
8	1,29		1,22		
9	1,21		1,16		
10	1,23		1,24		
11	1,26		1,16		
12	1,23		1,14		
13	1,20		1,19		
14	1,13		1,22		
15	1,28		1,18		
16	1,20		1,26		
Parâmetros da Avaliação ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )					
Média =	1,190	$u_h =$	0,036	$s_s =$	0,036
$s_w =$	0,055	$s_x =$	0,053	$0,3 \times \text{DPA}^1 =$	
				0,079	

1 – DPA = 0,262  $\mu\text{g kg}^{-1}$ , previsto por *Horwitz* para o valor da concentração média.

Como  $s_s$  menor que  $0,3 \times \text{DPA}$ , os itens de ensaio podem ser considerados homogêneos.

### 5.2. Avaliação da Estabilidade

#### 5.2.1. Estabilidade de Transporte

A influência da temperatura durante o transporte dos itens de ensaio já foi estudada em um Ensaio de Proficiência<sup>3</sup> anterior. Neste, os itens de ensaio foram avaliados por 15 dias, as temperaturas de 25°C e 50°C, com os mesmos sendo considerados estáveis.

#### 5.2.2. Estabilidade de Armazenamento

A estabilidade dos itens de ensaio armazenados na geladeira a 4°C foi avaliada no decorrer do EP pelo método isócrono, para verificar possíveis flutuações temporais na concentração das aflatoxinas. Os resultados estão demonstrados na [Tabela 2](#).

<sup>3</sup> EP MIC 05/13



Tabela 2: Sumário dos resultados da estabilidade

Data	Sub amostra 1	Sub amostra 2
05/10/2022	1,13	1,11
31/10/2022	1,12	1,15
25/11/2022	1,08	1,07
21/12/2022	1,13	1,19
16/01/2023	1,16	1,06
Parâmetros da Avaliação ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )		
Coef. linear [M1]=1,119	Lim. Sup. =0,00144	Lim. Inf. =-0,00140
Coef. angular =0,00002	Erro coef. Ang. =0,00045	$U_{est.}$ =0,046

Os resultados obtidos no tratamento estatístico dos dados gerados nos estudos de estabilidade de armazenamento evidenciaram que o valor do intervalo de confiança para o coeficiente angular abrange o valor zero (0), para um nível de confiança de 95%. Conclui-se, portanto, que este é um valor possível ao coeficiente angular da curva que descreve a estabilidade e que os itens de ensaio se mostraram suficientemente estáveis.

## 6. Atribuição do Valor de Referência

O valor de referência relativo a aflatoxina M1 deste ensaio de proficiência foi calculado segundo procedimento descrito no item 4.2 deste relatório; o desvio padrão para avaliação de proficiência foi obtido pelas equações modificadas baseadas no modelo de *Horwitz*, conforme o item 4.3.3, relacionada a concentração do VR. O valor de referência, a incerteza combinada ( $u_c$ ), o fator de abrangência ( $k$ ) e a incerteza expandida ( $U$ ) e seu respectivo desvio padrão estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3: Valores de referência, incertezas e desvios padrão, em  $\mu\text{g kg}^{-1}$ .

Aflatoxina	Valor de Referência	$u_c$ (VR)	$k$	$U$ (VR)	Desvio Padrão ( $\sigma_H$ )
M1	1,1917	0,0079	2,65	0,021	0,26

Como a incerteza combinada do valor de referência foi menor que  $0,3\sigma_H$ , segundo a norma ISO 13528, esta pode ser negligenciada.

## 7. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes

### 7.1. Laboratórios Participantes

Oito laboratórios se inscreveram na 12ª Rodada do Programa de Ensaio de Proficiência para a Determinação de Resíduos de Micotoxinas em Alimentos – Aflatoxina M1 em Leite em Pó e sete (87,5%) dos laboratórios inscritos enviaram os resultados no prazo proposto.

Dos laboratórios participantes, dois (28,6 %) são acreditados na norma ISO/IEC 17025 na análise de resíduos de micotoxinas. Quatro laboratórios (57,1 %) não tinham a metodologia validada. Dentre os laboratórios nacionais que informaram o recebimento dos itens de ensaio, todos receberam dentro do prazo de 96h estabelecido no protocolo.

## 7.2. Resultados dos Laboratórios Participantes

Os dados reportados pelos laboratórios participantes do ensaio de proficiência foram tratados de acordo com os procedimentos descritos na [ABNT ISO/IEC 17043](#). As Tabelas 4 e 5 apresentam os resultados dos laboratórios para a análise da micotoxina e um sumário dos dados reportados pelos laboratórios.

