

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA
ESCOLA SUPERIOR DE SAÚDE DE LISBOA

Avaliação da incerteza de medição no método de cianometemoglobina no doseamento de hemoglobina

Maria Helena Sousa Timóteo

Orientadores:

Doutor Paulo António Rodrigues Pereira – Instituto Português do Sangue e da
Transplantação

Doutora Ana Sofia Rodrigues Tavares – Escola Superior de Saúde de Lisboa

Mestrado em Tecnologias Clínico-Laboratoriais

Lisboa, 2025

INSTITUTO POLITÉCNICO DE LISBOA
ESCOLA SUPERIOR DE SAÚDE DE LISBOA

**Avaliação da incerteza de medição no método de
cianometemoglobina no doseamento de hemoglobina**

Maria Helena Sousa Timóteo

Orientadores:

Doutor Paulo António Rodrigues Pereira – Instituto Português do Sangue e da
Transplantação

Doutora Ana Sofia Rodrigues Tavares – Escola Superior de Saúde de Lisboa

Júri:

Presidente: Doutora Edna Soraia Ribeiro – Escola Superior de Saúde de Lisboa

Arguente: Doutor Fernando José D'Abreu Mendes – Escola Superior de Tecnologia
da Saúde de Coimbra

(esta versão incluiu as críticas e sugestões feitas pelo júri)

Mestrado em Tecnologias Clínico-Laboratoriais

Lisboa, 2025

Página intencionalmente deixada em branco

Agradecimentos

A realização desta tese de mestrado representa o culminar de uma etapa importante da minha vida académica e pessoal. Chegar até aqui não teria sido possível sem o apoio, incentivo e colaboração de muitas pessoas, às quais expresso a minha mais sincera gratidão.

Em primeiro lugar, agradeço aos meus orientadores, Professor Paulo Pereira e Professora Ana Tavares, pelo acompanhamento dedicado, pelas orientações científicas e pelo apoio constante ao longo de todo o processo. A vossa exigência, disponibilidade e confiança foram essenciais para a concretização deste trabalho.

Um agradecimento especial ao Professor Paulo Pereira, cuja dedicação, rigor foram uma inspiração constante. A sua orientação atenta, os seus conselhos marcaram profundamente estas caminhadas. Agradeço a oportunidade de aprender e crescer sob a sua orientação.

Aos professores e colegas do Mestrado em Tecnologias Clínico-Laboratoriais, agradeço pelas aulas enriquecedoras, pelas partilhas de conhecimento e pelas experiências vividas ao longo deste percurso académico.

À minha família, expresso a mais profunda gratidão, pelo apoio permanente e por acreditarem em mim. Em especial, aos meus pais, Augusto e Maria João Timoteo que são e sempre serão o meu alicerce.

Um agradecimento muito especial à minha madrinha, Rita Sousa e irmã, Ana Timoteo que com a sua paciência, presença constante e incentivo inabalável estiveram sempre ao meu lado. A força, e o apoio que encontrei em vocês foram essenciais neste percurso.

A todos, o meu mais sincero obrigado.

Página intencionalmente deixada em branco

A incerteza de medição é um parâmetro metrológico essencial para garantir a qualidade dos resultados laboratoriais e a segurança da decisão clínica. Este estudo teve como objetivo aplicar e avaliar a Abordagem da Incerteza segundo a ISO/TS 20914:2019, utilizando como modelo o método de doseamento da hemoglobina por cianometahemoglobina em amostras de sangue humano anticoagulado com EDTA-K₃.

Para a estimativa da incerteza de medição, foi adotada uma estratégia baseada em simulação paramétrica, assumindo uma distribuição normal com parâmetros definidos a partir de literatura de referência e da base de dados da *European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. Foram construídos três cenários progressivos de avaliação da incerteza: (1) com base apenas na repetibilidade e reprodutibilidade, (2) com inclusão da incerteza da calibração, e (3) com adição da incerteza associada ao *bias*, quando este for estatisticamente significativo.

A comparação da incerteza expandida com os limites máximos aceitáveis derivados da variação biológica permitiu verificar a conformidade do método com os níveis mínimo (4,1%) e desejável (2,7%) em todos os cenários. Nenhum modelo atingiu o nível ótimo (1,4%), o que é expectável em métodos aplicados em contexto clínico geral. Estes resultados validam a aplicabilidade da norma ISO/TS 20914 na prática laboratorial e confirmam que a estruturação em camadas da incerteza contribui para uma caracterização metrológica mais robusta.

O estudo fornece ainda recomendações para a implementação prática da incerteza de medição em laboratório clínico, destacando a necessidade de formação específica, integração de dados reais e desenvolvimento de ferramentas operacionais baseadas em critérios normativos e clínicos. A abordagem seguida mostra-se replicável e adaptável a outras mensurandas e métodos quantitativos, contribuindo para o reforço da rastreabilidade metrológica e da confiança nos resultados laboratoriais.

Palavras-chave

avaliação; hemoglobina; incerteza de medição; medição, quantitativo

Página intencionalmente deixada em branco

Measurement uncertainty is a key metrological parameter for ensuring the quality of laboratory results and the safety of clinical decision-making. This study aimed to apply and evaluate the Uncertainty Approach in accordance with ISO/TS 20914:2019, using the hemoglobin assay by the cyanmethemoglobin method in human blood samples anticoagulated with EDTA-K₃ as a model.

To estimate measurement uncertainty, a parametric simulation strategy was adopted, assuming a normal distribution with parameters defined based on reference literature and data from the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine biological variation database. Three progressive scenarios were constructed for uncertainty evaluation: (1) based solely on repeatability and reproducibility, (2) including calibration uncertainty, and (3) incorporating bias uncertainty, when statistically significant.

The comparison of expanded uncertainty with maximum allowable uncertainties derived from biological variation confirmed the method's compliance with the minimum (4.1%) and desirable (2.7%) levels in all scenarios. None of the models reached the optimal level (1.4%), which is expected for methods applied in routine clinical settings. These results validate the applicability of ISO/TS 20914 in laboratory practice and confirm that a layered structure of uncertainty improves metrological robustness.

The study also provides recommendations for the practical implementation of measurement uncertainty in clinical laboratories, emphasizing the need for targeted training, integration of real-world performance data, and the development of operational tools based on normative and clinical criteria. The adopted approach is replicable and adaptable to other measurands and quantitative methods, contributing to enhanced metrological traceability and confidence in laboratory results.

Key-words

evaluation; hemoglobin; measurement; quantitative; uncertainty

Página intencionalmente deixada em branco

Índice Geral

Conteúdo

Índice de Tabelas	i
Índice de Figuras.....	iii
Índice de Equações	v
Lista de Abreviaturas	vii
1. Introdução.....	1
1.1 O laboratório clínico no contexto dos cuidados de saúde	1
1.2 Falhas laboratoriais e reações adversas em utentes	2
1.3 Regulação e gestão da qualidade	2
1.3.1 Legislação e regulação.....	2
1.3.2 Gestão da qualidade laboratorial e abordagens ISO.....	3
1.3.3 Requisitos do Regulamento (UE) 2017/746 e para métodos <i>in vitro</i> desenvolvidos em laboratórios clínicos	6
1.4 Classificação dos métodos laboratoriais.....	7
1.5 Avaliação do desempenho de métodos laboratoriais.....	8
1.6 Avaliação da incerteza de medição: Princípios.....	11
1.7 Requisitos da NP EN ISO 15189:2024 para avaliação da incerteza de medição em métodos quantitativos e qualitativos com classificação em escalas ordinais	12
1.7.1 Limitações da abordagem do erro	14
1.7.2 Benefícios da abordagem da incerteza.....	14
1.7.3 Limitações do erro total analítico na avaliação do desempenho de métodos no laboratório clínico	15
1.8 Contexto da dissertação	16

1.9	Questão de investigação.....	16
1.10	Objetivos	17
2.	Revisão da literatura.....	19
3.	Fundamentação Teórica e Normativa da Incerteza de Medição no Método de Cianometahemoglobina	21
3.1	Princípios básicos da incerteza de medição	21
3.1.1	Presença inerente de margem de erro em todo processo de medição.....	21
3.1.2	Distinção entre incerteza e erro: A incerteza como informação.....	21
3.1.3	A impossibilidade de eliminar todas as fontes de incerteza.....	21
3.1.4	Necessidade de quantificação e avaliação da incerteza	21
3.2	Abordagem da incerteza	23
3.2.1	Princípios fundamentais do GUM	23
3.2.2	Identificação das fontes de incerteza	23
3.2.3	Quantificação das fontes de incerteza	23
3.2.4	Modelo matemático da medição	24
3.2.5	Propagação de incerteza (propagação linear da incerteza)	24
3.2.6	Regras comuns de propagação.....	24
3.2.7	Fórmulas gerais para cálculo da incerteza combinada e expandida.....	24
3.3	Distribuições de dados na estimativa da incerteza de medição	25
3.3.1	Distribuição normal (Gaussiana).....	27
3.3.2	Distribuição triangular	28
3.3.3	Distribuição retangular	29
3.3.4	Comparação entre as distribuições.....	30
3.4	Determinação do fator de expansão	31

3.4.1 Graus de liberdade efetivos: fórmula de Welch-Satterthwaite	31
3.4.2 Valores do fator de expansão	31
3.4.3 Implementação em Excel®: Cálculo do fator de expansão	33
3.5 Adaptação à química analítica e introdução dos modelos empíricos (<i>top-down</i>) pela EURACHEM/CITAC e complementaridade com Eurolab e NORDTEST	34
3.5.1 Relatório técnico No. 1/2007 da Eurolab	36
3.5.2 Guia TR 537 da NORDTEST	38
3.6 Aplicação clínico-laboratorial da incerteza de medição	39
3.6.1 Guia EP 29 do Clinical and Laboratory Standards Institute	42
3.7 International Organization for Standardization/Technical Standard 20914	43
3.7.1 Introdução e Contexto	43
3.7.2 Conceitos fundamentais	44
3.7.3 Aplicabilidade e limitações	44
3.7.4 Modelos matemáticos e estimativa da incerteza	45
3.8 Fatores de interferência na estimativa da incerteza	49
3.8.1 Interferentes nas medições laboratoriais: Uma visão geral	49
3.8.2 Interferentes pré-analíticos	50
3.8.4 Interferentes na determinação laboratorial da hemoglobina (g/dL)	51
3.8.5 Mitigação dos interferentes na medição da hemoglobina	52
3.9 Avaliação da incerteza de medição com base em dados de variação biológica e a sua integração com a ISO/TS 20914	52
3.10 Fluxograma recomendado pela ISO/TS 20914	55
3.11 Impacto clínico e expressão dos resultados	57
4. Metodologia	61

4.1 População	61
4.2 Métodos de amostragem	61
4.2.1 Simulação aleatória paramétrica.....	61
4.2.2 Vantagens e limitações da simulação em Excel® com distribuição normal.....	62
4.3 Variáveis	63
4.4 Critérios de elegibilidade	64
4.4.1 Critérios de inclusão	64
4.4.2 Critérios de exclusão	65
4.5 Estratificação	65
4.6 Considerações éticas e legais.....	67
5. Resultados	68
6. Discussão	70
6.1 Interpretação dos resultados.....	70
6.2 Avaliação da incerteza	71
6.3 Achados do Estudo.....	71
6.4 Limitações do estudo	72
7. Conclusão.....	74
7.1 Considerações finais.....	74
7.2 Sugestões para Estudos Futuros	74
8. Referências bibliográficas	76
9 Apêndices	82
9.1 Cronograma do estudo	82
9.2 Dados simulados de hemoglobina em mulheres	83

10.	Anexos	86
	Anexo I- Parecer do Conselho de Ética da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa	86
	Anexo II- Parecer do Conselho de Científico da Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa	87

Página intencionalmente deixada em branco

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Variáveis na revisão bibliográfica.....	20
Tabela 2 - Valores de k estimados a partir da função T.INV.T2	30
Tabela 3 - Estimativa dos componentes de incerteza, incerteza combinada, k e incerteza expandida de medição de hemoglobina (g/dL) em mulheres com base numa simulação aleatória paramétrica	63
Tabela 4 - Estimativa da significância do <i>bias</i>	63
Tabela 5 - Critérios de incerteza máxima permitida hemoglobina com base na base de dados de variação biológica da EFLM e avaliação da conformidade.....	64
Tabela 7 - u_{RW}	80
Tabela 8 - Dados utilizado para corrigir o <i>bias</i>	81

Página intencionalmente deixada em branco

Índice de Figuras

Figura 1 - Distribuição normal.....	26
Figura 2 - Distribuição triangular.....	27
Figura 3 - Distribuição retangular.....	28
Figura 4 - Itinerário metodológico para a estimativa da incerteza.....	35
Figura 5 - Visão geral do percurso típico para a estimativa da incerteza de medição.....	53

Página intencionalmente deixada em branco

Índice de Equações

Equação 1 - Modelo geral da propagação da incerteza	23
Equação 2 - Lei de Propagação da Incerteza	23
Equação 3 - Soma ou subtração de incertezas	23
Equação 4 - Multiplicação ou divisão de incertezas	24
Equação 5 - Potenciação de incertezas	24
Equação 6 - Incerteza combinada	24
Equação 7 - Incerteza expandida	24
Equação 8 - Incerteza padrão para distribuição Gaussiana	25
Equação 9 - Incerteza padrão para distribuição triangular	27
Equação 10 - Incerteza padrão para distribuição retangular	28
Equação 11 - Fórmula de Welch-Satterthwaite para cálculo dos graus de liberdade efetivos	29
Equação 12 - Incerteza de precisão a longo prazo	42
Equação 13 - Incerteza do <i>bias</i>	42
Equação 14 - <i>t</i> de Student adaptado na significância estatística do <i>bias</i>	42
Equação 15 - Significância estatística do <i>bias</i>	43
Equação 16 - Cálculo do <i>bias</i> na regressão linear	43
Equação 17 - Regressão linear	44
Equação 18 - Incerteza do calibrador	45
Equação 19- Incerteza combinada adaptada (ISO/TS 20914:2019)	45
Equação 20 - Objetivo mínimo de desempenho analítico	49
Equação 21 - Objetivo desejável de desempenho analítico	49
Equação 22 - Objetivo ótimo de desempenho analítico	49

Página intencionalmente deixada em branco

Lista de Abreviaturas

ACSS	Administração Central do Sistema de Saúde
AEQ	Avaliação Externa Da Qualidade
ARS	Administrações Regionais de Saúde
AEQ	Avaliação Externa da Qualidade
CEN	Comité Europeu de Normalização
CIPM	Comité Internacional de Pesos e Medidas
CITAC	Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry
CQI	Controlo de Qualidade Interno
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
EFLM	European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
EMA	Agência Europeia de Medicamentos
EuroLab	European Federation of National Associations of Measurement, Testing, and Analytical Laboratories
EDTA-K₃	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético Tripotássico
GUM	Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement
IM	Incerteza de Medição
INSA	Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I.P.
IPQ	Instituto Português da Qualidade, I.P.
IPST	Instituto Português do Sangue e da Transplantação, I.P.
ISO	International Organization for Standardization
MAU	Incerteza Máxima Permitida
QUAM	Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement
IVD-MD	Dispositivos de Diagnóstico Médico <i>In Vitro</i>
NPAAC	National Pathology Accreditation Advisory Council
SGQ	Sistema de Gestão da Qualidade
SNS	Serviço Nacional de Saúde
VB	Variação Biológica
VIM	Vocabulário Internacional de Metrologia

Página intencionalmente deixada em branco

1.1 O laboratório clínico no contexto dos cuidados de saúde

O laboratório clínico desempenha um papel crucial no suporte aos cuidados de saúde, sendo uma peça central no diagnóstico, monitorização e prevenção de doenças. A literatura científica sublinha a importância dos resultados laboratoriais nas decisões clínicas, estimando que cerca de 60 a 80% dessas decisões são diretamente influenciadas pelos dados fornecidos pelos laboratórios. Este facto evidencia a criticidade e a responsabilidade associada à qualidade e precisão dos serviços laboratoriais no contexto da prática médica (1,2).

Os resultados dos laboratórios clínicos têm um impacto transversal em várias áreas dos cuidados de saúde. Nos hospitais, são fundamentais para a definição de diagnósticos, o acompanhamento de terapias e a avaliação do prognóstico de doentes em diferentes especialidades, como cardiologia, oncologia, e doenças infecciosas. Em serviços de sangue e transfusão, os laboratórios garantem a segurança dos componentes sanguíneos através de análises rigorosas que previnem a transmissão de agentes infecciosos e asseguram a compatibilidade transfusional. No contexto da transplantação, os testes laboratoriais são essenciais para a tipagem tecidual, a avaliação imunológica e o acompanhamento pós-transplante, contribuindo diretamente para o sucesso dos procedimentos (3,4).

Fora do âmbito hospitalar, os laboratórios clínicos desempenham um papel relevante em outras áreas, como o controlo anti-*doping* no desporto (5,6), onde são responsáveis por monitorizar a utilização de substâncias proibidas, promovendo a integridade e a justiça nas competições desportivas. Além disso, os laboratórios participam na vigilância epidemiológica, rastreando surtos de doenças e contribuindo para a definição de políticas de saúde pública. Outras aplicações incluem o acompanhamento da saúde ocupacional e a avaliação de aptidões físicas e biológicas em contextos como o atletismo de alto rendimento.

A relevância dos laboratórios clínicos também se estende às emergências de saúde pública, como foi amplamente demonstrado durante a pandemia de COVID-19, em que os testes diagnósticos e de acompanhamento desempenharam um papel vital no controlo da disseminação do vírus e na gestão dos recursos de saúde (7).

Com um impacto tão abrangente, a qualidade dos resultados laboratoriais é um elemento essencial para a segurança do paciente e a eficácia dos sistemas de saúde. Assim, a

implementação de sistemas de gestão da qualidade baseados em normas como a ISO 15189 é fundamental para garantir a competência técnica e a confiança nos serviços prestados. A precisão, a fiabilidade e a interpretação adequada dos resultados laboratoriais continuam a ser pilares indispensáveis para as decisões clínicas informadas, sublinhando a indispensabilidade do laboratório clínico nos cuidados de saúde modernos (8).

1.2 Falhas laboratoriais e reações adversas em utentes

As falhas nos sistemas de saúde são reconhecidas como um fator crítico que contribui significativamente para a ocorrência de reações adversas nos pacientes. Estas falhas podem manifestar-se em diversas áreas, desde erros na administração de medicamentos, lapsos na comunicação entre os profissionais de saúde, até inadequações nos processos de diagnóstico e tratamento. Num sistema de saúde cada vez mais complexo, a interação entre múltiplos intervenientes e tecnologias amplifica o risco de erro, comprometendo a segurança do paciente (1,9).

Reações adversas relacionadas com falhas nos sistemas de saúde não apenas impactam diretamente a saúde e o bem-estar dos pacientes, como também sobrecarregam os recursos disponíveis, aumentando os custos e reduzindo a eficiência global dos serviços de saúde. A análise destas falhas permite identificar vulnerabilidades sistémicas, promovendo estratégias de mitigação e melhoria contínua. Este processo é essencial para alcançar um equilíbrio entre a prestação de cuidados seguros e a sustentabilidade dos sistemas de saúde (10).

