

PIPA - ENSAIOS DE PROFICIÊNCIA

Nº DA RODADA: **152/21**TIPO DE RODADA: **BACTERIOLOGIA**

1 ORGANIZAÇÃO E COORDENAÇÃO

PIPA – Ensaios de Proficiência

Endereço: Rua Hortêncio Mendonça Ribeiro, 1444 - Pq. Progresso - Franca/SP - CEP 14403-099

Telefone: (16) 3432-0590

E-mail: interlaboratorial@proaguaambiental.com.br

Coordenador Geral: Orlando A. Cintra Filho

2 MATRIZES

- Água tratada (rede de abastecimento);
- Água bruta (subterrânea);
- Água bruta (manancial de superfície).

3 ESCOPO DOS PARÂMETROS

- Coliformes Totais;
- *Escherichia coli*;
- Bactérias Heterotróficas.

4 CRONOGRAMA DE ATIVIDADES

O Cronograma a seguir poderá sofrer alterações. Nesse caso, será informado via e-mail a todos os inscritos, com antecedência à data prevista para o envio das amostras.

- | | | |
|-----|---|--|
| 4.1 | Inscrições (veja antes o item 5): | até 20/01/21 (quarta-feira) |
| 4.2 | Pagamento das inscrições: | até 21/01/21 (quinta-feira) |
| 4.3 | Envio das amostras: | 25/01/21 (segunda-feira) |
| 4.4 | Abertura das amostras e início dos ensaios: | 27/01/21 (quarta-feira), às 15:00 h (Brasília) |
| 4.5 | Prazo para realização dos ensaios | veja item 9.4 |
| 4.6 | Envio dos resultados (via-e-mail): | até 01/02/21 (segunda-feira) |
| 4.7 | Envio dos relatórios com certificados: | até 15/03/21 (segunda-feira) |

5 INSCRIÇÕES E INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

IMPORTANTE: Antes de fazer a inscrição de participação no PIPA, o Laboratório deve consultar a melhor alternativa de transporte (veja sugestões na tabela a seguir), considerando o prazo de entrega entre Franca/SP e o Município onde se localiza o Laboratório. Na falta de alternativa

para entrega no prazo (consulte item 9.4), sugerimos **NÃO FAZER A INSCRIÇÃO NO PIPA**.

Transportadoras sugeridas	Contato
Correios (Sedex)	Agência local
Transportadora Nova Express	Agência de Ribeirão Preto – (16) 3627-4827 ou (16) 98231-3298
Azul Cargo Express	Agência de Franca – (16) 3721-4300
NOTA: No ato da inscrição, no campo “observações”, deve ser informado a transportadora desejada. Caso não conste essa informação, o provedor irá entender que as amostras deverão ser enviadas pelo Correios - SEDEX.	

- 5.1 As inscrições deverão ser realizadas exclusivamente no site: www.proaguaambiental.com.br ou direto no link: <https://www.proaguaambiental.com.br/programa/index#5>
- 5.2 Preencher a inscrição criteriosamente, evitando erros nos endereços do laboratório e nos endereços de e-mail, pois os dados informados serão utilizados para entrega das amostras, contato e envio dos documentos pertinentes à rodada.
- IMPORTANTE:** No formulário de inscrição, no campo “Nome Fantasia a ser impresso no certificado”, **descrever criteriosamente, de forma simplificada, como deverá ser expresso o nome do laboratório no certificado**, formatado de forma a considerar letras maiúsculas, minúsculas e acentuações. Alterações de nome do laboratório, depois de emitido o certificado, terão custo adicional.
- 5.3 Após a inscrição e a aprovação desta pelo PIPA, será encaminhado por e-mail o valor final e as informações para o pagamento, e o Laboratório deve confirmar ou rejeitar a participação na rodada.
- 5.4 Essa rodada foi elaborada para atender no mínimo 15 e no máximo 100 laboratórios inscritos. Caso a quantidade de participantes inscritos seja inferior ao mínimo, a rodada será cancelada, sem prejuízo financeiro aos inscritos.
- 5.5 O PIPA é aberto a todos os laboratórios que manifestarem interesse em participar do programa.
- 5.6 O PIPA é Acreditado pela Coordenação Geral de Acreditação do INMETRO com os critérios da norma ABNT NBR ISO/IEC 17043 - Avaliação da conformidade - Requisitos gerais para ensaios de proficiência – PEP 0020.