Tabela 4: Resultado dos laboratórios participantes

Laboratório	Método		Separação e Quantificação	Itens de Ensaio	
	Acreditado	Validado		#	Aflatoxina M1 ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )
MIC 12/014	Não	Não	HPLC-MS	003	1,17
MIC 12/040	Não	Sim	HPLC-F	027	1,079
MIC 12/047	Não	Não	HPLC-MS	020	2,54
MIC 12/061	Sim	Sim	HPLC-MS	016	0,76
MIC 12/065	Não	Não	HPLC-MS	022	0,55
MIC 12/087	Sim	Sim	HPLC-F	008	1,13
MIC 12/092	Não	Não	ELISA	001	1,556

HPLC = *High Performance Liquid Chromatography*; F = *Fluorescence*; MS = *Mass Spectrometry* e ELISA = *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

Tabela 5: Parâmetros de desempenho dos métodos analíticos utilizados pelos laboratórios participantes, em ( $\mu\text{g}\text{ kg}^{-1}$ ).

Laboratório	Aflatoxina M1		Parâmetros de Desempenho			
	#	Resultado	Limite de Detecção	Limite de Quantificação	Recuperação (%)	Incerteza (U)
MIC 12/014	003	1,17	0,30	0,50	88,98	11,72
MIC 12/040	027	1,079	0,14	0,29	92,26	0,017
MIC 12/047	020	2,54	-	-	116	-
MIC 12/061	016	0,76	0,15	0,25	85	0,21
MIC 12/065	022	0,55	0,05	0,2	-	-
MIC 12/087	008	1,13	0,1	0,5	89,98	0,16
MIC 12/092	001	1,556	0,002	0,005	-	0,269

## 7.3. Considerações Sobre os Métodos de Análise

### 7.3.1. Método de Análise do Laboratório de Resíduos de Micotoxinas do INCQS

Neste EP, o laboratório de resíduos de micotoxinas do INCQS utilizou a técnica de extração em fase sólida (SPE C18) no tratamento das amostras.

A técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detector de Fluorescência (CLAE/F) foi empregada nas análises. Para quantificação da aflatoxina M1 foi utilizada a padronização externa com curvas de calibração.

### 7.3.2. Parâmetros da Quantificação

A [Tabela 6](#) apresenta alguns parâmetros reportados pelos laboratórios para a quantificação da aflatoxina M1.

Tabela 6: Métodos de extração utilizados

Código do laboratório	Coluna Cromatográfica	Temp. da Coluna (°C)	Fase móvel	Volume de Injeção (µl)	Fluxo (ml min <sup>-1</sup> )
MIC 12/014	Apolar	40	Água/Metanol/Ácido Fórmico/Formiato de Amônio	20	0,6
MIC 12/040	Apolar	30	Água/Acetonitrila (2:1)	50	1
MIC 12/047	Polar	30	Acetonitrila/Ácido Fórmico/Água/Ácido Fórmico	25	Gradiente
MIC 12/061	Polar	40	Água/Formiato de Amônio/Ácido Fórmico/Metanol	10	0,4
MIC 12/065	Apolar	35	Água/Acetonitrila (5%)	20	0,3
MIC 12/087	Apolar	40	Água/Isopropanol/Acetonitrila (80:12:8)	50	1,0
MIC 12/092	ELISA				

### 7.3.3. Método de *Clean-up*

Excetuando-se o laboratório **MIC 12/092**, que não fez *clean-up*, os outros participantes se dividiram entre *Quechers* (**MIC 12/014**, **MIC 12/047** e **MIC 12/061**), Coluna de Imunoafinidade (**MIC 12/040** e **MIC 12/087**) e outro não informado (**MIC 12/065**).

### 7.4. Cálculo do Índice z

A avaliação de desempenho dos laboratórios participantes, expressa através do índice z ([Equação 5](#)), está apresentada na [Tabela 7](#).