O *Institute of Medicine* expõem, na publicação *To Err is Human*, um elevado risco de reações adversas para utentes de serviços de saúde causadas por falhas (1). A literatura sugere, ainda, que os erros cometidos em testes de laboratório dentro das fases de exame são 40 a 46% na fase pré-analítica, 7 a 10% na fase analítica e 40 a 47% na fase pós-analítica (2,3). Outros autores sugerem que aproximadamente 75% dos erros não causam uma alteração do processo de tratamento, diagnóstico e bem-estar dos pacientes. No entanto, 24,6% dos erros resultam em repetição desnecessária de testes laboratoriais, investigações inapropriadas e episódios de resultados clínicos negativos (11).

1.3 Regulação e gestão da qualidade

1.3.1 Legislação e regulação

A regulação dos laboratórios clínicos em Portugal é uma componente essencial para garantir a qualidade, segurança e confiança nos serviços prestados à população. Esta regulação é realizada através de um conjunto de requisitos legais, normativos e técnicos que asseguram que os

laboratórios clínicos operem em conformidade com padrões elevados de qualidade e competência, alinhados com as melhores práticas internacionais (12,13).

Em Portugal, os laboratórios clínicos estão sujeitos à supervisão da Administração Central do Sistema de Saúde (ACSS) e das Administrações Regionais de Saúde (ARS), que garantem o cumprimento das normativas aplicáveis. O licenciamento dos laboratórios clínicos é obrigatório, de acordo com o Decreto-Lei n.º 217/99 (14), que estabelece os requisitos para o exercício da atividade, como as condições técnicas, instalações e equipamentos. Além disso, os laboratórios devem respeitar a legislação relativa à proteção de dados, saúde ocupacional e gestão ambiental.

A acreditação pela ISO 15189 é considerada o padrão de excelência para laboratórios clínicos em Portugal, sendo promovida como uma forma de assegurar a competência técnica e a implementação de sistemas de gestão da qualidade. Embora não seja obrigatória por lei, a acreditação pode ser exigida em concursos públicos e parcerias com o Serviço Nacional de Saúde (SNS), consolidando-se como uma ferramenta de confiança tanto para profissionais de saúde como para os utentes (13,15).

Adicionalmente, a regulação estatal inclui a monitorização contínua dos laboratórios clínicos através de auditorias, inspeções e programas de avaliação externa da qualidade (AEQ) (13). Estas ações são coordenadas por organismos nacionais, como o Instituto Português da Qualidade (IPQ) e o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), assegurando que os laboratórios mantêm altos padrões de desempenho e conformidade.

Nos últimos anos, a integração de novas tecnologias e métodos laboratoriais, bem como a resposta a emergências de saúde pública, como a pandemia de COVID-19, destacaram a importância de um quadro regulatório sólido e adaptável. Nesse contexto, o Estado português tem reforçado a articulação entre os diferentes atores do sistema de saúde, garantindo que os laboratórios clínicos respondam às necessidades crescentes e complexas da sociedade moderna.

Em síntese, a regulação estatal dos laboratórios clínicos em Portugal desempenha um papel central na proteção da saúde pública, promovendo serviços laboratoriais de qualidade e confiáveis, que contribuem para um sistema de saúde mais eficiente e seguro (1).

1.3.2 Gestão da qualidade laboratorial e abordagens ISO

Os laboratórios clínicos podem integrar sistemas de garantia da qualidade que permitam que os resultados reportados apresentem a fiabilidade requerida de acordo com o fim da sua utilização (decisão clínica, transfusão, transplantação, dopagem, entre outros campos).

Os laboratórios clínicos, no seu percurso para a padronização e melhoria contínua da qualidade,

tiveram inicialmente como referência a norma ISO 9001 (12), amplamente utilizada em diversos setores para sistemas de gestão da qualidade. Esta norma, apesar de ser aplicável a qualquer tipo de organização, fornece uma base sólida para a implementação de processos estruturados, mas não contempla, de forma específica, os requisitos técnicos necessários às atividades laboratoriais.

Posteriormente, alguns laboratórios recorreram à ISO/IEC 17025 (16,17), norma focada na competência de laboratórios de ensaio e calibração, com requisitos técnicos mais específicos do que a ISO 9001. No entanto, a ISO/IEC 17025 também não abrange integralmente a complexidade dos processos e necessidades específicas dos laboratórios clínicos, como a gestão de amostras biológicas, o atendimento aos utentes e a interpretação clínica dos resultados.

Com o objetivo de abordar essas particularidades, foi criada a norma ISO 15189 (13,15,18), desenvolvida especificamente para laboratórios clínicos, integrando requisitos técnicos e de gestão da qualidade. Atualmente, a ISO 15189 é a norma exclusiva para a acreditação de laboratórios clínicos. Desta forma, os laboratórios clínicos não podem ser acreditados pela ISO/IEC 17025, uma vez que a ISO 15189 cobre de forma abrangente as suas necessidades operacionais e regulatórias.

Apesar disso, é comum que laboratórios clínicos estejam certificados pela ISO 9001 e acreditados pela ISO 15189, especialmente quando fazem parte de instituições de saúde que possuem um âmbito organizacional mais amplo. Nestas instituições, o sistema de gestão global pode ser certificado pela ISO 9001, abrangendo diferentes áreas, enquanto a acreditação pela ISO 15189 se aplica exclusivamente ao laboratório clínico. Este modelo reflete a coexistência de dois sistemas de garantia de qualidade complementares, permitindo às instituições manter elevados padrões de qualidade tanto no contexto global quanto nas atividades específicas dos laboratórios clínicos (18)(12).

Esta abordagem promove a integração dos laboratórios clínicos no sistema de gestão da qualidade (SGQ) da instituição, garantindo a sua conformidade tanto com os requisitos técnicos próprios como com as práticas gerais de gestão de qualidade.

A NP EN ISO 15189:2024, baseada na norma internacional ISO 15189:2022, apresenta uma estrutura abrangente para garantir a qualidade e competência técnica em laboratórios clínicos, para mitigar as causas de risco significativo de eventos adversos associados a falhas laboratoriais. Esta norma é amplamente reconhecida como o padrão de excelência para assegurar que os laboratórios fornecem resultados confiáveis, relevantes e em conformidade com os mais elevados critérios técnicos e de gestão. A sua aplicação promove não apenas a confiança dos utentes e utilizadores dos serviços laboratoriais, mas também a harmonização de práticas entre laboratórios em diferentes regiões (15).

A norma enfatiza a implementação de um SGQ que engloba todas as atividades laboratoriais, desde a fase pré-exame até à pós-exame, passando pelo de exame. Este sistema deve ser estruturado para identificar, monitorizar e melhorar continuamente os processos, garantindo que os requisitos dos utilizadores e reguladores sejam atendidos.

Os principais componentes do SGQ segundo a norma incluem:

- Planeamento e Políticas de Qualidade: Estabelecimento de objetivos mensuráveis e políticas alinhadas com a missão do laboratório, comprometendo-se com a boa prática profissional e a conformidade com a norma.
- Controlo de Processos: Monitorização e análise de indicadores de qualidade, como taxas de não conformidades, tempos de resposta e precisão dos resultados.
- Ações Corretivas e Oportunidades de Melhoria: Identificação de falhas, análise das causas e implementação bem-sucedida de correções (quando relevante e praticável), ações corretivas, medidas para prevenir a recorrência e mitigação dos fatores de risco crítico.
- Auditorias Internas e Revisão pela Gestão: Avaliação periódica do desempenho do SGQ e revisão pela direção do laboratório para garantir a sua eficácia e relevância (15).

Além da gestão da qualidade, a competência técnica é um dos pilares fundamentais da NP EN ISO 15189:2024. A norma detalha requisitos técnicos para assegurar que os resultados laboratoriais são precisos, confiáveis e clinicamente úteis. Estes requisitos abrangem áreas como:

- Pessoal: Garantia de que os colaboradores têm formação, competência e autorização adequadas para realizar as suas funções.
- Equipamentos: Seleção, calibração e manutenção de equipamentos críticos para o desempenho dos métodos de exame.
- Métodos e Procedimentos: Avaliação do desempenho de métodos de exame, assegurando que são adequados à sua finalidade prevista e produzem resultados precisos.
- Rastreabilidade e Incerteza de Medição (IM): Implementação de práticas metrológicas que garantam a rastreabilidade dos resultados e a estimativa robusta da IM (15). Um dos avanços significativos desta edição da norma é a integração da gestão de riscos como parte essencial do SGQ. O laboratório é incentivado a identificar riscos associados às suas atividades, avaliar o seu impacto potencial e implementar medidas mitigadoras. Da mesma forma, deve explorar oportunidades de melhoria, contribuindo para um desempenho mais eficiente e seguro (15,18).

A adoção da NP EN ISO 15189:2024 traz benefícios significativos para os laboratórios clínicos, incluindo:

- **Confiança e Credibilidade:** Reforça a confiança dos utilizadores nos resultados laboratoriais, essencial para diagnósticos e tratamentos.
- **Melhoria Contínua:** Promove uma cultura de melhoria contínua, garantindo que os laboratórios se mantêm atualizados com os avanços técnicos e regulatórios.
- **Harmonização Global:** Facilita a comparabilidade de resultados entre laboratórios e a cooperação internacional.
- **Conformidade Regulamentar:** Demonstra cumprimento com requisitos de autoridades reguladoras e organismos de acreditação.

A NP EN ISO 15189:2024 estabelece um equilíbrio entre gestão da qualidade e competência técnica, reconhecendo que ambas são indispensáveis para garantir a excelência nos serviços laboratoriais. A implementação rigorosa desta norma assegura que os laboratórios clínicos são capazes de fornecer resultados confiáveis e seguros, desempenhando um papel essencial nos cuidados de saúde e na confiança pública nos serviços laboratoriais (13,18).

1.3.3 Requisitos do Regulamento (UE) 2017/746 e para métodos *in vitro* desenvolvidos em laboratórios clínicos

Os dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro* (IVD-MD) desempenham um papel crucial no apoio ao diagnóstico e monitorização de doenças, sendo regulados pelo Regulamento (UE) 2017/746, que revogou a Diretiva 98/79/CE. Este regulamento introduz requisitos rigorosos para assegurar a segurança e o desempenho dos dispositivos colocados no mercado, incluindo disposições específicas para dispositivos desenvolvidos e utilizados em instituições de saúde, com impacto direto em métodos laboratoriais concebidos localmente, utilizados fora do âmbito original ou modificados (15,19).

Os métodos concebidos ou desenvolvidos no laboratório, muitas vezes criados para atender a necessidades específicas que não podem ser supridas por dispositivos disponíveis comercialmente, estão isentos de certos requisitos do regulamento (Artigo 5.º, n.º 5), mas devem cumprir os requisitos gerais de segurança e desempenho do Anexo I. Além disso, devem ser validados de acordo com a ISO 15189, assegurando que o laboratório opera sob um SGQ adequado.

Estes métodos incluem dispositivos ou reagentes utilizados fora das instruções (“bulas”) do fabricante ou com modificações significativas. O regulamento exige que tais métodos sejam

avaliados para garantir que continuam a cumprir os requisitos gerais de segurança e desempenho, e que o laboratório justifique, com documentação detalhada, a necessidade destas adaptações. Esta avaliação deve incluir uma validação técnica e clínica robusta (13,20).

Por sua vez, os métodos harmonizados com marca CE (20) previamente verificados e posteriormente modificados envolvem alterações significativas pelo que requerem validação para garantir que o desempenho continua conforme aos requisitos originais. Além disso, o laboratório deve manter registos que documentem estas alterações, a sua justificação e o impacto no desempenho do método.

De acordo com o Artigo 5.º do regulamento, os dispositivos fabricados e utilizados exclusivamente em instituições de saúde devem cumprir as seguintes condições adicionais:

- Justificação da necessidade: A instituição deve demonstrar que as necessidades específicas do grupo-alvo não podem ser satisfeitas por dispositivos equivalentes disponíveis no mercado (Artigo 5.º, n.º 5, alínea d)).
- SGQ: O fabrico deve ocorrer em conformidade com sistemas de gestão da qualidade adequados, incluindo a ISO 15189 para laboratórios clínicos (Artigo 5.º, n.º 5, alínea b)).
- Documentação e transparência: A instituição deve disponibilizar publicamente uma declaração que identifique os dispositivos, inclua a sua finalidade e confirme a conformidade com os requisitos gerais de segurança e desempenho (Artigo 5.º, n.º 5, alínea f)).

É exigida a análise sistemática da experiência clínica com os dispositivos e a implementação de ações corretivas sempre que necessário (Artigo 5.º, n.º 5, alínea i)) (20). A acreditação segundo a ISO 15189 é mandatária para laboratórios que desenvolvem ou modificam dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro* no contexto das instituições de saúde.

A integração dos requisitos do Regulamento (UE) 2017/746 assegura que os métodos desenvolvidos ou adaptados em laboratórios clínicos sejam seguros, eficazes e adequados ao seu propósito. Esta abordagem promove um equilíbrio entre a inovação no ambiente laboratorial e a proteção da saúde pública, reforçando a confiança nos dispositivos médicos para diagnóstico *in vitro* utilizados em instituições de saúde.

1.4 Classificação dos métodos laboratoriais

A ISO classifica os métodos laboratoriais relativamente ao tipo e à sua complexidade. Com base na NP EN ISO 15189:2024, os métodos de exame podem ser classificados em diferentes

categorias, o que determina os requisitos de verificação e validação necessários para assegurar a conformidade e a qualidade dos resultados. Cada categoria apresenta particularidades a serem consideradas:

a) **Métodos de aprovados pela Agência Europeia de Medicamentos (EMA) ("comerciais", marca CE)**

Estes métodos, amplamente conhecidos e utilizados, possuem aprovação regulatória ou são validados pelo fabricante. A verificação pelo laboratório é suficiente para garantir que o desempenho especificado pelo fabricante é alcançado sob as condições do laboratório clínico. Exemplos incluem testes comercializados para diagnóstico *in vitro*.

b) **Métodos aprovados pela EMA e posteriormente modificados**

Sempre que métodos previamente validados sofrem modificações (sejam alterações nos reagentes, nos equipamentos ou nas condições de operação), estas mudanças devem ser avaliadas para determinar se uma revalidação é necessária. Modificações significativas exigem revalidação completa, enquanto mudanças menores podem requerer apenas uma verificação para assegurar que o desempenho não foi comprometido.

c) **Métodos concebidos ou desenvolvidos no laboratório**

Quando o laboratório desenvolve seus próprios métodos, a validação é obrigatória para demonstrar que o método é adequado para a finalidade pretendida. Este processo é mais rigoroso, envolvendo parâmetros como veracidade, precisão, sensibilidade e especificidade.

d) **Métodos utilizados fora do âmbito originalmente pretendido**

Métodos que são utilizados além das instruções de uso fornecidas pelo fabricante (por exemplo, para novos analitos, em novos intervalos de medição, ou com reagentes/instrumentos não compatíveis), exigem uma nova validação. Esta validação deve garantir que o método continua a produzir resultados confiáveis e clinicamente relevantes [7.3.2, 7.3.3 de (NP EN ISO 15189:2024)] (18)(13).

1.5 Avaliação do desempenho de métodos laboratoriais

A avaliação de desempenho dos métodos ou ensaios sucede através da seleção, verificação, validação, IM, controlo de qualidade interno e controlo de qualidade externo (18). A verificação aplica-se aos métodos referidos na alínea a da secção 1.3. Os métodos das restantes alíneas deverão ser validados. A validação apresenta uma abordagem mais extensa.

A avaliação do desempenho em IVD-MD pode ser compreendida como a avaliação através de técnicas estatísticas e de limites de aceitação, prevalecendo, sempre, os critérios clínicos. Os resultados de métodos com desempenho fora dos limites de aceitação podem ser compreendidos como de alto risco para eventos adversos em utentes, tal como reportado na literatura (21–23).

A ocorrência de erros laboratoriais pode ter consequências graves para a segurança dos pacientes, demonstrando a importância crítica do controlo rigoroso dos processos em ambiente clínico. A seguir, são apresentados três casos emblemáticos que ilustram os impactos de falhas laboratoriais na prática clínica e reforçam a necessidade de medidas preventivas mais eficazes.

Caso 1: *St. Agnes Medical Center*, Filadélfia (2001)

Em 2001, o *St. Agnes Medical Center*, localizado na cidade de Filadélfia, foi palco de um incidente grave resultante de um erro laboratorial na análise do tempo de protrombina (TP), parâmetro essencial para o ajuste da dose de varfarine. O cálculo incorreto do índice internacional normalizado (INR), devido à utilização de um valor errado do índice de sensibilidade internacional (ISI), resultou na emissão de valores de INR falsamente baixos. Como consequência, os profissionais de saúde administraram doses excessivas de varfarine sódica a diversos pacientes, sob a falsa premissa de que os mesmos não se encontravam adequadamente anticoagulados.

Este erro culminou na morte de dois pacientes e em complicações hemorrágicas em vários outros. O incidente levou à abertura de investigações pelo Departamento de Saúde Pública da Filadélfia e pelo médico legista da cidade. Além disso, uma paciente de 76 anos moveu uma ação judicial contra o hospital, alegando fazer parte do grupo de 932 pacientes potencialmente afetados. Como resposta, os Centros de Controlo e Prevenção de Doenças (CDC) emitiram orientações para reforçar as boas práticas laboratoriais e prevenir a repetição de erros semelhantes (21).

Caso 2: *Duke University Hospital*, Carolina do Norte (2003)

Em fevereiro de 2003, o *Duke University Hospital* esteve envolvido num erro clínico de grande repercussão, relacionado com o transplante de órgãos da paciente Jesica Santillan, uma jovem de 17 anos. Durante o procedimento de transplante coração-pulmão, foi realizada a implantação de órgãos que não eram compatíveis com o tipo sanguíneo da paciente. Embora o erro tenha sido identificado durante a cirurgia, os profissionais optaram por prosseguir com o transplante. A incompatibilidade imunológica levou a uma rejeição aguda dos órgãos transplantados, o que motivou a realização urgente de um segundo transplante. No entanto, apesar da compatibilidade neste segundo procedimento, Jesica sofreu danos cerebrais irreversíveis e veio a falecer dias depois. Este caso gerou amplo debate público sobre a segurança dos procedimentos médicos, as falhas nos sistemas de verificação laboratorial e os dilemas éticos na gestão de recursos escassos, como os órgãos para transplante. O hospital realizou uma investigação interna e

implementou protocolos adicionais para reforçar a segurança nos processos de verificação de compatibilidade (22).

Caso 3: Sarasota Memorial Hospital, Flórida (2004)

Em 28 de junho de 2004, o *Sarasota Memorial Hospital* registou a morte de um paciente em estado crítico após a administração de uma transfusão sanguínea com componente AB0 incompatível. O evento foi reportado às autoridades de saúde estaduais e federais, desencadeando uma inspeção imediata por parte dos reguladores. A gravidade do caso tornou-se pública em julho, após a divulgação da informação por um jornal local.

A investigação revelou que o erro se deveu a uma rotulagem incorreta da amostra utilizada para o teste de compatibilidade (*crossmatch*), etapa essencial na garantia da segurança transfusional. Este caso reforça a importância da rastreabilidade e da correta identificação de amostras em todos os níveis do processo laboratorial (23).

Estes casos (21–23) demonstram, de forma clara, o impacto potencialmente letal dos erros laboratoriais e sublinham a necessidade de protocolos rigorosos, sistemas de verificação eficientes e cultura de segurança no ambiente clínico.