6 INFORMAÇÕES SOBRE AS AMOSTRAS

- 6.1 A preparação das amostras é executada nas dependências PIPA, por pessoal capacitado e treinado.
- 6.2 Os frascos com as amostras serão identificados com duas etiquetas, uma contendo a identificação da Rodada do Programa, o lote, o número da amostra e o(s) parâmetro(s) a ser analisado(s), e a outra contendo a identificação do momento em que a amostra foi coletada durante o envase.
- 6.3 As amostras serão entregues em duplicatas, considerando as características e lotes a seguir:

Lote A - Frascos esterilizados descartáveis com 100 mL de água subterrânea, para ensaios de presença ou ausência de Coliformes Totais e *E.coli*.

Lote B - Frascos esterilizados descartáveis com 100 mL de água de manancial de superfície (bruta), para ensaios de contagem de Coliformes Totais e *E.coli*.

Lote C - Frascos esterilizados descartáveis com volume entre 50 e 100 mL de água de rede de abastecimento público (tratada), para ensaio de contagem de Bactérias Heterotróficas.

OBSERVAÇÃO: Os volumes oferecidos serão suficientes para a realização de ensaios convencionais previstos no *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 23ª ed., no entanto, para laboratórios que desejarem um volume maior de amostras, os mesmos poderão solicitar pelo campo de observação no momento da inscrição, prevendo um

acréscimo de 10% na taxa de inscrição (por lote com acréscimo de volume).

- 6.4 Os prazos para as execuções dos ensaios não poderão ultrapassar as datas estabelecidas no item **9.4**.

7 TRANSPORTE DAS AMOSTRAS

- 7.1 As amostras estarão disponíveis para retirada no endereço do provedor, em Franca/SP, no período da tarde a partir das 14:00 h do dia 25/01/2021
- 7.2 O transporte das amostras será de responsabilidade dos Laboratórios participantes, caso as mesmas não forem retiradas pelo próprio laboratório participantes, consulte as alternativas descritas no item 5.
- 7.3 O pagamento do transporte poderá ser realizado pelo provedor ou pelo próprio laboratório.
- 7.4 Como procedimento padrão, o provedor envia as amostras ao endereço informado no momento da inscrição do laboratório. O pagamento é feito pelo provedor, sendo cobrado, juntamente com a taxa da inscrição, o custo desse transporte + 10% de taxa administrativa.
- 7.5 Caso a opção seja o pagamento do transporte pelo próprio laboratório, deve ser informado no ato da inscrição (campo "observações").
- 7.6 Na véspera da entrega, recomendamos fazer contato a transportadora responsável pelo transporte das amostras com o objetivo de prevenir atraso por problema de comunicação. Se necessário, consulte o provedor para informação do código de rastreamento (falar com Mara (16) 99709-6515 ou (16) 3432-0590 - ramal 222).

8 PROVIDÊNCIAS EM CASO DE DANOS OU EXTRAVIOS OU ATRASOS DE ENTREGA DE AMOSTRAS

- 8.1 Como já informado em **7.2**, O TRANSPORTE DAS AMOSTRAS SERÁ DE RESPONSABILIDADE DO LABORATÓRIO PARTICIPANTE.
- 8.2 Para casos de extravios ou danos às amostras enviadas, **NÃO** será possível um novo envio de amostras, considerando as características de preservação e estabilidade das mesmas.
- 8.3 Atrasos de entrega pela transportadora, **NÃO** SERÃO DE RESPONSABILIDADE DO PROVEDOR. (veja item **5.1**)
- 8.4 Caso ocorra danos às amostras que inviabilize a execução dos ensaios, a participação do laboratório inscrito poderá ser cancelada e o valor da inscrição será restituído integralmente em prazo não superior a 30 dias.