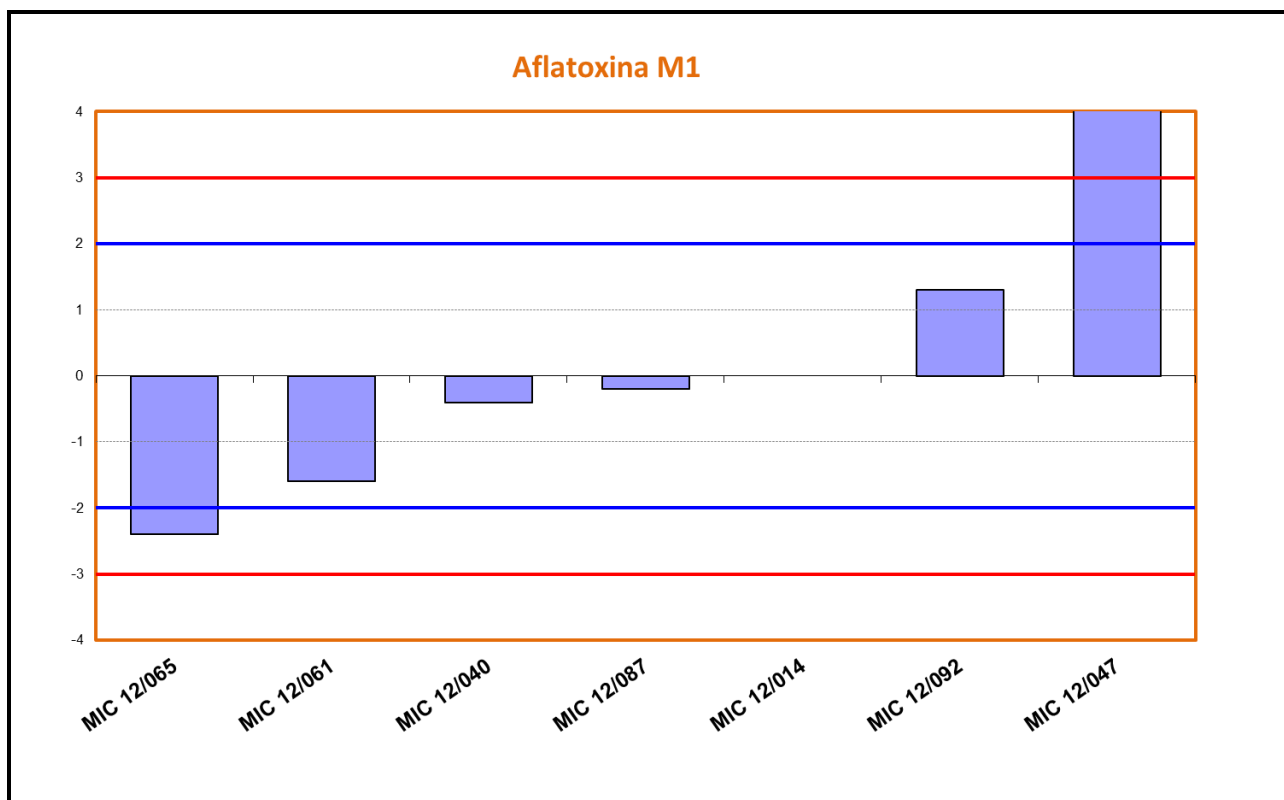
A Figura 1 apresenta os resultados de índice z obtidos pelos laboratórios participantes para a aflatoxina M1.

Tabela 7: Valores do índice z obtidos pelos laboratórios participantes.

Código do laboratório	z-score
MIC 12/014	0,0
MIC 12/040	-0,4
MIC 12/047	5,1
MIC 12/061	-1,6
MIC 12/065	-2,4
MIC 12/087	-0,2
MIC 12/092	1,3

**Azul** = Questionável; **Vermelho** = Insatisfatório.

Figura 1: Gráfico de índice z



## 8. Conclusões e Comentários

A análise dos dados obtidos neste EP sugere:

- 71,4 % dos resultados reportados pelos laboratórios participantes (5 resultados) atingiu o valor de índice  $z \leq |2|$ , dois laboratórios (28,6 %) reportaram resultados insatisfatórios ou questionáveis para a aflatoxina M1;
- O baixo número de laboratórios participantes e com a validação adequada prejudicou a obtenção do valor designado por consenso; e
- Para os laboratórios que obtiveram resultados insatisfatórios ou questionáveis, ações corretivas devem ser adotadas para o aprimoramento das suas medições. Uma avaliação detalhada, desde o recebimento do material e seu armazenamento, até o preenchimento do Formulário para Registro dos Resultados, e a avaliação de todos os passos da metodologia de análise, será importante para a identificação dos pontos críticos.

O estabelecimento de ações corretivas e a contínua participação em ensaios de proficiência são ferramentas de grande contribuição para o aprimoramento das medições realizadas pelos laboratórios.

## 9. Confidencialidade

Os resultados deste EP são confidenciais, isto é, cada laboratório é identificado por código individual conhecido apenas pela Coordenação. Os resultados obtidos poderão ser utilizados em publicações do provedor mantendo evidentemente a confidencialidade.

## 10. Modificações em Relação a Versão Anterior

Esta é a primeira versão do relatório, não existindo versões anteriores.

## 11. Referências Bibliográficas

[ABNT ISO/IEC 17025](#). Requisitos Gerais para a Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração, **2017**.

[ABNT ISO/IEC 17043](#). Avaliação de Conformidade — Requisitos Gerais Para Ensaios de Proficiência, **2011**.

[ABNT ISO GUIA 35](#) – Materiais de Referência – Princípios Gerais e Estatísticos para Certificação. **2020**.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Instrução Normativa - IN Nº 160, de 1º de julho de 2022. Publicada no DOU nº 126, de 6 de julho de 2022.