Os resultados quantitativos reportados são medições *in vitro*. A proximidade destas medições com os resultados *in vivo* (verdade), dependerá, principalmente, do desempenho do método. Assim, quanto melhor for o desempenho, maior será a probabilidade de a medição ser próxima da verdade e menor o risco de contribuição para eventos adversos. A tendência na *European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* (EFLM) tem sido do favorecimento da Abordagem da Incerteza na avaliação do desempenho dos métodos laboratoriais (24).

O Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM) define “incerteza de medição” como o «parâmetro não negativo que caracteriza a dispersão dos valores atribuídos a uma mensuranda, com base nas informações utilizadas» [2.26,28]. Mensuranda entende-se como a «grandeza que se pretende medir» [2.3, 28]. A definição de IM será revista na próxima edição do VIM para «dúvida sobre o valor do mensuranda que permanece após fazer uma medição». Poder-se-á compreender a IM como um parâmetro que reflete o intervalo de valores que podem ser atribuídos à mensuranda. Quanto maior for a IM, menor será a probabilidade de a medição reportada estar próxima do valor verdadeiro (25,26).

Numa visão simplificada, poder-se-á compreender que um método com “boa incerteza” será um método com “baixa incerteza de medição” (26). Os métodos com IM com desempenho aceite, devem ter uma incerteza dentro da «incerteza de medição especificada como um limite superior e escolhida de acordo com o uso pretendido dos resultados de medição» (27). Este limite de

incerteza é reconhecido como “incerteza incerteza-alvo” ou “incerteza de medição pretendida” [2.34, 28]. Assim, a determinação da incerteza constitui uma abordagem importante na avaliação do desempenho de métodos analíticos quantitativos seguindo as tendências correntes europeias (8,26–28).

1.6 Avaliação da incerteza de medição: Princípios

No âmbito da NP EN ISO 15189:2024, os processos de exame desempenham um papel central, em particular a avaliação da IM, prevista na cláusula 7.3.4. Este conceito é fundamental para assegurar que os resultados dos exames laboratoriais são confiáveis e clinicamente relevantes.

A IM é a dúvida que existe em qualquer resultado obtido num laboratório. Em outras palavras, é uma margem de erro aceitável que mostra o quanto o valor medido pode estar distante do verdadeiro valor. Nenhuma medição é perfeita, e reconhecer essa limitação é essencial para interpretar corretamente os resultados laboratoriais. Por exemplo, se uma medição indica que um paciente tem uma glicémia de 100 mg/dL com uma incerteza de ± 5 mg/dL, isso significa que o valor real está provavelmente entre 95 mg/dL e 105 mg/dL (13,15).

A cláusula 7.3.4 da norma exige que os laboratórios clínicos determinem e documentem a incerteza associada aos seus procedimentos de medição, com base em métodos estatísticos robustos e alinhados com os princípios da metrologia (15). A estimativa da IM deve incluir todas as fontes de variabilidade que podem influenciar o resultado, desde o desempenho do método de exame até os parâmetros ambientais e instrumentais. Essa avaliação é essencial para interpretar resultados em contextos clínicos, garantindo que as decisões baseadas nesses dados sejam informadas e seguras.

Os requisitos de avaliação da IM estão diretamente relacionados com as cláusulas 7.3.2 (verificação dos métodos de exame) e 7.3.3 (validação dos métodos de exame). A verificação assegura que os métodos estabelecidos pelo fabricante funcionam conforme especificado no contexto operacional do laboratório. Já a validação é aplicável a métodos desenvolvidos localmente, utilizados fora do escopo original ou modificados, confirmando que estes são adequados à finalidade pretendida (15,29).

A avaliação da IM não apenas complementa essas etapas, mas também é um componente crítico para determinar se os métodos validados ou verificados podem produzir resultados clinicamente úteis. Por exemplo, métodos que apresentam elevada IM podem comprometer a interpretação dos resultados e, conseqüentemente, as decisões clínicas baseadas neles (29).

A integração da IM como um requisito normativo reflete a necessidade de uma abordagem metrológica nos laboratórios clínicos. Para tal, a norma exige que os laboratórios:

- Estabeleçam procedimentos claros para calcular a IM, com base em dados de verificação ou validação e controlo de qualidade interno.
- Documentem todas as fontes de incerteza identificadas nos métodos de exame.
- Utilizem os resultados da avaliação da IM para informar decisões relacionadas com a adequação dos métodos para uso clínico.

1.7 Requisitos da NP EN ISO 15189:2024 para avaliação da incerteza de medição em métodos quantitativos e qualitativos com classificação em escalas ordinais

A NP EN ISO 15189:2024, na cláusula 7.3.4, destaca a importância da avaliação da IM para garantir a fiabilidade e validade dos resultados obtidos em métodos laboratoriais. Esses requisitos aplicam-se tanto a métodos quantitativos "puros", que produzem valores contínuos ou discretos diretamente mensuráveis, como a métodos qualitativos que utilizam escalas ordinais baseadas em sinais quantitativos, frequentemente dependentes de limite de decisão clínica (*cutoff*) para classificação (8,15).

- **Requisitos para métodos quantitativos "puros"**

Para métodos quantitativos, a IM deve ser avaliada e documentada considerando todas as fontes de variabilidade, incluindo erros sistemáticos e aleatórios. Esta avaliação deve ser realizada de acordo com as especificações de desempenho e ser suficiente para a utilização pretendida (13,15,18).

A IM calculada deve ser comparada com os limites de desempenho especificados, garantindo que o método está em conformidade com os requisitos clínicos e analíticos. Para tal, recomenda-se o uso de orientações como a ISO/TS 20914 (13,19) que fornece detalhes sobre a metodologia de cálculo e exemplos aplicáveis. As estimativas da IM devem ser revistas periodicamente, especialmente quando ocorrem mudanças nos métodos, equipamentos ou reagentes, para assegurar que continuam válidas e relevantes (13,15,18).

A norma exige que as informações sobre IM sejam fornecidas aos utilizadores do laboratório, mediante solicitação, permitindo-lhes avaliar a adequação do método para suas necessidades clínicas.

- **Requisitos para métodos qualitativos com escalas ordinais**

Os métodos qualitativos que utilizam escalas ordinais baseadas em sinais quantitativos, os quais

permitem classificarem, como "positivo" ou "negativo", quando os sinais são comparados com um *cutoff*, possuem requisitos específicos para a avaliação da IM devido à sua dependência de medições subjacentes. Assim, quando o resultado qualitativo depende de um valor numérico e é classificado com base num *cutoff*, a IM associada ao resultado numérico deve ser avaliada. Esta estimativa deve incluir a análise de amostras representativas positivas e negativas, garantindo que os resultados próximos ao *cutoff* sejam devidamente interpretados.

Para exames qualitativos com etapas intermediárias que geram resultados quantitativos, por exemplo, medições de intensidade de fluorescência, a IM dessas etapas deve ser avaliada. Isso é particularmente crítico para identificar pontos de risco no processo, como desvios que possam comprometer a classificação final. Caso a avaliação da IM não seja aplicável a certas etapas qualitativas, as razões para a exclusão devem ser documentadas, assegurando transparência e rastreabilidade.

A IM deve ser considerada durante os processos de validação e verificação do método. Isso assegura que a incerteza não afete a capacidade do método de diferenciar corretamente entre as categorias, como sejam, falso positivo ou falso negativo.

A norma reconhece que, em alguns casos, a variabilidade biológica pode ser uma fonte significativa de incerteza. Assim, o laboratório deve levar em consideração essa variabilidade na avaliação da IM.

A avaliação da IM, conforme a NP EN ISO 15189:2024 (13), garante que os laboratórios clínicos assegurem a confiabilidade dos resultados tanto em métodos quantitativos como qualitativos ordinais. Para métodos quantitativos, o foco está na precisão e na conformidade com especificações. Já para métodos qualitativos, a avaliação da IM nos resultados numéricos subjacentes e nas etapas intermediárias é crucial, especialmente quando classificações dependem de *cutoffs*. Essa abordagem sistemática visa promover a confiança nos resultados laboratoriais e na tomada de decisões clínicas (13,15,18)

1.8 Mudança de paradigma na metrologia: Abordagem do Erro para Abordagem da Incerteza

A evolução da metrologia ao longo dos anos tem sido caracterizada por avanços na compreensão dos fenômenos de medição e pela necessidade de aprimorar a confiabilidade dos resultados obtidos. No contexto dos laboratórios clínicos, essa evolução tornou-se especialmente relevante à medida que os testes diagnósticos passaram a desempenhar um papel central nas decisões médicas. Um dos avanços mais significativos na metrologia aplicada ao laboratório clínico foi a transição da Abordagem do Erro para a Abordagem da Incerteza. Essa mudança paradigmática reflete uma compreensão mais profunda das limitações associadas à medição e dos benefícios proporcionados pelo conceito de IM (18,31–33).

1.7.1 Limitações da abordagem do erro

Historicamente, a qualidade de um resultado laboratorial era avaliada predominantemente com base na Abordagem do Erro, que buscava identificar e corrigir discrepâncias entre o valor medido e um valor considerado "verdadeiro" ou de referência. O erro era subdividido em erro sistemático (tendencioso, previsível e corrigível) e erro aleatório (imprevisível, associado à variabilidade inerente do sistema de medição). Embora essa abordagem tenha sido amplamente utilizada, ela apresenta limitações significativas:

- **Dependência de um valor "verdadeiro" absoluto** A determinação de um valor verdadeiro é um conceito idealizado, pois todo valor de medição está sujeito a alguma variabilidade e incerteza.
- **Foco na correção dos erros e não na sua caracterização** O conceito de erro sugere que a correção elimina o problema, quando, na verdade, a variabilidade não pode ser completamente eliminada, apenas gerida.
- **Inadequabilidade para estimar a confiança do resultado** A Abordagem do Erro não fornece informações sobre a incerteza associada ao resultado, impedindo uma avaliação quantitativa da confiabilidade do dado obtido (18,29,31).

1.7.2 Benefícios da abordagem da incerteza

A Abordagem da Incerteza surge como uma melhoria conceitual que permite descrever quantitativamente a confiança num resultado de medição. Ao invés de considerar apenas um valor singular e sua discrepância em relação a um padrão, a incerteza fornece um intervalo dentro do qual se espera que o valor verdadeiro esteja inserido, considerando todos os fatores que afetam a medição. Dentre os principais benefícios dessa abordagem, destacam-se:

- **Caraterização completa da qualidade metrológica** - A Abordagem da Incerteza leva em conta todas as fontes de variabilidade, incluindo efeitos sistemáticos e aleatórios, permitindo uma visão mais holística do desempenho do teste laboratorial.
- **Avaliação quantitativa da robustez** - Com a expressão da incerteza, é possível estabelecer intervalos de confiança para a medição, auxiliando na tomada de decisão clínica com base na robustez do resultado obtido.
- **Padronização e comparabilidade entre laboratórios** - Ao adotar a incerteza como parâmetro de desempenho, os laboratórios podem harmonizar as suas medições e comparar seus resultados de forma mais objetiva.

- **Adequação às normativas internacionais** - Organizações como o Comité Internacional de Pesos e Medidas (CIPM), a ISO e o Comité Europeu de Normalização (CEN) enfatizam a necessidade de expressar incertezas em medição, tornando essa abordagem fundamental para o cumprimento de padrões internacionais.
- **Melhoria da segurança na interpretação clínica** - O fornecimento de resultados acompanhados de sua incerteza reduz riscos associados a decisões médicas baseadas em valores absolutos, promovendo um uso mais criterioso da informação laboratorial (8,29,34).

A transição da Abordagem do Erro para a Abordagem da Incerteza representa uma evolução fundamental na metrologia aplicada aos laboratórios clínicos. Enquanto a Abordagem do Erro se limita a identificar discrepâncias, a Abordagem da Incerteza fornece uma análise quantitativa da qualidade metrológica, permitindo uma melhor tomada de decisão clínica. No contexto do doseamento de hemoglobina, a expressão da incerteza confere maior robustez à interpretação dos resultados, reduzindo riscos associados a decisões baseadas exclusivamente em valores absolutos (18).

1.7.3 Limitações do erro total analítico na avaliação do desempenho de métodos no laboratório clínico

O conceito de erro total analítico (TAE) (35) tem sido amplamente utilizado na avaliação do desempenho de métodos laboratoriais. No entanto, este modelo apresenta limitações significativas que comprometem sua precisão e aplicabilidade, tornando essencial a adoção de abordagens mais realistas, como a Abordagem da Incerteza.

Uma das principais limitações do TAE é sua natureza de pseudo-Abordagem do Erro. A Abordagem do Erro, conforme defendida por diversos especialistas em metrologia, nunca aceitou a simples soma do *bias* com a imprecisão como forma de estimar o erro global de um método. A razão para isso é que essa operação conduz a uma sobrestimativa do erro real, dado que o *bias* e a imprecisão são grandezas estatisticamente independentes e devem ser combinadas por meio de modelos apropriados, como a propagação da incerteza.

Ainda, o TAE simplifica, criticamente, a complexidade da medição ao considerar que os erros sistemáticos e aleatórios podem ser tratados de forma conjunta. Isso não reflete a realidade das medições laboratoriais, onde diversos fatores podem interagir de maneira não linear, com impacto na robustez dos resultados.

Outra limitação relevante é a falta de um tratamento adequado das incertezas associadas à medição. A Abordagem do Erro total não incorpora de maneira explícita os princípios da metrologia moderna, que enfatizam a quantificação da incerteza como uma medida mais realista da qualidade

de um resultado. A IM, ao contrário, considera a contribuição de todas as fontes de variabilidade, permitindo uma avaliação mais precisa do desempenho do método. A Abordagem da Incerteza também apresenta vantagens ao fornecer intervalos de confiança para os resultados, permitindo que laboratórios avaliem a robustez das medições e tomem decisões bem sustentadas.

Assim, é sustentado que a Abordagem do TAE apresenta limitações conceituais e práticas que comprometem sua eficácia na avaliação do desempenho de métodos laboratoriais. A transição para uma abordagem baseada na IM não apenas melhora a precisão das avaliações, mas também alinha os processos laboratoriais com as melhores práticas da metrologia moderna, garantindo resultados mais confiáveis e cientificamente robustos (35)(36)(29).

1.8 Contexto da dissertação

A estimativa da incerteza assentará na abordagem ISO/TS 20914:2019 (13), a qual é consistente com os princípios da Lei da Propagação da Incerteza publicados no GUM [E.3, (14)]. Neste estudo, a demonstração da estimativa da IM será estimada num método normalizado (método de cianometahemoglobina) para doseamento de hemoglobina em sangue humano venoso ou arterial anticoagulado com ácido etilenodiamino tetra-acético tripotássico (EDTA-K₃). Esta estimativa é replicável a métodos similares.

A dissertação pretende introduzir a Abordagem da Incerteza e a sua operacionalização na determinação da IM em hemoglobina em sangue humano.

1.9 Questão de investigação

Este estudo contém a questão de investigação fundamental relativa à metodologia a aplicar nos laboratórios clínicos na estimativa e avaliação da IM em métodos quantitativos, de acordo com os princípios da ISO/TS 20914:2019 (13).

As questões mais específicas são as seguintes:

- 1.9.1** Quais são as limitações atuais na estimativa e avaliação da IM nos métodos de quantitativos?
- 1.9.2** Quais os métodos metrológicos mais adequados para dados intra e interlaboratoriais?
- 1.9.3** Como calcular a incerteza com base nestes métodos metrológicos?
- 1.9.4** Quais as recomendações que poderão ser sugeridas para aplicação bem-sucedida da estimativa e avaliação de incerteza no laboratório clínico?

1.10 Objetivos

Este estudo tem como objetivo geral sugerir boas práticas na implementação da Abordagem da Incerteza de testes quantitativos em laboratórios clínicos, através do caso particular do método para doseamento de hemoglobina.

Os objetivos específicos para este estudo são:

- 1.10.1** Identificação dos requisitos legais, normativos para estimativa e avaliação da IM;
- 1.10.2** Operacionalização dos requisitos legais e normativos para estimativa e avaliação da IM, com foco no guia ISO/TS 20914:2019;
- 1.10.3** Operacionalização dos requisitos para a incerteza-alvo através do guia EURACHEM/CITAC STMU 2020 e da base de dados de variação biológica da EFLM;
- 1.10.4** Avaliação do desempenho do teste hemoglobina com base na incerteza-alvo e;
- 1.10.5** Recomendações para a estimativa e avaliação da IM em testes quantitativos.

Página intencionalmente deixada em branco

2. Revisão da literatura

A pesquisa foi conduzida de forma estruturada, seguindo etapas pré-definidas, como a definição de palavras-chave, critérios de inclusão e exclusão, e a seleção de fontes específicas (PubMed selecionando artigos revistos por pares relevantes para a temática da IM em laboratórios clínicos). Apesar de sistemática na recolha de dados, não se seguiu estritamente um protocolo de revisão sistemática (por exemplo, PRISMA), o que a classifica como sistematizada, mas não puramente sistemática. Este tipo de revisão permite contextualizar o tema, sumarizando e discutindo abordagens metodológicas relevantes (37).

A inclusão de normas e guias técnicos provenientes de entidades reconhecidas (BIPM (38), ISO (39), EURACHEM/CITAC (40)(41), IPQ(42),IPAC(43), NORDTEST (44) e CLSI (45) acrescenta um componente normativo à revisão. Este tipo de revisão tem como objetivo comparar e discutir recomendações oficiais que orientam a prática laboratorial e a gestão da IM, assegurando uma visão abrangente e atualizada. A combinação de artigos científicos com normas aplicáveis proporciona uma base sólida para a discussão no contexto desta dissertação.

A metodologia utilizada pode ser classificada principalmente como uma revisão narrativa sistematizada com elementos de revisão normativa, oferecendo uma análise abrangente e aplicável ao contexto do laboratório clínico (46).

Foram utilizadas palavras-chave específicas, constantes na Tabela 1. Os critérios de inclusão e exclusão aplicados permitiram filtrar estudos relevantes, assegurando a qualidade e a pertinência da informação recolhida.

Esta revisão permitiu não só contextualizar a importância da IM no doseamento de hemoglobina, como também fundamentar a escolha metodológica adotada nesta dissertação, alinhada com as melhores práticas internacionais e normas aplicáveis ao setor laboratorial clínico.

Tabela 1 - Variáveis na revisão bibliográfica

Fonte	Palavras-chave	Referências	Filtro
PubMed	assessment; compliance; error assessment; ISO 15189; measurement uncertainty; metrology	(1,8–10,47)	2014 a 2025, inclusão artigos científicos
EURACHEM/CITAC	N/A	(15), (48,49)	1995 a 2025
ISO	N/A	(1,6)	1995 a 2025
IPQ	N/A	(15)	2014 a 2025
IPAC	N/A	(16)	1995 a 2025
NORDTEST	N/A	(20)	2014 a 2025
CLSI	N/A	(17)	2014 a 2025

Legenda: N/A - Não aplicável

3. Fundamentação Teórica e Normativa da Incerteza de Medição no Método de Cianometahemoglobina

3.1 Princípios básicos da incerteza de medição

3.1.1 Presença inerente de margem de erro em todo processo de medição

Nenhum resultado laboratorial é exato ao ponto de representar o valor real sem qualquer variação. Toda medição está sujeita a fatores que causam pequenas (ou grandes) flutuações no resultado. Reconhecer essa limitação é essencial para análises corretas e decisões clínicas seguras (8,25,29,34).