9 ABERTURA DAS CAIXAS COM AMOSTRAS E PRAZO PARA REALIZAÇÃO DOS ENSAIOS

- 9.1 A previsão para entrega das amostras aos laboratórios participantes será até a data e horário previstos no item **4.4**. Portanto, orientar o pessoal da recepção sobre o recebimento das mesmas, de forma a evitar desencontros e comprometimento no prazo de entrega.
- 9.2 Se o recebimento das amostras ocorrer antes do prazo estabelecido no item **4.4** para a abertura das caixas, manter a caixa em local fresco, porém, **NÃO ARMAZENAR EM GELADEIRA** (condição de igualdade a todos os participantes). A partir do prazo de abertura, fica a critério do laboratório a forma de armazenamento das amostras, considerando que os analitos possuem diferentes prazos máximos para serem analisados (conforme mostra a tabela do item **9.4**).
- 9.3 No recebimento e na abertura da caixa com as amostras, se houver alguma irregularidade com a embalagem ou com os frascos, registrar no campo de observações da planilha de resultados. Se possível, enviar fotos digitais para a coordenação, imediatamente após a abertura da caixa. Infelizmente, não teremos como sanar o problema, mas poderemos tomar ações preventivas para as próximas rodadas.
- 9.4 Os ensaios **DEVERÃO** ser realizados entre a data e o horário estabelecido para abertura das caixas (veja item **4.4**) e os prazos máximos para realização dos ensaios (relacionados na tabela a seguir):

Analitos	Prazo máximo para realização dos ensaios após o horário estabelecido no <u>item 4.4</u>
Lote A - Ensaios de P/A de Coliformes Totais e <i>E.coli</i>	48 horas
Lote B - Contagem de Coliformes Totais e <i>E.coli</i>	3 horas
Lote C - Contagem de Bactérias Heterotróficas	3 horas

OBSERVAÇÃO: Resultados de ensaios realizados fora do prazo, serão excluídos do conjunto de dados a ser utilizado para o tratamento estatístico.

10 METODOLOGIAS ANALÍTICAS, UNIDADES DE MEDIDA E CONCENTRAÇÕES

10.1 Metodologias analíticas e unidades de medidas

10.1.1 As metodologias analíticas e as unidades de medidas a serem utilizadas seguem abaixo:

10.1.1.1 Para os ensaios nos lotes A e B, **será obrigatório** o uso da metodologia com uso de meio de cultura composto de substrato enzimático. Os resultados **deverão ser** expressos como Presença ou Ausência de Coliformes totais ou *E.coli* no lote A e NMP/100 mL no lote B.

10.1.1.2 Para os ensaios no lote C, **será obrigatório** o uso da metodologia *Pour Plate*, com tempo de incubação de 48 horas à temperatura de $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Os resultados **deverão ser** expressos em UFC/mL.

10.1.2 Será feito estudo de comparação entre as metodologias utilizadas, a fim de se observar se todos os resultados reportados podem ser tratados em único conjunto de dados, ou se devem ser separados de acordo com cada metodologia.

NOTA: Esse estudo só será possível de ser realizado se, e somente se, para cada metodologia houver, pelo menos, 2 resultados válidos.

10.2 Concentrações e unidades de medidas

10.2.1 A tabela a seguir informa as concentrações esperadas e as unidades de medidas para expressão dos resultados para os analitos contemplados na rodada:

Analito	Faixa de concentração esperada	Unidade de medida
Coliformes Totais no lote B	Entre 100 e 6000	NMP/100 mL
<i>E. coli</i> no lote B	Entre 10 e 2000	NMP/100 mL
Bactérias Heterotróficas no lote C	Entre 0 e 3000	UFC/mL

NOTA: Por se tratar de amostras originadas de matrizes naturais, com a presença de interferentes, nem sempre, e não necessariamente, os resultados encontrados pelos participantes acabam por ficar dentro das faixas de concentração esperadas acima.