Horwitz, W; Kamps, L.R; Boyer, K.W; "Quality Assurance in the Analysis of Foods for Trace Constituents"; *J. Assoc. off Anal. Chem.*; 63(6); 1344-1354; **1980**.

International Organization for Standardization – [ISO 13528](#) - Statistical Methods for use in Proficiency Testing by Interlaboratory Comparisons. **2022**.

Thompson, M. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing. (DOI: [10.1039/b000282h](#)) *Analyst*, 125, 385-386, **2000**.

## 12. Laboratórios Participantes

A lista dos laboratórios que enviaram os resultados à coordenação do Programa está apresentada na [Tabela 8](#).

Tabela 8: Laboratórios participantes da 12ª Rodada do Ensaio de Proficiência para Determinação de Resíduos de Micotoxinas em Alimentos – Aflatoxina M1 em Leite em Pó.

Instituição
Centro de Qualidade Analítica LTDA
Food Intelligence Laboratório de Análise de Alimentos LTDA
Laboratório Central de Saúde Pública – Lacen PR
Laboratório Central de Saúde Pública/Laboratório de Micotoxinas – Funed
Laboratorio de Bromatología Intendencia de Montevideo – Uruguay
Servicio Nacional de Salud Animal – Laboratorio Nacional de Servicios Veterinarios – Costa Rica
TUV SUD SFDK laboratório de Análise de Produtos LTDA

- ✓ Total de participantes: 7 laboratórios
- ✓ **O código de cada participante não está associado à ordem da lista de participantes.**

## Anexo A – Homogeneidade Segundo a Norma ISO 13528

Primeiramente, seleciona-se aleatoriamente um número  $g$  (onde  $g \geq 10$ )<sup>4</sup> de amostras do lote de itens de ensaio preparado. Retiram-se duas porções de teste de cada item de ensaio e realizam-se as análises de todas as porções ( $2g$ ) de forma aleatória, completando-se todas as séries de medição sob condições de repetitividade.

Calcula-se a média,  $x_t$ , entre as duas porções de teste ( $x_{t,1}$  e  $x_{t,2}$ ), para cada amostra, e em seguida, calcula-se a média geral,  $\bar{X}$ , definida como a média das médias de cada amostra. A partir destes valores, calcula-se o desvio padrão das médias das amostras,  $s_x$ , conforme a Eq. 1 e as diferenças entre as porções de teste,  $w_t$ , também para cada amostra, a partir da Eq. 2.

$$s_x = \sqrt{\sum (x_{t..} - \bar{x})^2 / (g-1)} \quad (\text{Eq. 1})$$

$$w_t = |x_{t,1} - x_{t,2}| \quad (\text{Eq. 2})$$

A partir dos valores definidos acima, calcula-se o desvio padrão dentro das amostras  $s_w$  e o desvio padrão entre as amostras  $s_s$ , conforme as Eq. 3 e 4, a seguir:

$$s_w = \sqrt{\sum w_t^2 / (2g)} \quad (\text{Eq. 3})$$

$$s_s = \sqrt{s_x^2 - (s_w^2 / 2)} \quad (\text{Eq. 4})$$

As amostras podem ser consideradas adequadamente homogêneas para este ensaio de proficiência, se for atendido o critério definido na Eq. 5:

$$S_S \leq 0,3\sigma_H \quad (\text{Eq. 5})$$

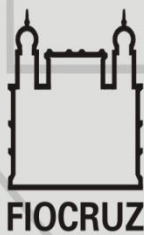
onde,  $\sigma_H$  é o desvio padrão alvo, obtido através da equação de *Horwitz* (4.3.3), da concentração média para cada agrotóxico no estudo de homogeneidade.

Caso este critério não seja alcançado, a norma [ISO 13528](#) permite ainda a inclusão da variação existente entre as amostras, no desvio padrão para avaliação de proficiência, conforme a Eq. 6:

$$\sigma_M = \sqrt{\sigma_H^2 + S_S^2} \quad (\text{Eq. 6})$$

Esta inclusão permite que possíveis variações na homogeneidade entre os itens de ensaio com relação aos valores de concentração, não influenciem diretamente na avaliação de desempenho do laboratório participante do EP. Contudo, inicialmente deve ser verificada a possibilidade de melhorias no processo de preparo das amostras.

<sup>4</sup> Pode ser menor caso existam informações prévias.



**FIOCRUZ** - Fundação Oswaldo Cruz  
**INCQS** - Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde

---

Av. Brasil 4365 • Manguinhos • CEP 21040 900  
Rio de Janeiro • RJ • Brasil  
[www.incqs.fiocruz.br](http://www.incqs.fiocruz.br)