3.1.2 Distinção entre incerteza e erro: A incerteza como informação

Enquanto o erro é uma falha que deve ser identificada e corrigida, a incerteza é uma característica natural de qualquer processo de medição. Ela não aponta que o resultado está "errado", mas sim que existe um intervalo provável onde o verdadeiro valor se encontra. A incerteza expressa o grau de confiança no resultado e fornece um contexto essencial para a interpretação clínica (8,25,29,34).

3.1.3 A impossibilidade de eliminar todas as fontes de incerteza

Mesmo em ambientes altamente controlados, com equipamentos calibrados e técnicas rigorosas, sempre existirão fatores imprevisíveis que afetam o resultado - seja a variabilidade biológica do paciente, pequenas oscilações ambientais ou limitações dos instrumentos de medição. O objetivo da gestão da incerteza não é eliminar todas as fontes de variabilidade, mas sim compreendê-las, controlá-las e quantificá-las (8,25,29,34).

3.1.4 Necessidade de quantificação e avaliação da incerteza

A simples consciência de que a incerteza existe não é suficiente - ela deve ser medida de forma objetiva. A quantificação da incerteza permite que o laboratório:

- Avalie a qualidade e robustez dos seus métodos analíticos;
- Determine se o resultado obtido é adequado para a tomada de decisão clínica e;
- Compare resultados entre diferentes métodos ou laboratórios.

A avaliação da incerteza envolve identificar suas fontes, analisar a sua magnitude e verificar se ela

está dentro dos limites aceitáveis para cada teste laboratorial. Além disso, é importante reavaliar periodicamente essa incerteza, especialmente após mudanças em equipamentos, reagentes ou procedimentos.

A IM é inevitável, mas não deve ser vista como um obstáculo. Ao contrário, é uma ferramenta que melhora a qualidade dos resultados laboratoriais e oferece maior segurança aos profissionais de saúde e aos pacientes. Avaliar e quantificar a incerteza é, portanto, uma prática essencial para qualquer laboratório clínico comprometido com a excelência (8,25,29,34).

3.2 Abordagem da incerteza

A da IM é um elemento essencial na avaliação da qualidade dos resultados analíticos em laboratórios clínicos, uma vez que fornece uma estimativa quantitativa da confiança nos resultados obtidos. A principal referência internacional para a estimativa da IM é o Guia para a Expressão da Incerteza de Medição (GUM) - *Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement* (ISO/IEC Guide 98-3:2008) (25).

3.2.1 Princípios fundamentais do GUM

O GUM define a IM como um parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão dos valores que poderiam ser atribuídos à mensuranda. O principal objetivo deste guia é padronizar a forma como a incerteza é quantificada e reportada, promovendo a comparabilidade dos resultados laboratoriais. A metodologia proposta pelo GUM baseia-se numa abordagem probabilística e matemática, permitindo que a incerteza seja tratada de forma sistemática e reproduzível (25).

3.2.2 Identificação das fontes de incerteza

O primeiro passo consiste em mapear todas as possíveis fontes de variabilidade que possam afetar o resultado da medição. Estas fontes podem incluir incertezas relacionadas com o equipamento utilizado, procedimentos analíticos, condições ambientais, calibração de instrumentos, reagentes, e fatores humanos.

3.2.3 Quantificação das fontes de incerteza

Após identificar as fontes de incerteza, cada uma delas deve ser quantificada utilizando dados experimentais, especificações do fabricante ou informações históricas. O GUM classifica as incertezas em dois tipos:

Tipo A: Avaliada por métodos estatísticos, como a repetibilidade de medições e a análise de dados do controlo de qualidade interno.

Tipo B: Derivada de informações não estatísticas, como certificados de calibração,

especificações técnicas ou literatura científica.(25)

3.2.4 Modelo matemático da medição

A propagação da incerteza é aplicada quando o resultado de uma medição é obtido por meio de uma função que relaciona múltiplas variáveis de entrada. Considere-se uma função geral:

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_n)$$

Equação 1

onde:

Y é o valor medido final e X_i são as variáveis de entrada, cada uma com uma incerteza associada $u(X_i)$.(25)

3.2.5 Propagação de incerteza (propagação linear da incerteza)

Quando a relação entre as variáveis é suficientemente linear ou quando as incertezas são pequenas, aplica-se a Lei de Propagação da Incerteza, baseada no método de derivadas parciais (Teorema de Taylor de primeira ordem). A incerteza combinada $u_c(Y)$ do resultado é calculada por:

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \right)^2 \cdot u(x_i)^2 + 2 \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i} \cdot \frac{\partial f}{\partial x_j} \cdot u(X_i, X_j) \right)}$$

Equação 2

onde:

$\frac{\partial f}{\partial x_i}$ representa o coeficiente de sensibilidade de cada variável x_i e $u(X_i, X_j)$ representa a covariância entre X_i e X_j , caso exista correlação entre as variáveis.

Se as variáveis forem estatisticamente independentes, a covariância é nula, simplificando o cálculo (25).

3.2.6 Regras comuns de propagação

Soma ou Subtração:

$$Y = X_1 \pm X_2 \rightarrow u_c(Y) = \sqrt{u(X_1)^2 + u(X_2)^2}$$

Equação 3

Multiplicação ou Divisão:

$$Y = X_1 \cdot X_2 \text{ ou } Y = \frac{X_1}{X_2} \rightarrow \sqrt{\left(\frac{u(X_1)}{X_1}\right)^2 + \left(\frac{u(X_2)}{X_2}\right)^2}$$

Equação 4

Potenciação:

$$Y = X^k \rightarrow \frac{u_c(Y)}{Y} = |k| \frac{u(X)}{X}$$

Equação 5

3.2.7 Fórmulas gerais para cálculo da incerteza combinada e expandida

As incertezas dos diferentes componentes são combinadas utilizando o método da **propagação de incertezas**, geralmente pela fórmula da soma quadrática dos desvios-padrão relativos:

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i}\right)^2 u(x_i)^2}$$

Equação 6

Onde:

$u_c(y)$ é a incerteza combinada do resultado final e $u(x_i)$ é a incerteza padrão de cada componente.

Para obter a Incerteza Expandida (U), aplica-se um fator de expansão (k), normalmente de 2, para um nível de confiança de aproximadamente 95% (25).

$$U = k \times u_c(y)$$

Equação 7

3.3 Distribuições de dados na estimativa da incerteza de medição

No contexto dos laboratórios clínicos, a avaliação da IM é fundamental para garantir a confiabilidade dos resultados. A escolha da distribuição de probabilidade adequada para os dados de entrada desempenha um papel crucial no cálculo correto da incerteza. Cada tipo de distribuição modela a variabilidade dos dados de forma diferente, afetando diretamente a amplitude da incerteza associada ao resultado.

Em laboratórios clínicos, as distribuições mais utilizadas para a avaliação da IM são:

- Distribuição normal (ou Gaussiana);

- Distribuição triangular e;
- Distribuição retangular (ou uniforme).

Cada uma destas distribuições é aplicável em diferentes cenários laboratoriais, dependendo da natureza dos dados disponíveis e do grau de conhecimento sobre o comportamento da variável (30).

3.3.1 Distribuição normal (Gaussiana)

- **Características gerais**

A distribuição normal (ver Figura 1) é a mais comum em ambientes laboratoriais, especialmente quando os dados são obtidos por medições repetidas. Ela apresenta a clássica curva em forma de sino, onde a maior parte dos valores se concentra ao redor da média, com diminuição gradual da frequência à medida que os valores se afastam.

- **Aplicações no laboratório clínico**

Resultados de medições independentes sob condições controladas tendem a seguir a distribuição normal devido ao Teorema do Limite Central, que afirma que a soma de um grande número de pequenas variações tende a gerar uma distribuição normal. Ao realizar medições repetidas de uma amostra de controlo (ex.: glicémia ou colesterol), os resultados geralmente se distribuem de forma normal. Flutuações naturais que afetam o resultado de uma medição, como pequenas variações na “pipetagem” ou oscilações de temperatura, são normalmente distribuídas.

- **Implicações na incerteza**

A incerteza é a mesma em ambos os lados do valor médio (simétrica). O cálculo da incerteza padrão é feito através do desvio padrão da série de dados. Utilizam-se fatores de cobertura pré- definidos na determinação dos intervalos de confiança. Por exemplo, $k = 2$ para 95% de confiança.

- **Cálculo da incerteza padrão**

$$u = \frac{DP}{\sqrt{n}}$$

Equação 8

Onde DP é o desvio-padrão¹, e n é o número de medições realizadas.

Por exemplo, num ensaio de creatinina sérica, após 20 medições repetidas, a variação dos resultados forma uma curva de distribuição normal. A incerteza padrão será calculada com base no desvio padrão desses valores.

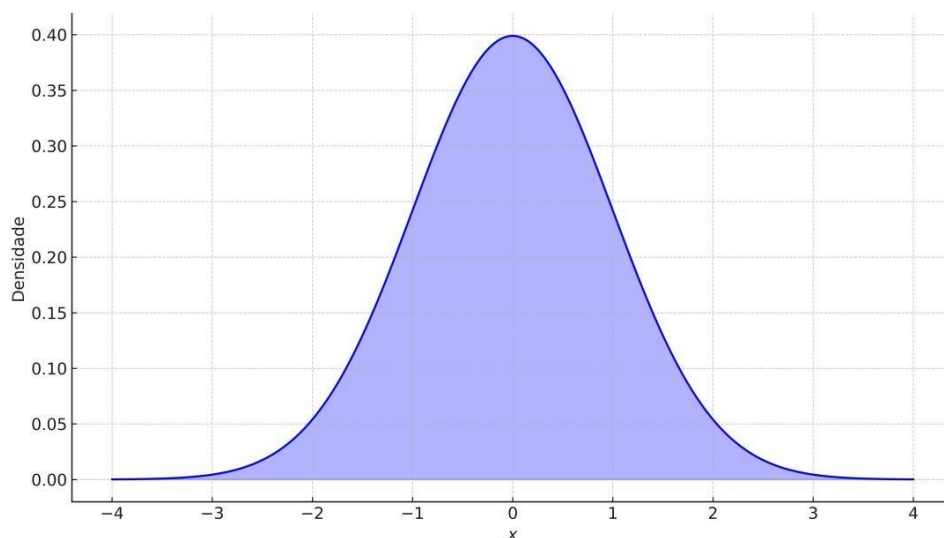


Figura 1 - Distribuição normal.

3.3.2 Distribuição triangular

- **Características gerais**

A distribuição triangular (ver Figura 2) tem a forma de um triângulo isósceles, onde o valor mais provável ocorre no centro do intervalo considerado, mas com valores possíveis se estendendo de forma linear até os limites máximos e mínimos. Ela é utilizada quando se conhece o valor central mais provável, mas há incerteza em torno dele.

- **Aplicações no laboratório clínico**

Estimativas baseadas em julgamento especializado: Quando há conhecimento qualitativo indicando que o valor central é mais provável, mas não existem dados estatísticos suficientes. Em situações em que o técnico ajusta resultados com base em experiência (ex.: compensação por pequenas interferências visuais em uma leitura manual). Em certos procedimentos de calibração onde o valor central é conhecido, mas há uma margem de erro linear até os limites.

¹ $DP = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$, onde x_i representa o valor da primeira medição realizada de uma série de medições repetidas e \bar{x} é a média aritmética simples $= \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$

- **Implicações na incerteza**

Incerteza menor que na distribuição retangular: A maior probabilidade concentrada no valor central reduz a amplitude da incerteza.

- **Cálculo da incerteza padrão**

$$u = \frac{a}{\sqrt{6}}$$

Equação 9

Onde a é o semi-intervalo entre o valor central e os limites.

Por exemplo, se um técnico realiza uma calibração visual de uma curva padrão, e acredita que o erro máximo possível é $\pm 0,2$ mg/dL, sendo o ponto médio o mais provável, a incerteza pode ser modelada por uma distribuição triangular. A medição da temperatura é associada a este tipo de distribuição.

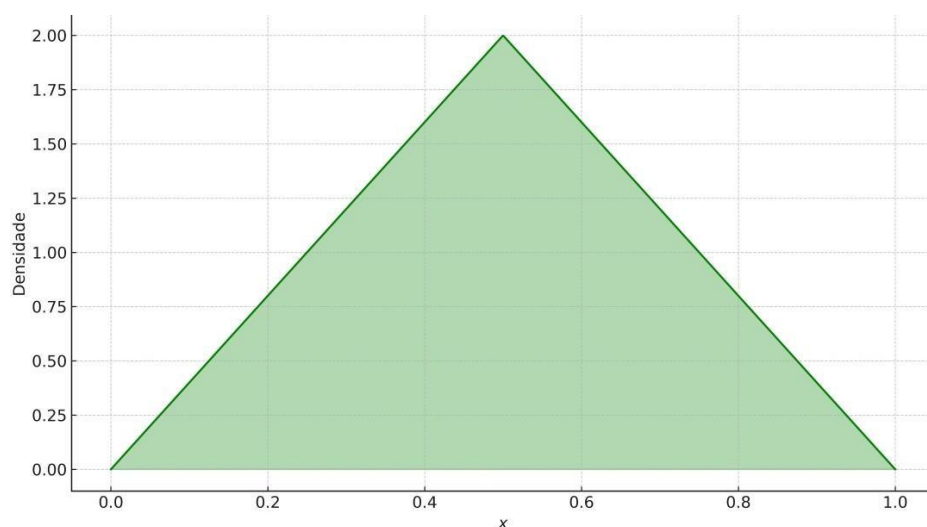


Figura 2 - Distribuição triangular

3.3.3 Distribuição retangular

- **Características gerais**

A distribuição retangular ou uniforme (ver Figura 3) assume que todos os valores dentro de um intervalo específico têm a mesma probabilidade de ocorrer. Não há um valor central mais provável - qualquer valor dentro do intervalo é igualmente possível.

- **Aplicações no laboratório clínico**

Muitas vezes, os fabricantes de reagentes ou equipamentos informam intervalos de variação sem

indicar a probabilidade de ocorrência de um valor em particular. Por exemplo, “precisão de $\pm 0,5$ mg/dL”. Quando não há dados suficientes para assumir uma distribuição normal ou triangular, geralmente, considera-se a distribuição como retangular. Resultados arredondados em equipamentos automáticos podem ser tratados com uma distribuição retangular.

- **Implicações na incerteza**

Ao assumir que qualquer valor dentro do intervalo tem a mesma chance de ocorrer, esta distribuição tende a gerar incertezas maiores (abordagem conservadora).

- **Cálculo da incerteza padrão**

$$u = \frac{a}{\sqrt{3}}$$

Equação 10

Onde a representa o semi-intervalo entre os limites superior e inferior.

Por exemplo, se um analisador automático informa que o erro máximo esperado é de ± 1 mg/dL para dosagem de glicose, e não fornece informações adicionais sobre a distribuição dos resultados, assume-se uma distribuição retangular para o cálculo da incerteza.

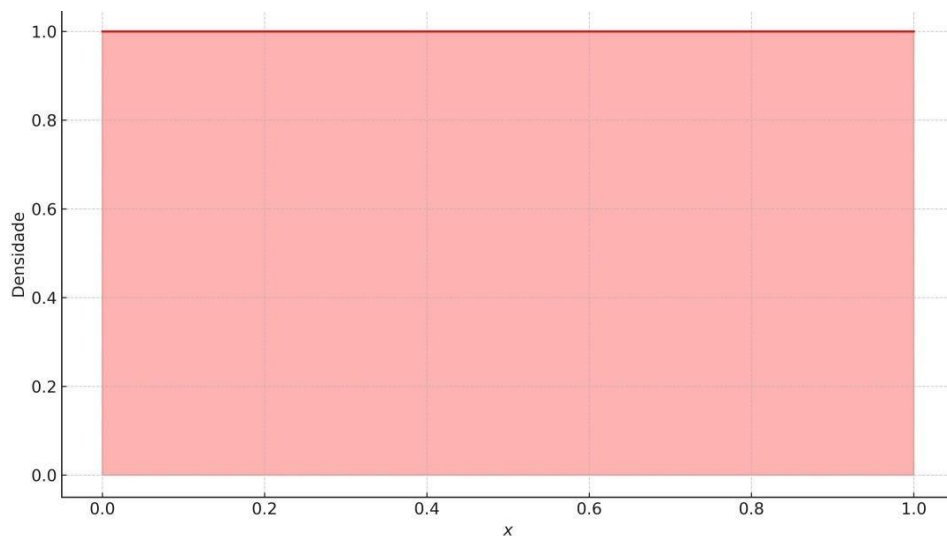


Figura 3 - Distribuição retangular.

3.3.4 Comparação entre as distribuições

A escolha correta da distribuição de probabilidade na avaliação da IM é essencial para obter resultados laboratoriais confiáveis. Em ambientes clínicos, a distribuição normal é a mais frequente, especialmente em análises estatísticas de dados experimentais. A distribuição triangular é útil em situações em que existe um valor central mais provável, mas com limitações de dados

estatísticos. A distribuição retangular aplica-se em cenários onde não há preferência por nenhum valor dentro de um intervalo de variação, adotando uma abordagem conservadora. A escolha da distribuição correta permite que a IM seja avaliada de forma mais realista, garantindo resultados mais precisos e interpretações clínicas mais seguras.(25)

3.4 Determinação do fator de expansão

De acordo com o Apêndice E do documento EA-4/02 e em conformidade com o GUM, o fator de expansão é escolhido tendo em consideração:

- O nível de confiança desejado (geralmente 95% ou 99%);
- O número de graus de liberdade efetivos da incerteza combinada e;
- A natureza da distribuição de probabilidade dos dados.

Quando a distribuição do mensuranda pode ser assumida como normal e a incerteza combinada tem suficiente fiabilidade, o valor $k = 2$ é convencionalmente utilizado para um nível de confiança de aproximadamente 95%. No entanto, quando o número de observações é reduzido ou quando as condições do teorema do limite central não se verificam, deve-se usar a fórmula de Welch-Satterthwaite para o cálculo dos graus de liberdade efetivos e, subseqüentemente, determinar o valor adequado de k .(25)

3.4.1 Graus de liberdade efetivos: fórmula de Welch-Satterthwaite

A fórmula de Welch-Satterthwaite permite calcular os graus de liberdade efetivos v_{eff} da incerteza combinada, considerando os graus de liberdade individuais dos componentes de incerteza. A fórmula é expressa como:

$$v_{\text{eff}} = \frac{(u(y))^4}{\sum_{i=1}^n \frac{(u_i(y))^4}{v_i}}$$

Equação 11

Onde $u(y)$ é a incerteza combinada do resultado; $u_i(y)$ é a incerteza padrão associada ao i -ésimo componente e v_i são os graus de liberdade associados a cada componente (para medições do tipo A, $v_i = n - 1$, sendo n o número de observações).

3.4.2 Valores do fator de expansão

De acordo com o EA-4/02, o fator de expansão k para um nível de confiança de 95% pode ser obtido

diretamente de tabelas que utilizam a distribuição t de Student. Abaixo estão alguns

exemplos de valores de k consoante os graus de liberdade efetivos (ver Tabela 2).

Tabela 2 - Valores de k estimados a partir da função T.INV.T2 com arredondamento superior à segunda casa decimal.

v_{eff}	k (95%)
1	12,7
2	4,3
3	3,2
4	2,8
5	2,6
6	2,5
7	2,4
8	2,3
9	2,3
10	2,23
20	2,09
30	2,04
50	2,01
∞	2,00

Se v_{eff} não for um número inteiro, deve ser arredondado para o valor inteiro inferior mais próximo antes de consultar a tabela (25).