11 SERVIÇOS SUBCONTRATADOS

O PIPA subcontratará as atividades de ensaios envolvidos referentes às avaliações de homogeneidade e estabilidade que serão realizados no Laboratório da PROÁGUA Ambiental, acreditado pela Coordenação Geral de Acreditação do Inmetro (CGCRE).

12 HOMOGENEIDADE E ESTABILIDADE DOS ITENS DE ENSAIO, ARMAZENAMENTO E DISTRIBUIÇÃO

- 12.1 A avaliação da homogeneidade será realizada segundo os critérios dos itens B.2 e B.3 do Anexo B da norma ISO 13528/2015 - *Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons*.
- 12.2 A avaliação da estabilidade será realizada segundo os critérios dos itens B.4, B.5 e B.6 do Anexo B da norma ISO 13528/2015 - *Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons*.
- 12.3 Os frascos com as amostras serão devidamente armazenados e refrigerados, inicialmente, em temperatura entre 0°C e 6°C, em caixas adiabáticas (isopor) contendo flocos de isopor anti impacto, etiquetadas com identificação do destinatário e seladas com fita adesiva para serem distribuídos.

13 FALSIFICAÇÃO DE RESULTADOS

Caso o programa receba alguma denúncia ou o mesmo suspeitar de mancomunação de resultados, o provedor investigará e tomará as devidas providências, podendo desconsiderar os resultados apresentados pelos laboratórios envolvidos.

14 INFORMAÇÕES TÉCNICAS

- 14.1 Informações referentes a prazos para execução dos ensaios, procedimentos para armazenamento das amostras e diluições, serão descritas no documento "Informações Técnicas da Rodada", que será enviado por e-mail, após as amostras terem sido despachadas.
- 14.2 Principais fontes de erros analíticos para essa rodada
- 14.2.1 Metodologia de ensaio inadequada;
- 14.2.2 Não tratamento de interferentes;
- 14.2.3 Ensaios realizados fora do prazo estabelecido pelo provedor;
- 14.2.4 Falta de habilidade dos técnicos envolvidos nos ensaios;
- 14.2.5 Falta de uso de materiais de referência;
- 14.2.6 Equipamentos não calibrados;
- 14.2.7 Falta de homogeneização adequada das amostras antes dos ensaios;
- 14.2.8 Desvios nas orientações estabelecidas pelo provedor.

15 CORRESPONDÊNCIAS ELETRÔNICAS

- 15.1 Durante a rodada, as correspondências da coordenação serão enviadas exclusivamente ao(s) e-mail(s) indicado(s) no ato da inscrição. Portanto, será de grande importância a informação correta dos endereços de e-mails, e que os mesmos tenham espaço suficiente na caixa de entrada para recebimento de correspondências eletrônicas com arquivos anexados.
- 15.2 É sugerido, no ato da inscrição, indicar três alternativas de e-mail para receber as correspondências.
- 15.3 Para laboratórios que possuem critérios de filtros para bloqueios de e-mails, sugerimos providências para liberar o e-mail interlaboratorial@proaquambiental.com.br, inclusive quando for acompanhado de anexos e downloads.

16 TRATAMENTO DOS RESULTADOS

Os resultados apresentados pelos laboratórios participantes serão tratados com critérios estatísticos da seguinte forma:

16.1 Definição do valor designado:

Para os parâmetros que apresentarem quantidade de resultados válidos maior ou igual a 12, o método estatístico a ser utilizado para a definição do valor designado será a análise robusta do Algoritmo A, de acordo com o item C.3 do Anexo C da norma ISO 13528:2015 – *Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons*.

Para os parâmetros que apresentarem quantidade de resultados válidos entre 5 e 11, será, primeiramente, excluído os valores dispersos (“outliers”), e posteriormente, calculado a média aritmética para a determinação do valor designado, desde que restem, pelo menos, 5 resultados válidos após a eliminação dos discrepantes.