3.4.3 Implementação em Excel®: Cálculo do fator de expansão

O Excel® (Redmond (WA): Microsoft Corporation; 2025.) (29) oferece ferramentas práticas para realizar os cálculos necessários à determinação do fator de expansão, incluindo funções estatísticas como T.INV.2T e T.INV. Passos para calcular k em Excel®:

- **Calcular a incerteza combinada**

Insira os valores individuais de incerteza padrão dos componentes.

Use a fórmula: =RAIZQUAD(SOMAQUAD(CELULAS_COM_VALORES_DE_INC))

- **Calcular os graus de liberdade efetivos**

Use a fórmula de Welch-Satterthwaite em Excel:

=(U_COMBINADA^4)/SOMA((U_COMPONENTES^4)/GRAUS_DE_LIBERDADE_COMPONENTES)

Onde U_COMBINADA é a incerteza combinada calculada e U_COMPONENTES e GRAUS_DE_LIBERDADE_COMPONENTES são os dados individuais de cada fonte de incerteza.

- **Obter o fator de expansão**

Utilize a função T.INV.2T para um nível de confiança de 95%:

=T.INV.2T(0,05;GRAUS_DE_LIBERDADE)

Exemplo: se $v_{\text{eff}} = 15$: =T.INV.2T(0,05;15)

Isto retorna $k \approx 2,131$.

- **Calcular a incerteza expandida**

Multiplique o fator de expansão pela incerteza combinada: =k*U_COMBINADA

A correta escolha do fator de expansão é essencial para garantir que os resultados das medições são comparáveis e aceites internacionalmente, especialmente em ambientes regulatórios. O uso de ferramentas como o Excel® simplifica o processo de cálculo, mas é crucial que os princípios subjacentes, especialmente os relacionados com os graus de liberdade efetivos e a distribuição estatística dos dados, sejam rigorosamente respeitados (29).

3.5 Adaptação à química analítica e introdução dos modelos empíricos (top-down) pela EURACHEM/CITAC e complementaridade com Eurolab e NORDTEST

A primeira edição do Guia EURACHEM para a Quantificação da Incerteza em Medições Analíticas (QUAM) foi publicada em 1995, tendo como principal objetivo fornecer orientação para a estimativa da IM em química analítica. Este guia seguiu os princípios estabelecidos pelo GUM.

No entanto, foi com a segunda edição, publicada em 2000 (50), que ocorreu uma transformação fundamental na forma de abordar a quantificação da incerteza em química. Esta versão incorporou, pela primeira vez, abordagens empíricas *top-down*, em contraste com a abordagem tradicional *bottom-up* preconizada pelo GUM. Este avanço foi um marco significativo, pois reconheceu que, para muitas medições laboratoriais, especialmente em química e no laboratório clínico, a decomposição detalhada de todas as fontes de incerteza (modelo modular *bottom-up*) era impraticável e, muitas vezes, impossível de implementar na prática.

O GUM baseia-se na construção de modelos matemáticos detalhados dos processos de medição, nos quais cada componente da incerteza é identificado e quantificado individualmente. Embora esta metodologia seja eficaz para medições físicas e metrológicas bem definidas, não se adapta à realidade dos métodos analíticos de rotina nos laboratórios clínicos, onde há fatores complexos e difíceis de modelar individualmente, tais como:

- **Variação biológica das amostras**, que não pode ser tratada como um simples erro instrumental;
- **Efeito matriz**, frequentemente imprevisível e variável de amostra para amostra e;
- **Influência dos procedimentos laboratoriais**, incluindo preparação de amostras e variações nos reagentes, cujos efeitos combinados são difíceis de quantificar separadamente.

A introdução dos modelos *top-down* na QUAM de 2000 foi crucial para permitir que laboratórios de química e laboratórios clínicos pudessem estimar a IM de forma realista e aplicável. Em vez de depender de uma modelação teórica detalhada, esta abordagem baseia-se na avaliação empírica da variabilidade observada nos próprios dados do laboratório, utilizando, por exemplo:

- **Estudos de validação de métodos**, onde a incerteza pode ser extraída diretamente do desempenho do método sob condições reais de uso;
- **Dados de controlo interno de qualidade (CQI)** para estimar a variabilidade intra-laboratorial e;
- **Resultados de AEQ** para avaliar a reprodutibilidade externa e a comparabilidade interlaboratorial.

Este enquadramento consolidou-se ainda mais com a terceira edição da QUAM (51), que incorporou novas diretrizes sobre a quantificação da incerteza perto de zero, o uso de métodos de Monte Carlo (52) e a utilização de dados de ensaios de proficiência para apoiar a estimativa da incerteza.

A qualidade dos resultados analíticos é um fator essencial para tomadas de decisão críticas, como a avaliação de rendimentos, certificação de materiais e, no contexto clínico, o diagnóstico e monitorização de doenças. Para garantir essa qualidade, os laboratórios devem implementar medidas robustas de garantia da qualidade, tais como:

- **Utilização de métodos validados** e verificação contínua do seu desempenho;
- **CQI**, que permite a monitorização contínua da precisão e exatidão dos ensaios e;
- **Participação em esquemas de AEQ**, garantindo a rastreabilidade e comparabilidade dos resultados entre diferentes laboratórios.

Além disso, a rastreabilidade dos resultados a padrões definidos, como as unidades do Sistema Internacional (SI), é fundamental para garantir a fiabilidade dos valores reportados. Neste contexto, a IM não é apenas um requisito normativo, mas uma ferramenta essencial para a interpretação dos resultados laboratoriais, assegurando que os valores reportados possuem um grau conhecido de confiança.

Com o reconhecimento da necessidade de abordagens *top-down*, a QUAM de 2000 e as suas edições subsequentes estabeleceram as fundações dos modelos de incerteza recomendados para o laboratório clínico, tornando-se um guia essencial para a implementação prática da IM em ambientes laboratoriais de rotina.

3.5.1 Relatório técnico No. 1/2007 da Eurolab

O Relatório Técnico No. 1/2007 da Eurolab *Measurement uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation* (53), publicado em março de 2007, constitui um documento fundamental para a compreensão e aplicação da IM em laboratórios de ensaio e calibração. Este guia complementa os princípios estabelecidos pelo GUM e apresenta abordagens alternativas, incluindo métodos *top-down* baseados no QUAM.

Destinado a profissionais que não sejam metrologistas, o documento simplifica conceitos essenciais e detalha os principais formatos para a estimação da IM. Estas abordagens permitem aos laboratórios selecionar metodologias adaptadas às suas especificidades e necessidades operacionais, garantindo conformidade com a norma ISO/IEC 17025. Os formatos principais para a estimação da IM incluem, similarmente ao QUAM, modelagem *bottom-up*, validação laboratorial, comparações interlaboratoriais e testes de avaliação externa da qualidade.

A relevância do Relatório Técnico No. 1/2007 da Eurolab reside na sua aplicação prática e complementaridade com outros guias internacionais, incluindo o ISO/TS 20914.

A Figura 4 apresenta um fluxograma para a seleção de abordagens adequadas à estimativa da IM em laboratórios clínicos, integrando princípios da metrologia aplicada às medições em saúde. O diagrama considera dois percursos distintos conforme a natureza da entidade responsável pela estimativa da incerteza: o fabricante (Investigação & Desenvolvimento - I&D) e o laboratório clínico.

No caso do fabricante, que segue uma abordagem modular, o processo inicia-se pela avaliação da viabilidade da aplicação do método de simulação de Monte Carlo. Este método é metrologicamente robusto, permitindo modelar a propagação da incerteza com base em distribuições probabilísticas dos diferentes componentes. Caso o método seja considerado praticável, proceder-se-á com a sua utilização. Se, por outro lado, a simulação de Monte Carlo não for viável, avalia-se a aplicabilidade do método das derivadas parciais, baseado na Lei da Propagação da Incerteza conforme descrito no GUM. Se este segundo método também não for exequível, a conclusão do processo é a indeterminação da IM, refletindo a ausência de condições metrológicas adequadas para a sua quantificação.

Para o laboratório clínico, que segue uma abordagem empírica, o fluxograma orienta a seleção do

método com base na disponibilidade de dados experimentais. Se existirem dados de controlo de qualidade interno de longo prazo, recomendar-se-á a utilização de comparações intralaboratoriais segundo a norma CLSI EP5-A3, que permite uma estimativa da imprecisão a partir de dados de rotina. Na ausência desses dados, procurar-se-á determinar se existem dados de validação (ou verificação) do método (curto prazo), optando-se então pela norma CLSI EP15-A3. Se também não estiverem disponíveis dados de validação, verifica-se a existência de estudos interlaboratoriais, preferencialmente com laboratórios de referência, como base para a estimativa da incerteza. Caso estas comparações interlaboratoriais não estejam disponíveis, a análise prossegue para verificar a existência de dados de AEQ, os quais podem servir como última alternativa empírica viável para a quantificação da incerteza.

No lado direito da figura encontra-se uma escala qualitativa representando a probabilidade de estimativa realista da incerteza, inversamente relacionada com o risco de subestimação da incerteza. Esta escala reforça a robustez crescente dos métodos do topo para a base, com os métodos metrológicos (como a simulação de Monte Carlo) a oferecerem maior fidelidade teórica, e os métodos empíricos a dependerem fortemente da disponibilidade e qualidade dos dados experimentais (53,54).

Esta estrutura metodológica visa promover a seleção fundamentada de modelos de incerteza, assegurando a rastreabilidade metrológica, a conformidade regulatória, e a segurança dos resultados laboratoriais em contextos clínicos.

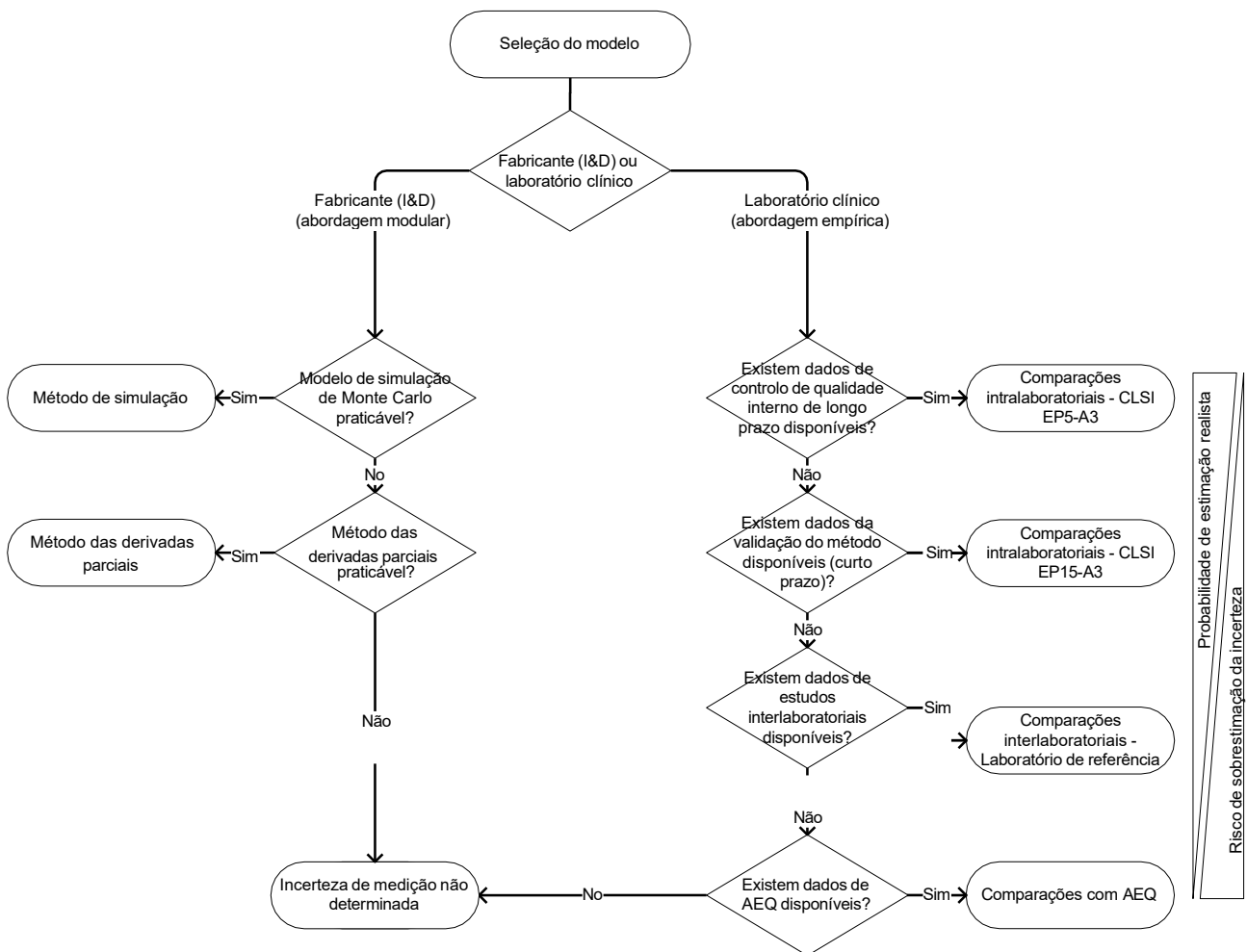


Figura 4 - Itinerário metodológico para a estimativa da incerteza (adaptado de (30)).

3.5.2 Guia TR 537 da NORDTEST

Outro documento essencial na área da IM é o Nordtest TR 537 *Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty in Environmental Laboratories* (55), cuja 4.^a edição foi publicada em 2017. Apesar de ter sido desenvolvido para laboratórios ambientais, as suas metodologias são replicáveis em laboratórios clínicos. Este guia é provavelmente o documento mais acessível para técnicos que se iniciam na estimativa da IM, pois fornece abordagens *top-down* pragmáticas e de fácil implementação, sendo complementar ao QUAM e Relatório Técnico No. 1/2007 da Eurolab.

O Nordtest TR 537 utiliza dados empíricos de controlo de qualidade para estimar a IM. A sua edição mais recente inclui melhorias como uma nova seção sobre incerteza ao longo da gama de medição e o uso do desvio padrão agrupado (*pooled*). O manual cobre todas as fases da cadeia analítica, desde a chegada da amostra até à comunicação dos resultados analíticos, excluindo apenas as incertezas associadas à amostragem e transporte.

A IM resulta de várias fontes que influenciam a medição, tais como a amostragem, a calibração dos instrumentos, o desempenho do equipamento, as condições ambientais, os fatores humanos,

os métodos e procedimentos, as propriedades do material, o tratamento de dados, as normas de referência e as influências externas (55).

O guia enfatiza a importância da IM para diversos intervenientes, incluindo:

- **Clientes**, facilita a compreensão da exatidão dos resultados;
- **Laboratórios de ensaio** através do suporte na declaração de incerteza em certificados de calibração e medições internas e;
- **Acreditação** dado cumprir com os requisitos da ISO/IEC 17025 na estimativa e aplicação da IM, os quais são transversais com os ISO 15189 e ISO/TS 20914.

A relevância da Nordtest TR 537 reside na sua aplicação prática e complementaridade com outros guias internacionais, incluindo o ISO/TS 20914:2019. Este documento fornece uma estrutura robusta para a incorporação da IM nos laboratórios clínicos, alinhando-se com as exigências normativas.

O software MUKIT (56), de acesso gratuito, transpõe para uma ferramenta computacional as abordagens apresentadas no Nordtest TR 537, permitindo a estimativa da IM com base em dados de controlo de qualidade. A IM é expressa como U , a incerteza expandida, utilizando um fator de expansão $k = 2$, garantindo um nível de confiança de aproximadamente 95%.

3.6 Aplicação clínico-laboratorial da incerteza de medição

3.6.1 Guia do *National Pathology Accreditation Advisory Council*

A estimativa da IM é um princípio fundamental na metrologia aplicada aos laboratórios clínicos, garantindo que os resultados analíticos sejam confiáveis e adequados para a tomada de decisão clínica. A implementação deste conceito na medicina laboratorial teve como um dos seus principais marcos a publicação do documento *Requirements for the Estimation of Measurement Uncertainty* pelo *National Pathology Accreditation Advisory Council* (NPAAC) em 2007 (34). Este guia, desenvolvido no âmbito da padronização metrológica dos exames laboratoriais, consolidou-se como uma referência fundamental para a implementação da IM, sendo ainda hoje amplamente citado e utilizado por profissionais da área.

A importância deste documento advém da sua abordagem abrangente, estabelecendo diretrizes para a quantificação da IM em diversas análises laboratoriais, incluindo hematologia, bioquímica, microbiologia e imunologia. O guia enfatiza a necessidade de rastreabilidade metrológica e de uma estimativa rigorosa da incerteza associada a cada medição, garantindo que os resultados laboratoriais possam ser interpretados com um grau conhecido de confiança.

Além disso, um dos aspectos mais inovadores do documento foi a introdução da variação biológica como um elemento crítico na avaliação da IM. Este conceito reforça que a incerteza associada aos exames laboratoriais não deve ser analisada apenas sob a perspectiva da precisão e exatidão analítica, mas também em relação à variabilidade biológica inerente dos analitos no organismo humano. Esse princípio tem sido amplamente incorporado nas diretrizes internacionais subsequentes, como as normas ISO 15189 e os documentos do CLSI.

a) Princípios Fundamentais do Guia do NPAAC

O documento do NPAAC estabelece uma estrutura metodológica para a estimativa e interpretação da IM, organizando-se em princípios fundamentais que moldaram a forma como a incerteza é avaliada em laboratórios clínicos. Entre esses princípios, destacam-se:

- **Diferenciação entre IM e erro sistemático** O guia sustenta que a IM está relacionada com a dispersão esperada dos resultados analíticos devido a variáveis aleatórias, enquanto o erro sistemático representa um desvio previsível e corrigível. A distinção entre esses conceitos é essencial para uma avaliação adequada da qualidade analítica.
- **Rastreabilidade metrológica e padronização dos ensaios laboratoriais** A rastreabilidade é um princípio-chave na metrologia laboratorial, garantindo que os resultados obtidos em diferentes laboratórios possam ser comparáveis. O guia enfatiza a importância de calibradores e materiais de referência certificados para assegurar essa rastreabilidade.
- **Métodos para a estimativa da IM** O documento apresenta abordagens quantitativas para a estimativa da incerteza, destacando os métodos *bottom-up* (avaliação individualizada de cada fonte de incerteza) e *top-down* (uso de dados de controle de qualidade interno e externo). A abordagem recomendada depende das características do ensaio e da disponibilidade de dados analíticos.
- **Incorporação da incerteza na interpretação clínica dos resultados** A IM deve ser levada em consideração na interpretação dos resultados laboratoriais, especialmente em análises quantitativas utilizadas para o seguimento (*follow-up*) de condições clínicas e tomada de decisão diagnóstica.

b) A Variação Biológica como Componente Essencial na Estimativa da Incerteza de Medição

Uma das contribuições mais relevantes do guia do NPAAC é a incorporação da variação biológica como um fator determinante na avaliação da IM. Em exames laboratoriais, a concentração dos

mensurandas pode variar naturalmente dentro de um indivíduo (variação biológica intraindividual) ou entre indivíduos de uma população (variação biológica interindividual). Essa variabilidade pode ser tão ou mais significativa que a própria variação analítica, influenciando a interpretação dos resultados clínicos.