Para os parâmetros que apresentarem quantidade de resultados inferior a 5, não haverá tratamento estatístico.

16.2 Definição do desvio padrão de proficiência:

Serão calculados 2 desvios padrão: desvio padrão advindo da análise robusta do Algoritmo A e desvio padrão após a eliminação de “outliers”. O menor valor entre os 2, será o valor a ser considerado para o desvio padrão de proficiência.

16.3 Definição da incerteza do valor designado:

O cálculo da incerteza do valor designado será realizado, segundo a sugestão da ISO 13528:2015, para a estatística robusta ou de acordo com a incerteza do tipo A, dependendo do tratamento estatístico a ser utilizado.

16.4 Elipses de confiança:

Para a avaliação de resultados quanto a possíveis problemas analíticos, serão disponibilizadas elipses de confiança, construídas com pares de resultados (analisados em duplicata).

16.5 Avaliação dos desempenhos dos resultados

Se a incerteza do valor designado for menor ou igual a 30% do valor do desvio padrão de proficiência, os desempenhos dos resultados serão avaliados em função do z-score:

$$Z_i = \frac{(x_i - X)}{\sigma}$$

Onde:

X = valor designado;

x_i = resultado médio do laboratório participante;

σ = desvio padrão de proficiência.

NOTA 1: Para o lote A, a interpretação do desempenho dos resultados terá como referência a maior frequência dos resultados de presença ou ausência dos participantes, bem como os resultados dos testes de homogeneidade e estabilidade realizados pelo provedor.

NOTA 2: Para o lote B, o tratamento estatístico será dado em log, ou seja, será extraído o log do valor encontrado em NMP/100 mL para a amostra 1, o log do valor encontrado em NMP/100 mL para a amostra 2, e aí calculada a média entre os 2 resultados para se obter o resultado médio (x_i).

NOTA 3: Para o lote C, o tratamento estatístico só será igual ao descrito na NOTA 2 se caso a média de todos os resultados for superior a 100 UFC/mL.

IMPORTANTE: Dependendo da densidade dos organismos e da forma predominante de apresentação de resultados (uso predominante de sinais ">"), a avaliação do desempenho poderá ser inviabilizada por meio do z-score. Neste caso, será adotado critério da equipe técnica do PIPA.

Se a incerteza do valor designado for maior do que 30% do valor do desvio padrão de proficiência, os desempenhos dos resultados serão avaliados em função do z'-score:

$$z_i' = \frac{(x_i - X)}{\sqrt{\sigma^2 + u^2(X)}}$$

Onde:

16.5.1.1 $u(X)$ = incerteza do valor designado.

Interpretação da avaliação com base no z-score:

Desempenho do resultado	Valor do z-score
EXCELENTE	$ z\text{-score} < 0,7$
BOM	$0,7 \leq z\text{-score} \leq 1,$
ACEITÁVEL	$1,4 < z\text{-score} \leq 2,0$
QUESTIONÁVEL	$2,0 < z\text{-score} \leq 3,0$
INSATISFATÓRIO	$ z\text{-score} > 3,0$

OBSERVAÇÃO: Todos os resultados com $|z\text{-score}| \leq 2,0$ serão considerados **SATISFATÓRIOS**.

17 CUSTOS DO INVESTIMENTO

R\$ 950,00 (novecentos e cinquenta reais), independente dos lotes em que o laboratório irá participar.

- 17.1 Nos custos acima, NÃO ESTÁ INCLUSO O VALOR DO TRANSPORTE DAS AMOSTRAS, que será calculado de acordo com o valor do transporte definido pelo participante entre Franca/SP e o local do laboratório (veja o item 7).
- 17.2 O valor do envio do relatório e certificado impressos ou eletrônicos está incluso na taxa de inscrição.