O conceito de variação biológica foi introduzido no contexto da IM como um critério para definir metas de desempenho analítico (57). Segundo a abordagem proposta no documento, a incerteza associada a um exame laboratorial deve ser comparada com a variabilidade biológica do mensuranda correspondente, garantindo que a precisão do método seja adequada para a sua aplicação clínica. Esse princípio fundamenta-se nos seguintes aspectos:

- **Definição de metas de desempenho** A precisão analítica deve ser suficiente para que a incerteza da medição não obscureça a variação real do mensuranda no paciente. Para isso, muitos laboratórios adotam a abordagem baseada na fração da variação biológica intraindividual para estabelecer um limite máximo aceitável para a IM.
- **Interpretação de resultados próximos aos valores de decisão clínica** Para análises quantitativas utilizadas no diagnóstico ou monitorização de doenças, a incerteza do método deve ser conhecida para evitar a interpretação errônea de pequenas flutuações nos resultados. Por exemplo, um aumento marginal na creatinina sérica pode ser irrelevante se estiver dentro da variação biológica esperada.
- **Comparação entre resultados laboratoriais** A introdução da variação biológica na estimativa da IM permite uma avaliação mais robusta da reprodutibilidade dos resultados, especialmente quando diferentes laboratórios ou metodologias são utilizados.

c) Impacto e Continuidade do Guia na Prática Laboratorial

Desde a sua publicação em 2007, o guia do NPAAC tem sido amplamente utilizado como referência na implementação da IM em laboratórios clínicos, influenciando diretrizes internacionais e sendo citado em diversas publicações científicas. Sua importância pode ser observada em diversos aspectos:

- **Base para normas internacionais** - O documento serviu como referência para a elaboração e atualização de normas como a ISO 15189 e para documentos técnicos do CLSI sobre IM e validação de ensaios laboratoriais.
- **Aplicação na acreditação e regulamentação laboratorial** - Muitos sistemas de acreditação laboratorial exigem que a IM seja estimada para exames quantitativos, seguindo princípios estabelecidos pelo NPAAC. O documento permanece uma referência

essencial para laboratórios que buscam conformidade com padrões internacionais de qualidade.

- **Evolução da abordagem da IM** - Embora o conceito de IM continue a evoluir com o desenvolvimento de novas tecnologias analíticas e metodologias estatísticas, os princípios estabelecidos pelo guia continuam a ser fundamentais para a implementação de práticas metrológicas robustas no ambiente laboratorial.

O documento *Requirements for the Estimation of Measurement Uncertainty* do NPAAC representa um marco na padronização da estimativa de IM no laboratório clínico, fornecendo diretrizes essenciais para a quantificação da IM e sua aplicação na interpretação dos resultados laboratoriais. A sua contribuição mais significativa reside na incorporação da variação biológica como um fator crítico na avaliação da IM, assegurando que a precisão analítica seja adequada para a realidade fisiológica dos pacientes (34).

3.6.2 Guia EP 29 do Clinical and Laboratory Standards Institute

O documento CLSI EP29-A (58) foi concebido para ser um guia técnico destinado ao uso tanto pelos laboratórios clínicos como por outras partes interessadas (*stakeholders*), incluindo fabricantes de IVD-MD e organismos de regulamentação. A sua abordagem metodológica combina os princípios *bottom-up* e *top-down*, permitindo uma análise estruturada dos diferentes componentes de variabilidade nos ensaios laboratoriais.

A abordagem *bottom-up* parte da análise detalhada dos componentes individuais da variabilidade analítica, decompondo a IM em fatores específicos e controláveis dentro do laboratório. Por outro lado, a abordagem *top-down* considera a variabilidade global observada nos resultados, sendo mais orientada para a avaliação empírica do desempenho do teste em condições reais de utilização. Esta combinação teórica deveria proporcionar uma visão abrangente e prática sobre a incerteza dos ensaios laboratoriais, permitindo a sua aplicação tanto na validação como no controlo de qualidade dos métodos analíticos (58).

No entanto, um dos principais desafios enfrentados por este guia foi o seu elevado grau de complexidade estatística, o que acabou por limitar a sua adoção prática tanto pelos laboratórios clínicos como pelos fabricantes de IVD-MD. A necessidade de um conhecimento aprofundado de estatística aplicada e a exigência de cálculos detalhados tornaram a sua implementação difícil, especialmente em ambientes laboratoriais com recursos limitados. Consequentemente, a aceitação do CLSI EP29-A foi reduzida, e o seu impacto prático não correspondeu às expectativas iniciais.

A falta de popularidade do documento evidenciou a necessidade de uma revisão substancial,

tornando-o mais acessível sem comprometer o rigor técnico. Um guia mais simplificado, com exemplos práticos e instruções mais intuitivas, poderia facilitar a sua implementação no dia a dia dos laboratórios e dos fabricantes, garantindo uma melhor aplicabilidade dos seus princípios.

Devido a estas limitações e à evolução das normas e diretrizes no setor do diagnóstico *in vitro*, o CLSI decidiu tornar o EP29-A um documento retirado, ou seja, deixou de ser considerado um documento ativo dentro do conjunto de normas e recomendações da instituição. No entanto, mesmo após esta decisão, o documento continua a ser de acesso público, podendo ser adquirido por qualquer interessado que deseje compreender a abordagem adotada para a avaliação da variabilidade nos ensaios laboratoriais.

Embora não esteja mais em vigor como uma recomendação oficial do CLSI, o EP29-A ainda pode ser uma referência útil para quem deseja aprofundar-se na caracterização da IM em análises laboratoriais, especialmente no contexto da validação de métodos e na conformidade com regulamentos como o IVDR (Regulamento (UE) (59)). O seu conteúdo pode fornecer *insights* valiosos para laboratórios e fabricantes que buscam melhorar a precisão e a confiança dos seus ensaios, mesmo que seja necessário adaptar os seus conceitos às novas realidades normativas e operacionais.

Dessa forma, apesar das suas limitações e da sua descontinuação como norma oficial, o CLSI P29-A continua a ser um documento técnico relevante, cujo impacto pode ser recuperado e melhorado através de futuras revisões e adaptações às necessidades do setor.

3.7 International Organization for Standardization/Technical Standard 20914

A ISO/TS 20914:2019 estabelece diretrizes práticas para a estimativa da IM nos laboratórios clínicos, garantindo que os valores quantitativos reportados possuam informações precisas sobre sua variabilidade. Esta especificação técnica é um complemento essencial à ISO 15189. No presente é a principal referência para a estimativa da IM no laboratório clínico (19).

3.7.1 Introdução e Contexto

A ISO/TS 20914:2019 fornece uma abordagem estruturada para estimar a IM, auxiliando laboratórios a identificarem fontes de incerteza e garantirem que seus processos de medição são consistentes com os requisitos clínicos. A ISO/TS 20914 fornece uma metodologia robusta para a estimação da incerteza em laboratórios clínicos. As vantagens incluem padronização global, melhoria na comparação de resultados entre laboratórios e maior transparência para tomadores de decisão médicos. No entanto, desafios persistem, como a necessidade de treinamento especializado, coleta de dados adequados e revisão contínua das estimativas de incerteza.

A implementação da norma requer compromisso com boas práticas laboratoriais e integração com processos de gestão da qualidade, garantindo que os resultados laboratoriais sejam confiáveis e clinicamente significativos (19).

3.7.2 Conceitos fundamentais

Os princípios fundamentais que suportam a ISO/TS 20914 incluem:

- Utilização da abordagem *top-down* baseada em dados empíricos coletados no laboratório;
- Consideração da precisão analítica (curto e longo prazo) e incerteza dos calibradores;
- Não é recomendada a inclusão de incerteza nos resultados de rotina, mas esta deve estar disponível quando solicitada;
- Identificação de fontes de incerteza em todas as fases do processo laboratorial e,
- Implementação de técnicas estatísticas apropriadas para quantificar incertezas.

3.7.3 Aplicabilidade e limitações

A norma técnica é aplicável a exames laboratoriais quantitativos e qualitativos que incluam uma etapa de medição, tais como nos exames binários ordinais, por exemplo, rastreio de anticorpos do vírus da hepatite C por imunoensaio ou reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real (19). Para testes puramente qualitativos sem medição numérica direta, a norma não se aplica, como nos exames binários nominais, por exemplo, grupo ABO por aglutinação ou rastreio de anticorpos por teste imunocromatográfico de fluxo lateral (LFIA - *Lateral Flow Immunoassay*). Análoga com os guias NPAAC (ver 3.7.1) e CLSI (ver 3.7.2, a norma também estabelece que a IM pode ser influenciada por diversos fatores, tais como:

- Imprecisão da medição (repetibilidade e reprodutibilidade);
- Viagens ao longo da hierarquia de calibração;
- Mudanças de lotes de reagentes e calibradores;
- Erros sistemáticos e *bias*;
- Mudanças ambientais e condições operacionais.

A ISO/TS 20914 não cobre fontes de incerteza relacionadas a processos pré e pós-analíticos, como variações na colheita de amostras, transporte ou armazenamento.

3.7.4 Modelos matemáticos e estimativa da incerteza

A estimativa da IM deve basear-se em modelos estatísticos adequados, que permitam quantificar a variabilidade dos resultados laboratoriais. A norma recomenda a utilização de abordagens que combinem a incerteza associada à precisão analítica e a incerteza dos calibradores utilizados no processo de medição (19).

a) Cálculo da incerteza de precisão a longo prazo

A precisão a longo prazo é uma das principais componentes da incerteza total de medição (54). Esta pode ser estimada pela equação da variância:

$$u_{Rw} = \sqrt{DP_r^2 + DP_R^2}$$

Equação 12

DP_r é o desvio-padrão em condições de repetibilidade, DP_R é o desvio-padrão em condições de reprodutibilidade.

b) Incerteza do *bias* e significância estatística

A estimativa do *bias* (erro de justeza)(28) pode ser obtida através da comparação dos resultados do ensaio com um valor de referência, que pode ser uma média de um grupo de laboratórios num programa de AEQ, uma referência certificada, ou um método de medição de maior hierarquia metrológica. O *bias* é um componente da incerteza que deve ser considerada quando há uma diferença significativa entre os resultados laboratoriais e um valor de referência aceito. A incerteza da justeza pode ser calculada por:

$$u_{bias} = \sqrt{\left(\frac{DP_{bias}}{\sqrt{n}}\right)^2 + u_{ref}^2}$$

Equação 13

Onde DP_{bias} é o desvio-padrão dos valores observados em relação ao valor de referências, n é o número de medições e u_{ref} é a incerteza da referência utilizada para a comparação.

No entanto, para aplicar a correção da justeza, é necessário considerar a incerteza associada a essa estimativa. Assim, para determinar se a justeza é significativa, a poder-se-á utilizar o teste estatístico de t de Student, aplicando a seguinte equação:

$$t = \frac{|bias|}{u_{bias}}$$

Equação 14

onde *bias* é a média das diferenças entre os valores medidos e o valor de referência e u_{bias} é a incerteza do *bias*.

O valor de *t* obtido é comparado com o valor crítico de *t* tabelado para um nível de confiança de 95% e graus de liberdade correspondentes. Se *t* for superior ao valor crítico, o *bias* é considerado estatisticamente significativo e deve ser corrigido.

A ISO/TS 20914 sugere que o *bias* de medição é considerado estatisticamente significativo se for cumprida a seguinte condição:

$$|x_{ref} - x_{lab}| > 2u_{bias}$$

Equação 15

Se essa desigualdade for satisfeita, o *bias* deve ser considerado significativo e pode ser necessário aplicar uma correção. Caso contrário, pode ser considerado insignificante do ponto de vista estatístico e não ser necessário corrigir, sendo considerado nulo da estimativa da incerteza combinada.

c) Correção do *bias*

A identificação de *bias* de medição clinicamente inaceitável pode ser realizada por meio da vigilância de AEQ, desde que os programas correspondentes cumpram requisitos técnicos específicos, conforme descrito.

Na ausência de resolução por parte do fabricante, o laboratório pode optar pela introdução de um fator de correção.

Neste contexto, a incerteza associada ao fator de correção, denotada como:

$$bias = y - x = (a + b \cdot x) - x$$

Equação 16

deve ser devidamente estimada e incorporada ao cálculo da incerteza combinada. Vale ressaltar que algumas regulamentações nacionais não permitem o uso de fatores de correção de *bias* (18,29).

Antes de implementar qualquer procedimento de correção, é fundamental avaliar a significância do *bias* e confirmar sua existência. A correção de um *bias* estatisticamente insignificante ou clinicamente irrelevante representa um uso ineficiente de recursos, tanto em termos de tempo quanto de custos. Em casos de *bias* significativo, recomenda-se a realização de uma análise de causa raiz; na impossibilidade de identificação da causa, não se recomenda a correção, devendo o

bias ser aceite e incorporado nas informações analíticas reportadas. Caso o *bias* seja considerado significativo e clinicamente relevante, deve-se buscar a sua eliminação mediante a modificação dos métodos utilizados. Se a eliminação não for viável, deve-se então proceder com um protocolo de correção (60–62).

Procedimento de Correção do *Bias*

A correção pode ser realizada mediante a transformação dos resultados obtidos no "novo teste" (y) para os resultados equivalentes do "teste comparativo" (x) por meio da equação da reta, conforme descrito:

$$y = a + b \times x$$

Equação 17

Métodos de Regressão para Estimativa do *Bias*

Regressão Linear Simples

- Assume distribuição normal dos dados (modelo paramétrico).
- Considera erro aleatório apenas nas medições de y , não sendo, portanto, o modelo ideal para aplicações em biologia e saúde.
- Em casos onde o erro aleatório varia significativamente ao longo da gama de resultados (violação da suposição de homocedasticidade), deve-se empregar a regressão ponderada (60).

Regressão de Deming

- Assume distribuição normal dos dados (modelo paramétrico).
- Utiliza a razão entre as variâncias analíticas
- Considera erro aleatório em ambas as variáveis, x e y .
- Assim como na regressão linear simples, em situações de heterocedasticidade, recomenda-se o uso de um modelo ponderado (61)

Regressão de Passing-Bablok

- Trata-se de um método não paramétrico, não sensível à distribuição dos dados.
- Assume a presença de variabilidade em ambas as variáveis x e y .
- Não impõe requisitos quanto à distribuição das amostras.
- Apresenta maior robustez frente a valores discrepantes (*outliers*).

- É o modelo recomendado para a comparação de resultados emparelhados em laboratórios clínicos (62)

d) Incerteza do calibrador

Os calibradores possuem incertezas inerentes à sua certificação. A incerteza do calibrador é expressa como:

$$u_{\text{cal}} = \frac{U_{\text{certificado}}}{k}$$

Equação 18

onde $u_{\text{certificado}}$ é a incerteza fornecida pelo fabricante do calibrador e k é o fator de expansão.

e) Incerteza combinada

A incerteza total pode ser obtida pela combinação das incertezas individuais através da soma das variâncias:

$$u_y = \sqrt{u_{\text{Rw}}^2 + u_{\text{bias}}^2 + u_{\text{cal}}^2}$$

Equação 19

onde u_{bias} representa a incerteza do *bias*, se aplicável.

e) Incerteza expandida

A incerteza expandida é calculada aplicando um fator de expansão (ver Equação 7) onde $k = 2$ para um intervalo de confiança de aproximadamente 95% (ver 3.4.3).

Se um laboratório decidir aplicar uma correção ao *bias*, a incerteza total da medição deve ser recalculada considerando a incerteza do *bias* corrigido, se significativo (ver 3.8.4 b)) (60–62)

3.8 Fatores de interferência na estimativa da incerteza

3.8.1 Interferentes nas medições laboratoriais: Uma visão geral

A precisão e exatidão das medições realizadas em laboratórios clínicos são fundamentais para o diagnóstico, monitorização e tratamento de diversas condições clínicas. No entanto, diversos fatores podem interferir nos resultados dos exames laboratoriais, comprometendo a sua confiabilidade. Estes fatores, conhecidos como interferentes, podem ser classificados em pré-analíticos e analíticos, dependendo do momento em que atuam no processo laboratorial. Além disso, interferentes podem ser de origem endógena (resultantes das características

fisiopatológicas do paciente) ou exógena (derivados de medicamentos ou aditivos laboratoriais) (60–62)

3.8.2 Interferentes pré-analíticos

A fase pré-analítica compreende todas as etapas que antecedem a análise laboratorial, incluindo a preparação do paciente, a colheita da amostra, o armazenamento e o transporte. De acordo com estudos, erros nesta fase representam cerca de 70% dos erros laboratoriais totais, tornando-se um dos principais desafios para garantir resultados confiáveis (63)

Os principais interferentes pré-analíticos incluem:

- **Hemólise** - A destruição dos eritrócitos durante ou após a colheita libera hemoglobina e outros constituintes celulares no plasma, podendo alterar significativamente os resultados de diversos parâmetros.
- **Lipémia** - A presença excessiva de triglicerídeos no sangue confere uma aparência lipêmica ao soro ou plasma e pode interferir na medição de substâncias por espectrofotometria.
- **Icterícia** - Bilirrubina elevada pode competir com a absorção de luz em métodos espectrofotométricos, levando a erros na quantificação de analitos.
- **Fatores do paciente** - O jejum inadequado, o consumo de álcool, o exercício físico intenso, a desidratação e a administração de medicamentos podem alterar a composição química da amostra.
- **Condições inadequadas de colheita** - Uso de agulhas de calibre inadequado, tempo prolongado de garroteamento e técnica incorreta de punção venosa podem afetar a integridade da amostra.

3.8.3 Interferentes analíticos

Os interferentes analíticos afetam diretamente o processo de medição dos analitos no laboratório. Estes podem resultar da metodologia empregada, de interações químicas inesperadas ou da presença de substâncias que mimetizam os analitos-alvo (64,65).

Entre os principais interferentes analíticos, destacam-se:

- **Reações cruzadas** - Algumas substâncias podem reagir de forma inespecífica nos ensaios laboratoriais, levando a falsos positivos ou falsos negativos.

- **Presença de paraproteínas** - Doenças como o mieloma múltiplo podem levar à acumulação de proteínas anómalas, interferindo em diversos testes laboratoriais.
- **Substâncias exógenas** - Medicamentos, radiologia e aditivos laboratoriais podem interferir na medição dos mensurandas, causando *bias* nos resultados.
- **Diferenças metodológicas** - Técnicas diferentes para a mesma medição podem apresentar sensibilidades distintas a interferentes, levando a resultados discrepantes (63).