18 PAGAMENTOS

- 18.1 Após a aprovação da inscrição e a confirmação do Laboratório inscrito, será gerado um boleto com o valor da rodada mais o valor do transporte. O boleto será encaminhado ao e-mail informado na ficha de inscrição.
- 18.2 A data de vencimento do pagamento está descrita no item 4.2.
- 18.3 Para empresas públicas e clientes interessados em efetuar o pagamento via depósito bancário, deverão solicitar autorização (disponível no site) para aprovação. O envio do comprovante de transferência é indispensável, devendo ser encaminhado ao seguinte e-mail: financeiro@proaguaambiental.com.br.
- 18.4 O não pagamento da taxa de inscrição no prazo estabelecido, acarretará ao não envio das amostras.

19 CONFIDENCIALIDADE

- 19.1 O PIPA se compromete em assegurar a confidencialidade quanto às informações identificadas dos participantes.
- 19.2 Os resultados de cada participante serão apresentados no relatório da rodada com divulgação de código único para cada laboratório.
- 19.3 Cada laboratório participante deve comprometer-se a não divulgar seus resultados a outros laboratórios,

mantendo o sigilo até o recebimento do relatório final da rodada.

- 19.4 O PIPA não divulgará qualquer informação confidencial a qualquer organismo de terceira parte, ao menos que o laboratório participante renuncie formalmente sua confidencialidade.

20 DESISTÊNCIA DE PARTICIPAÇÃO

- 20.1 Os Laboratórios inscritos poderão manifestar a desistência da participação na rodada até um dia útil antes do envio das amostras. Nesse caso, se a inscrição foi paga, o valor será restituído integralmente por meio de depósito bancário.
- 20.2 Se a desistência acontecer após o envio das amostras, será acatada a desistência e devolução de 80% do valor da taxa referente à inscrição. O valor do transporte não será devolvido.

21 CANCELAMENTO DE PARÂMETRO DA RODADA

- 21.1 Poderá ocorrer o cancelamento de um ou mais parâmetros da rodada na seguinte situação:
- 21.1.1 Quantidade insuficiente de resultados válidos (<5), de forma a não permitir a interpretação e/ou tratamento estatístico pelos métodos mencionados no item 16.1.
- 21.2 Neste caso, os participantes serão informados.
- 21.3 Caso ocorra o cancelamento de algum parâmetro, NÃO HAVERÁ RESTITUIÇÃO PARCIAL OU INTEGRAL da taxa de inscrição, exceto se a quantidade de parâmetros cancelados ultrapassar a 50% dos parâmetros inscritos pelo Laboratório na rodada.

22 ENTREGA DOS RELATÓRIOS E CERTIFICADOS

- 22.1 Veja informações do item 5.4 sobre o nome do laboratório a ser impresso nos certificados.
- 22.2 A entrega dos relatórios e certificados poderá ser na forma digital ou impressa.
- 22.3 Para os interessados em receber o relatório e certificado impressos será fundamental que, no momento da inscrição, seja informado esse interesse no campo de observações.
- 22.4 Na falta de informação no campo de observações, a organização do programa entenderá que o relatório e certificado deverão ser enviados na forma digital.
- 22.5 Para envio do relatório nas duas formas (digital e impresso), será cobrado taxa adicional de R\$ 40,00 mais a tarifa de transporte.
- 22.6 2ª via de relatório ou certificado: serão fornecidos diante de solicitação e pagamento das respectivas taxas.
- ATENÇÃO:** Após emitido o relatório, não será permitido alterar seu conteúdo (por exemplo: omissão de resultados).

23 CONTATOS

Assuntos técnicos: Rafael Carbone Cintra (Gerente Técnico): (16) 3432-0590 ou (16) 99143-5017.
E-mail: rafaelcintra@proaguaambiental.com.br

Assuntos gerais: Larissa Novais (Gerente da Qualidade): (16) 3432-0590 ou (16) 99708-8717.
E-mail: larissa@proaguaambiental.com.br

Coordenação Geral: Orlando Cintra: (16) 3432-0590 ou (16) 99123-2230.
E-mail: orlandocintrafilho@gmail.com