3.8.4 Interferentes na determinação laboratorial da hemoglobina (g/dL)

a) Interferentes pré-analíticos na medição da hemoglobina

- **Hemólise** - A hemoglobina livre liberada dos eritrócitos pode levar a uma sobrestimação da concentração de hemoglobina medida. Este efeito é particularmente relevante em métodos fotométricos que não distinguem entre hemoglobina intracelular e extracelular.
- **Lipémia** - O aumento da turbidez da amostra pode interferir na leitura ótica, levando a erros na quantificação da hemoglobina.
- **Icterícia** - A presença de bilirrubina elevada pode causar interferência espectrofotométrica, resultando em leituras incorretas.
- **Diluição inapropriada da amostra** - Em métodos que requerem diluição manual ou automática, erros na preparação podem levar a medições erradas.
- **Colheita inadequada** - Garroteamento excessivo ou uso de tubos inadequados podem alterar a composição da amostra, afetando a medição da hemoglobina (63,66,67)

b) Interferentes analíticos na medição da hemoglobina

- **Presença de variantes de hemoglobina** - Hemoglobinas anormais, como HbS (anemia falciforme) e HbC, podem interferir na medição de hemoglobina, dependendo do método utilizado.
- **Reações cruzadas** - Algumas substâncias presentes no sangue podem interferir nos reagentes utilizados para a medição da hemoglobina, causando desvios na leitura.
- **Instrumentação inadequada** - Equipamentos não calibrados corretamente ou com contaminação interna podem comprometer a precisão dos resultados (64,67)

3.8.5 Mitigação dos interferentes na medição da hemoglobina

Para minimizar os impactos dos interferentes na determinação da hemoglobina, as seguintes medidas devem ser adotadas:

- **Garantia da qualidade pré-analítica** - Implementação de protocolos rigorosos para a colheita, armazenamento e transporte das amostras, minimizando riscos de hemólise e degradação.
- **Utilização de metodologias robustas** - Métodos de medição que possuam mecanismos de compensação para interferentes devem ser preferidos, sempre que possível.
- **Controlo de qualidade interno e externo** - O uso de materiais de controlo e a participação em programas de proficiência auxiliam na deteção precoce de erros sistemáticos nos ensaios laboratoriais.
- **Interpretação contextualizada dos resultados** - Resultados discrepantes devem ser correlacionados com o quadro clínico do paciente e, se necessário, repetir a análise ou utilizar metodologia alternativa (63–65,68).

3.9 Avaliação da incerteza de medição com base em dados de variação biológica e a sua integração com a ISO/TS 20914

A IM constitui um parâmetro metrológico essencial na avaliação da qualidade dos resultados laboratoriais, refletindo a confiança atribuída a uma medição e sustentando decisões clínicas baseadas em dados quantitativos. A sua correta estimativa e comunicação são requisitos fundamentais da ISO 15189, sendo reforçados pela norma técnica ISO/TS 20914, que apresenta diretrizes práticas para a sua determinação em laboratórios médicos. Este documento normativo reconhece a diversidade de contextos laboratoriais e oferece uma abordagem pragmática, balanceando os princípios da metrologia com a realidade empírica dos laboratórios clínicos (13,18,57)

Entre os diferentes métodos de incerteza máxima permitida (MAU) contemplados na ISO/TS 20914, destaca-se a abordagem baseada em dados de variação biológica (VB) como uma alternativa cientificamente robusta e clinicamente relevante, sobretudo nos casos em que os dados experimentais do próprio laboratório (como os de validação ou controlo interno de qualidade) sejam escassos, limitados ou não representativos. Esta abordagem permite calcular objetivos de desempenho analítico e limites de incerteza aceitáveis com base na biologia humana em vez de depender exclusivamente de condições operacionais locais (13,18,57)

A base de dados de VB disponibilizada pela EFLM, acessível em <https://biologicalvariation.eu/>, representa atualmente a fonte mais abrangente, sistematizada e criticamente validada de dados de VB para mensurandas laboratoriais. Esta plataforma compila dados extraídos de literatura científica, submetidos a critérios rigorosos de avaliação metodológica, conforme o *checklist* BIVAC (Biological Variation Data Critical Appraisal Checklist), conferindo-lhes elevada credibilidade científica.

A EFLM disponibiliza, para cada mensuranda, os coeficientes de variação intraindividual (CV), interindividual (CV_g), bem como a razão índice de individualidade (II), e, quando aplicável, os valores de desvio padrão da variabilidade analítica (CV_a). Estes parâmetros são cruciais não apenas para a interpretação clínica dos resultados (nomeadamente na definição de variações significativas), mas também para a estimação da IM com base em modelos populacionais.

No contexto da ISO/TS 20914, particularmente na sua secção 5.2, a norma recomenda a utilização da VB para derivar limites de incerteza aceitáveis. Esta abordagem assume que o erro associado à medição deve ser inferior a um determinado limiar baseado na variabilidade biológica do mensuranda. Uma aplicação prática é a derivação de objetivos de desempenho analítico propostos por Fraser e colaboradores, onde a incerteza total aceitável pode ser expressa como uma fração da variação intraindividual:

- **Objetivo mínimo de desempenho analítico**

$$u_{\text{total mínimo}} \leq 0,5 \times CV_i$$

Equação 20

- **Objetivo desejável de desempenho analítico**

$$u_{\text{total desejável}} \leq 0,375 \times (CV_i^2 + CV_g^2)^{0,5}$$

Equação 211

- **Objetivo ótimo de desempenho analítico**

$$u_{\text{total ótimo}} \leq 0,25 \times (CV_i^2 + CV_g^2)^{0,5}$$

Equação 222

onde CV_i é o coeficiente de variação intraindividual e CV_g é o coeficiente de variação interindividual.

Estes critérios são particularmente úteis para mensurandas com baixa individualidade biológica (II < 0,6), em que a comparação com valores de referência populacionais se torna menos informativa. Nestes casos, assegurar baixos níveis de incerteza é fundamental para garantir a

deteção de variações clínicas relevantes num mesmo indivíduo.

Para além disso, a ISO/TS 20914 salienta a importância de a estimativa da incerteza estar devidamente documentada, rastreável e, idealmente, atualizada com base em dados científicos atuais. A base da EFLM satisfaz estes requisitos, ao oferecer dados com revisão sistemática, intervalos de confiança e data da última atualização, promovendo a reprodutibilidade e transparência dos cálculos.

A integração dos dados da EFLM com a ISO/TS 20914 proporciona ainda vantagens metodológicas adicionais:

- Permite harmonizar critérios de qualidade analítica entre laboratórios, promovendo a comparabilidade interlaboratorial.
- Estabelece uma ligação direta entre a IM e a utilidade clínica do resultado laboratorial.
- Serve de base para a avaliação contínua da qualidade analítica e para a definição de especificações de desempenho para IVD-MD (dispositivos médicos de diagnóstico in vitro), particularmente na fase de conceção e validação.

Contudo, é importante reconhecer que a abordagem baseada em VB não substitui dados experimentais locais sempre que estes estejam disponíveis e sejam de qualidade. A ISO/TS 20914 incentiva a integração de ambas as fontes de informação, propondo uma avaliação por camadas em que os dados do próprio laboratório têm prioridade, seguidos pelos dados de variação biológica como complemento ou substituto justificado.

Finalmente, a utilização de dados de VB para estimar a incerteza deve ser contextualizada à luz do modelo de medição, da finalidade clínica do teste, e da população alvo, garantindo que as suposições feitas são adequadas ao contexto operacional. Recomenda-se que os laboratórios mantenham registos documentados do raciocínio seguido, dos valores utilizados, das fontes de dados e dos cálculos efetuados, de forma a garantir conformidade com auditorias internas e externas, e assegurar a confiança dos utentes, clínicos e organismos reguladores.

Atualmente, existem três modelos principais para o cálculo das especificações de desempenho analítico, baseados em estudos de desfechos diretos e indiretos VB e estado da arte.

A VB representa a expressão da regulação homeostática no organismo humano e constitui um parâmetro fundamental na definição de metas de desempenho analítico, especialmente para mensurandas com concentrações estáveis.

Nos últimos anos, foram desenvolvidas três abordagens metodológicas para a estimativa dos

componentes da VB: o método CV-ANOVA, a abordagem Bayesiana e a mineração de dados provenientes de laboratórios clínicos. O método CV-ANOVA promove a normalização dos dados e permite estimativas robustas da variação analítica e da variação intraindividual.

A abordagem Bayesiana, por sua vez, apresenta maior resistência a observações extremas e não pressupõe a normalidade dos dados, o que a torna particularmente útil em contextos com distribuição assimétrica ou presença de *outliers*. Já a mineração de dados laboratoriais representa uma alternativa inovadora, com potencial para ampliar a base de dados e refinar as estimativas de BV com base em populações reais e de grande escala (13,18,57).

3.10 Fluxograma recomendado pela ISO/TS 20914

A Figura 5 representa um fluxograma lógico que orienta a construção da estimativa combinada da IM (u_V), integrando componentes obtidos experimentalmente pelo laboratório e, quando necessário, dados fornecidos pelo fabricante do IVD-MD (18,57)

O ponto de partida do fluxograma consiste na definição do mensuranda (por exemplo, a concentração de hemoglobina) e da MAU, que pode ser derivada de critérios clínicos, regulamentares ou de desempenho analítico com base em VB. Esta definição inicial é crítica, pois estabelece o quadro de referência para a aceitabilidade da incerteza calculada.

Em seguida, procede-se ao cálculo da componente de repetibilidade, que corresponde à variação observada em medições repetidas sob condições de repetibilidade. Este valor pode ser obtido, por exemplo, a partir de estudos internos de verificação de precisão (como os preconizados no CLSI EP15-A3), ou através da análise de dados históricos de CQI. Esta componente é sempre requerida e constitui a base mínima da incerteza total (18,19,52)

O passo seguinte envolve a obtenção da componente de incerteza associada à calibração. A ISO/TS 20914 reconhece que esta informação pode não estar disponível diretamente no laboratório e, por isso, recomenda que se solicite ao fabricante do sistema analítico. Esta componente reflete a incerteza atribuída ao processo de calibração do sistema, incluindo incertezas do padrão de referência e do próprio processo de calibração implementado no IVD-MD.

Se a u_{cal} não estiver disponível, a norma permite que se utilize apenas u_{RW} no cálculo da IM. Por outro lado, se u_{cal} estiver disponível, esta deve ser combinada com a componente de repetibilidade (18,57).

Contudo, para que a estimativa da incerteza seja clinicamente válida, é necessário considerar a presença de um *bias*. O fluxograma introduz, portanto, um ponto de decisão crucial: o *bias* é clinicamente significativo? Se o *bias* não for clinicamente significativo, por exemplo, se estiver

dentro de limites estabelecidos com base em VB ou outros critérios de desempenho, então pode ser ignorado na estimativa final da incerteza. Se, pelo contrário, o *bias* for clinicamente significativo, deve ser verificado se pode ser corrigido pelo fabricante, por exemplo, por meio de atualizações de *firmware*, calibração ajustada ou outras medidas corretivas. Caso o fabricante corrija o *bias*, a estimativa da incerteza mantém-se sem a sua inclusão, assumindo que a correção elimina a componente sistemática.

Se o *bias* for clinicamente relevante e não puder ser corrigido pelo fabricante, o laboratório deve proceder à estimativa da componente de incerteza associada ao *bias*, incorporando-a na incerteza combinada. Esta inclusão é metrologicamente justificada pelo facto de o *bias*, sendo sistemático, afetar consistentemente os resultados e, conseqüentemente, comprometer a exatidão analítica. A ISO/TS 20914 recomenda que o laboratório assuma responsabilidade por essa avaliação, utilizando dados de comparação com materiais de referência certificados, ensaios interlaboratoriais/EQA ou mesmo resultados de validação inicial do método.

Do ponto de vista clínico, esta abordagem oferece uma garantia reforçada de que os resultados produzidos pelo laboratório são confiáveis, rastreáveis e adequados ao fim clínico a que se destinam. A capacidade de quantificar e documentar as fontes de incerteza, mesmo em casos onde exista *bias* remanescente, traduz-se num nível superior de transparência, qualidade e responsabilidade técnica, sendo particularmente relevante para ensaios com impacto direto em decisões médicas, como o doseamento da hemoglobina no rastreio e monitorização de anemias.

O fluxograma, portanto, materializa um ciclo de avaliação metrológica e clínica da incerteza, com uma lógica progressiva: inicia-se com o que é mensurável no próprio laboratório, integra o contributo do fabricante sempre que necessário, e inclui o a incerteza do *bias* apenas quando esta é significativo e não eliminável. Esta estrutura respeita os princípios da ISO/TS 20914 e fornece um modelo prático para laboratórios clínicos implementarem estimativas de incerteza com rigor técnico e aplicabilidade clínica.

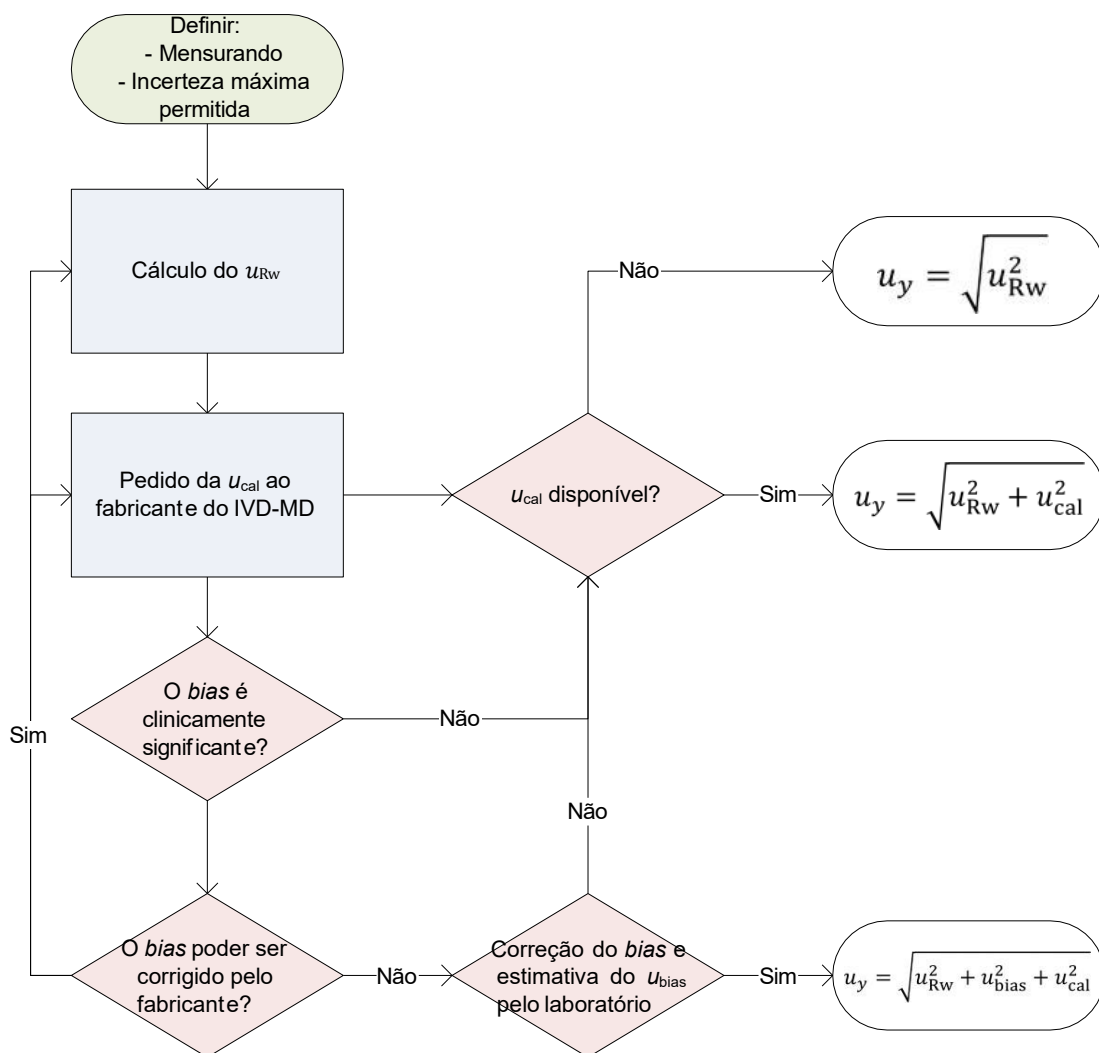


Figura 5 - Visão geral do percurso típico para a estimativa da IM (19) (traduzido e adaptado).

3.11 Impacto clínico e expressão dos resultados

Os resultados laboratoriais da hemoglobina devem ser reportados considerando as potenciais interferências e limitações dos métodos utilizados. Para evitar decisões clínicas equivocadas, é fundamental:

3.11.1 Incluir notas interpretativas no relatório quando há suspeita de interferência significativa.

3.11.2 Discutir com os médicos em casos de discrepâncias nos resultados, para avaliar a necessidade de novas colheitas ou métodos alternativos.

3.11.3 Correlacionar os valores laboratoriais com a clínica do paciente, evitando condutas terapêuticas inadequadas com base em dados potencialmente alterados por interferentes.

A determinação da hemoglobina, assim como de outros parâmetros laboratoriais, pode ser significativamente afetada por interferentes pré-analíticos e analíticos. A compreensão destes

fatores e a implementação de estratégias de mitigação são fundamentais para garantir resultados confiáveis e clinicamente úteis. A correta interpretação e comunicação dos achados laboratoriais são essenciais para que os dados obtidos não limitem, mas sim auxiliem a tomada de decisão clínica(1,68).

Quando os resultados obtidos a partir de amostras humanas se aproximam dos limites de decisão clínica, ou quando as variações entre medições sucessivas num mesmo indivíduo são relativamente pequenas, a consideração da IM revela-se particularmente relevante para uma interpretação mais robusta e fundamentada dos dados analíticos (15,18,19,55,57,69)

A norma ISO/TS 20914 apresenta dois exemplos ilustrativos em que a incorporação da IM contribui de forma significativa para o apoio à decisão clínica. O primeiro exemplo diz respeito à avaliação da significância de um resultado analítico relativamente a um limite clínico previamente estabelecido, permitindo determinar se um valor medido excede esse limiar com um grau de confiança estatisticamente aceitável (15,18,19,55,57,69)

O segundo exemplo aborda a avaliação da significância de variações entre resultados sequenciais de um mesmo parâmetro medido num único indivíduo, sendo particularmente útil no contexto do seguimento clínico e da monitorização de doentes (15,18,19,54,56,67)

Estes casos demonstram a importância crescente da IM na prática laboratorial moderna, especialmente no que respeita à sua integração nos processos de validação e interpretação de resultados, com vista a uma tomada de decisão clínica mais segura e baseada em evidência.

Exemplo 1: como avaliar se a mensuranda ultrapassa o limite clínico

Para um indivíduo do sexo masculino com 61 anos de idade, a concentração sérica de antígeno específico da próstata (PSA) medida foi de 4,3 µg/L.

Considerando o limite de decisão clínica estabelecido em 4,0 µg/L, este valor de mensuranda pode ser considerado significativamente superior num nível de confiança superior a 95%.

A IM para o PSA, $u(\text{PSA})$, foi estimada em 0,14 µg/L, considerando a incerteza combinada proveniente de u_{cal} (fornecida pelo fabricante) e de u_{Rw} obtida para um valor médio de controlo interno da qualidade de 3,6 µg/L. Neste exemplo é considerada exclusivamente a incerteza associada aos valores medidos. A VB intraindividual deverá igualmente ser tida em consideração na avaliação de diferenças fisiologicamente relevantes entre mensurandas.

Esta situação corresponde a uma distribuição unilateral, para a qual um nível de confiança de aproximadamente 95 % requer um valor de Z correspondente a 1,65. Assim, o laboratório poderá afirmar com ≈95 % de confiança que o resultado é significativamente superior a 4,0 µg/L se este ultrapassar o valor de

$$4,0 + (1,65 \times 0,14) = > 4,23 \mu\text{g/L}.$$

De forma a garantir esse nível de confiança, o valor calculado é arredondado para o algarismo significativo seguinte, resultando em 4,3 µg/L.

Consequentemente, o procedimento de medição do PSA demonstra capacidade para discriminar com fiabilidade entre concentrações de 4,0 µg/L (limite de decisão clínica) e ≥4,3 µg/L (15,18,19,55,57,69)

Exemplo 2: Avaliação de variação significativa entre medições sequenciais num mesmo indivíduo

Dois resultados sequenciais de PSA obtidos para o Paciente C, com um intervalo de um ano, foram de 4,4 µg/L e 4,8 µg/L, respetivamente. A questão a esclarecer é se é possível afirmar, com um nível de confiança superior a 95 %, que os dois valores diferem de forma estatisticamente significativa.

Neste exemplo é apenas considerada a incerteza dos valores analíticos. A VB intraindividual deve igualmente ser considerada na avaliação de eventuais diferenças fisiológicas entre medições consecutivas no mesmo indivíduo.

Dado que o segundo valor medido tem probabilidade equiparada de aumentar ou diminuir, assume-se uma distribuição bidirecional para a incerteza. Nestes casos, o valor z correspondente a um nível de confiança de aproximadamente 95 % é 1,96.

Admitindo que $u(\text{PSA})$ se mantém constante para ambas as medições, considera-se que os resultados são significativamente distintos se a diferença entre eles exceder o valor de

$$z \times \sqrt{2} \times u(\text{PSA})$$

Considerando a incerteza para o PSA como sendo $u(\text{PSA}) = 0,14 \mu\text{g/L}$,

O cálculo conduz a:

$$1,96 \times \sqrt{2} \times 0,14 \mu\text{g/L} = 0,39 \mu\text{g/L}.$$

Assim, o segundo resultado deverá ser $\geq 4,4 + 0,39 = \geq 4,79 \mu\text{g/L}$ para que a diferença observada

possa ser considerada estatisticamente significativa. Neste caso, os dois valores medidos são, de facto, significativamente distintos, com um nível de confiança de aproximadamente 95 %.(15,18,19,55,57,69)

4.1 População

Embora este estudo não envolva uma população humana real, a simulação paramétrica realizada tem como base uma população teórica de adultos saudáveis, cujos valores de hemoglobina seguem uma distribuição normal bem documentada na literatura hematológica e em bases de dados de VB, nomeadamente da EFLM (57)

Assim, considera-se como população-alvo teórica os resultados laboratoriais esperados para medições de hemoglobina em indivíduos adultos sem patologia hematológica conhecida, servindo como referência para o desempenho metrológico do método. Os parâmetros da distribuição (média e desvio padrão) foram definidos com base em publicações científicas e documentos de consenso clínico, garantindo representatividade estatística e validade metrológica.

4.2 Métodos de amostragem

4.2.1 Simulação aleatória paramétrica

A amostragem neste estudo foi realizada por simulação aleatória paramétrica no Microsoft® Excel®, recorrendo à geração de números aleatórios com base em distribuição normal. Para tal, foi utilizada a função `INV.NORM(ALEATÓRIO(); média; desvio padrão)` (versão portuguesa de Portugal) ou `NORM.INV(RAND(); média; desvio padrão)` (versão inglesa) (70)

Cada simulação corresponde a uma amostra aleatória de tamanho fixo ($n \geq 30$), com o objetivo de garantir estabilidade estatística para o cálculo da média, desvio padrão e subsequente estimativa da IM. A estratégia simula condições laboratoriais realistas, assumindo variabilidade analítica semelhante à observada em medições repetidas no método de cianometahemoglobina (71)

Trata-se, portanto, de uma amostragem probabilística, interpretada como método de seleção de uma amostra de uma população onde cada membro tem uma chance conhecida e não nula de ser escolhido, permitindo inferências estatísticas sobre a população e cujo objetivo é reproduzir a dispersão natural dos resultados laboratoriais num cenário controlado e replicável(72). A abordagem adotada assegura consistência metodológica, validade estatística e rastreabilidade, respeitando os princípios metrológicos exigidos pela ISO/TS 20914:2019.

4.2.2 Vantagens e limitações da simulação em Excel® com distribuição normal

A utilização da função `INV.NORM(ALEATÓRIO(); média; desvio padrão)` no Microsoft® Excel® constitui uma abordagem prática e amplamente validada para a geração de dados simulados com distribuição normal. Esta função permite construir amostras simuladas com características estatísticas controladas, nomeadamente uma média e um desvio padrão definidos *a priori*, simulando com elevada fidelidade medições laboratoriais repetidas de uma grandeza mensurável, neste caso, a concentração de hemoglobina (70,71,73,74)

Vantagens da abordagem:

1. Reprodutibilidade e controlo total dos parâmetros estatísticos utilizados, permitindo simular diferentes cenários analíticos com coerência e transparência metodológica;
2. Aplicação simples e acessível, sem necessidade de “software” estatístico especializado, o que torna esta abordagem mais viável em contextos académicos e laboratoriais;
3. Capacidade de gerar grandes volumes de dados com variabilidade estatística controlada, facilitando a avaliação da IM sob diferentes condições experimentais;
4. Base matemática sólida, assentando no Teorema Central do Limite e em fundamentos da estatística inferencial que reconhecem a aproximação à normalidade como válida para amostras suficientemente grandes ($n \geq 30$);
5. Reconhecimento na literatura científica, particularmente em estudos de modelação paramétrica, simulação de sistemas laboratoriais e ensino da metrologia aplicada (73–76).

Limitações potenciais:

1. A aleatoriedade gerada pela função `ALEATÓRIO()` (português) ou `RAND()` (inglês) é pseudoaleatória. Embora suficientemente robusta para simulações académicas e laboratoriais, não substitui geradores criptográficos de números aleatórios usados em contextos altamente sensíveis;
2. A simulação baseia-se em parâmetros teóricos (média e desvio-padrão) e não em dados reais, o que pode limitar a representatividade caso os valores definidos não correspondam à prática laboratorial;
3. A função `INV.NORM` (português) ou `NORM.INV` (inglês) assume normalidade perfeita, o que pode não refletir completamente distribuições reais com assimetrias ou curtose relevantes;

4. A independência entre observações simuladas é assumida por construção, não sendo possível representar correlações sistemáticas que podem surgir em medições laboratoriais reais (70,71,73,74)

Apesar das limitações teóricas inerentes à simulação computacional, a literatura reconhece que a utilização de `INV.NORM(ALEATÓRIO(); média; desvio padrão)` é adequada para estudos que visem compreender o comportamento estatístico de métodos de medição e para estimar incertezas analíticas em condições simuladas. A técnica não limita a validade das estimativas produzidas neste estudo, dado os parâmetros da distribuição estarem fundamentados em fontes científicas credíveis e os pressupostos de normalidade sejam justificáveis à luz da variabilidade biológica da hemoglobina (68–71)

Como tal, esta estratégia de simulação é compatível com os objetivos da presente dissertação, garantindo a robustez dos dados e a conformidade com os princípios metrologicos da ISO/TS 20914:2019, sem comprometer a integridade estatística das conclusões (73)

4.3 Variáveis

O presente estudo baseia-se na geração de dados simulados para concentrações de hemoglobina (g/dL) utilizando uma abordagem de simulação aleatória paramétrica, em conformidade com os pressupostos estatísticos e metrologicos internacionalmente reconhecidos. As simulações têm como objetivo modelar medições de hemoglobina em mulheres adultas saudáveis, com idades compreendidas entre 18 e 60 anos, de acordo com intervalos de referência clínicos estabelecidos (77)

As variáveis consideradas neste estudo enquadram-se nas seguintes categorias:

- Variável principal (dependente)

Resultado da medição da hemoglobina (g/dL): valor simulado individualmente para cada repetição, representando o resultado de um ensaio analítico único. Estes resultados simulados serão utilizados para calcular a média amostral, o desvio-padrão e, subseqüentemente, a IM associada ao método.

- Variáveis independentes (parâmetros da simulação)

Média populacional da hemoglobina (μ): valor central da distribuição normal utilizada para gerar os dados simulados. Para este estudo, a média adotada corresponde ao limite inferior do intervalo de referência da hemoglobina para mulheres adultas saudáveis (18 a 60 anos), conforme definido na literatura clínica e laboratorial.

Desvio-padrão populacional (σ): medida da dispersão dos resultados em torno da média, representando a variabilidade esperada no método analítico. O valor de σ é definido com base em dados retirados de literatura científica fidedigna, incluindo documentos técnicos de fabricantes de dispositivos de medição de hemoglobina aprovados pela Agência Europeia do Medicamento (EMA) para o mercado europeu, garantindo assim representatividade realista do desempenho analítico (70,71,73,74)

- Variáveis derivadas (analíticas e metrológicas)

Desvio-padrão das medições simuladas: valor calculado a partir dos dados gerados, utilizado para estimar a componente de repetibilidade da IM, em conformidade com a ISO/TS 20914:2019.

Bias das medições simuladas: diferença entre a média dos valores simulados e o valor verdadeiro/teórico da hemoglobina, quando aplicável. O *bias* é avaliado segundo as orientações da ISO/TS 20914 para determinar a sua relevância clínica e metrológica.

Incerteza do *bias*: variabilidade associada à medição do *bias*, integrando as incertezas do valor de referência e das medições laboratoriais, caso o *bias* seja considerado clinicamente significativo.

Incerteza combinada: valor resultante da combinação da componente de repetibilidade com outras fontes de incerteza, nomeadamente a incerteza do *bias* e a incerteza da calibração, quando disponíveis, conforme recomendado pela ISO/TS 20914:2019.

Incerteza expandida (U): estimativa da incerteza combinada multiplicada por um fator de cobertura ($k = 2$), que corresponde a um intervalo de confiança de aproximadamente 95%, garantindo robustez estatística nas conclusões.

Limite de aceitação da incerteza: valor de referência definido com base em critérios clínicos ou nas especificações derivadas da VB da hemoglobina (EFLM), utilizado para verificar a aceitabilidade da IM obtida no estudo e assegurar a conformidade metrológica do método de doseamento.

Este enquadramento metodológico garante que a simulação reflète as condições reais do desempenho analítico de um teste de hemoglobina aprovado para o mercado europeu, permitindo uma avaliação rigorosa da IM em conformidade com as boas práticas laboratoriais e as exigências normativas internacionais (70,71,73,74)

4.4 Critérios de elegibilidade

4.4.1 Critérios de inclusão

Para efeitos deste estudo, serão incluídas simulações paramétricas que satisfaçam os seguintes critérios:

- 4.4.1.1 Dados simulados com base em parâmetros estatísticos (média e desvio padrão) previamente publicados e validados para concentrações de hemoglobina em adultos saudáveis;
- 4.4.1.2 Simulações que assumam uma distribuição normal dos dados, conforme documentado na literatura hematológica e estatística aplicada à área laboratorial;
- 4.4.1.3 Séries de dados numéricos geradas no Microsoft Excel® que contemplem pelo menos 31 observações, garantindo uma amostra minimamente robusta para o cálculo da IM;
- 4.4.1.4 Situações experimentais simuladas que repliquem condições analíticas compatíveis com o método de cianometahemoglobina (70,71,73,74)

4.4.2 Critérios de exclusão

Serão excluídas da análise quaisquer simulações que:

- 4.4.2.1 Utilizem distribuições não normais ou assimétricas sem fundamentação clínica ou estatística;
- 4.4.2.2 Não estejam baseadas em valores de referência consensualmente aceites para hemoglobina humana em adultos;
- 4.4.2.3 Apresentem número de repetições insuficiente (≤ 30 medições simuladas);
- 4.4.2.4 Introduzam variáveis artificiais externas não compatíveis com o método de doseamento por cianometahemoglobina, como condições analíticas irreais ou não replicáveis em contexto laboratorial clínico (70,71,73,74)

4.5 Estratificação

A metodologia seguiu as recomendações da ISO/TS 20914:2019, nomeadamente no que respeita à identificação e estratificação das fontes de incerteza e à posterior quantificação de cada contributo individual no cálculo da incerteza combinada (70,71,73,74)

As fontes de incerteza consideradas foram organizadas de acordo com os seguintes estratos:

- **Género:** o estudo focou-se especificamente em valores de hemoglobina para o sexo feminino, tendo em conta as diferenças fisiológicas reconhecidas entre géneros.

- **Distribuição estatística:** as simulações assumiram uma distribuição normal dos valores de hemoglobina, conforme descrito na literatura hematológica.
- **Média e desvio-padrão:** os parâmetros estatísticos utilizados na geração dos dados simulados foram extraídos da fonte Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests, 4th Edition (77), uma referência internacionalmente reconhecida para valores laboratoriais de referência.
- **Medidas para simulação:** foi utilizada o limite inferior do intervalo de 11,7 a 16,1 g/dL reportado para mulheres adultas saudáveis, isto é, 11,7 g/dL. Utilizou-se o desvio-padrão publicado na literatura em estudos em condições de reprodutibilidade, repetibilidade e *bias*, respetivamente, 0,2, 0,15 e 0,2 g/dL.

A estratificação teve como objetivo garantir que os dados simulados refletissem com rigor as condições reais de variação analítica e biológica observada no contexto laboratorial clínico, respeitando os pressupostos de normalidade e variabilidade populacional. (68–71)

4.6 Considerações éticas e legais

Este estudo não envolve participantes humanos nem utiliza dados clínicos reais. Por conseguinte, não apresente limites éticos, estando em conformidade com as diretrizes nacionais e internacionais para investigação em saúde.

No entanto, será garantido o cumprimento rigoroso dos princípios éticos da investigação científica, nomeadamente os enunciados na Declaração de Helsínquia, no Código Europeu de Conduta para a Integridade da Investigação e na Carta Europeia do Investigador. A integridade científica, a rastreabilidade dos dados e a transparência metodológica serão asseguradas em todas as fases do trabalho (78–80)

Adicionalmente, será respeitada a legislação aplicável no contexto dos IVD-MD, nomeadamente o Regulamento (UE) 2017/746, no que respeita à metrologia e à validação de métodos laboratoriais.

5 Resultados

Para uma avaliação mais abrangente, foram testados três cenários distintos:

Cenário 1 - U_{Rw} : Utilizaram-se exclusivamente dados fornecidos pelo laboratório.

Cenário 2 - U_{cal} : Combinaram-se dados do laboratório com dados do fabricante de dispositivos médicos *in vitro* (IVD-MD).

Cenário 3 - U_{bias} : Incorporaram-se os mesmos dados do Cenário 2, mas com a introdução da incerteza do *bias*.

Os resultados obtidos na estimativa e avaliação das incertezas encontram-se sintetizados nas Tabelas 3, 4 e 5. A Tabela 3 apresenta os valores estimados para os principais componentes da incerteza, incluindo a repetibilidade, a incerteza da calibração e a incerteza associada ao *bias*, quando aplicável. Para cada cenário, foi calculada a incerteza combinada e a incerteza expandida, utilizando um fator de expansão, $k = 1,97$, correspondente a um nível de confiança de aproximadamente 95%. A Tabela 4 apresenta a análise da significância estatística do *bias* observado entre o valor de referência e o valor laboratorial simulado. Por fim, a Tabela 5 resume a avaliação da conformidade metrológica da incerteza expandida obtida em cada cenário, com base nos limites máximos aceitáveis definidos a partir da variação biológica da hemoglobina segundo a base de dados da EFLM.

Tabela 3 - Estimativa dos componentes de incerteza, incerteza combinada, k e incerteza expandida de medição de hemoglobina (g/dL) em mulheres com base numa simulação aleatória paramétrica com (ver Apêndice 9.2).

	DP _r ($n = 35$)	DP _R ($n = 35$)	u_{Rw}	u_{cal}	u_{bias}	k	u_c	U
$u_y = \sqrt{u_{Rw}^2}$	0,05	0,24	0,25	-	-	1,97	0,25 (2,1%)	0,48 (4,1%)
$u_y = \sqrt{u_{Rw}^2 + u_{cal}^2}$	0,05	0,24	0,25	0,10	-	1,97	0,27 (2,3%)	0,52 (4,5%)
$u_y = \sqrt{u_{Rw}^2 + u_{bias}^2 + u_{cal}^2}$	0,05	0,24	0,25	0,10	0,04	1,97	0,27 (2,3%)	0,53 (4,5%)

Tabela 4 - Estimativa da significância do *bias* (Hgb g/dL)

X_{ref}	X_{lab}	$abs(X_{ref}-X_{lab})$	$2*U_{bias}$	Significativo?
11,6	11,7	0,111	0,0777	Sim

Tabela 5 - Critérios de incerteza máxima permitida hemoglobina com base na base de dados de variação biológica da EFLM e avaliação da conformidade.

Nível	MAU	$u_y = \sqrt{u_{Rw}^2}$	$u_y = \sqrt{u_{Rw}^2 + u_{cal}^2}$	$u_y = \sqrt{u_{Rw}^2 + u_{bias}^2 + u_{cal}^2}$
Mínimo	4,1%	Conforme	Conforme	Conforme
Desejável	2,7%	Conforme	Conforme	Conforme
Ótimo	1,4%	Não conforme	Não conforme	Não conforme

6.1 Interpretação dos resultados

O presente estudo teve como propósito demonstrar a aplicação da Abordagem da Incerteza de Medição no contexto do laboratório clínico, utilizando como modelo o método de doseamento de hemoglobina por cianometahemoglobina. A estimativa da incerteza combinada e da incerteza expandida foi realizada através de simulações paramétricas baseadas em distribuição normal, parametrizadas com dados extraídos da literatura especializada e da base de dados da EFLM.

Foram analisados três cenários distintos:

Cenário 1 - Foi calculado a partir de dados obtidos em laboratório em condições de repetibilidade e reprodutibilidade. Nestas condições estimou-se uma U de 4.5% a partir de U_c de 2.1% (ver Tabela 3). Neste caso, o material utilizado para o cálculo da hemoglobina, não seria metrologicamente rastreável. Assim, a estimativa da incerteza será por defeito, quando comparada com a estimativa dos outros Cenários.

Cenário 2 - Foi calculado usando os mesmos dados simulados em condições de repetibilidade e reprodutibilidade. Assim, ao u_{Rw} , foi combinado o u_{cal} , tendo-se assumindo que o material utilizado para a determinação da u_{Rw} é metrologicamente rastreável. Neste caso, a confiança na estimativa aumenta significativamente e está conforme com os modelos primários para a estimativa da incerteza. O valor da incerteza expandida não tem aumento significativo (+0,3%) (ver Tabela 3) e a passando a integrar o efeito de incerteza associado ao material *per sí*.

Cenário 3 - Inclui os dados dos dois primeiros cenários com a combinação da incerteza do *bias*. Este componente foi introduzido no cálculo da incerteza após a confirmação da significância do *bias* (ver Tabela 4). Poder-se-á concluir acerca da robustez aquando da existência de um *bias* significativo, isto é, que contribui criticamente para a incerteza dos resultados reportados. Neste caso, a combinação do u_{bias} não alterou a percentagem de U , dado ser um *bias* significativo mas próximo do limite para esta consideração (*borderliner*) (ver Tabela 3).

Em todos os cenários, os valores de U mantiveram-se dentro dos limites clinicamente aceitáveis. A inclusão de u_{cal} no cenário 2 demonstrou maior rastreabilidade sem impacto significativo na magnitude da incerteza expandida (+0,3%). Já no cenário 3, apesar da introdução do u_{bias} , o valor final de U não sofreu alterações substanciais, pois o *bias* identificado foi considerado *borderline* em termos de significância clínica.

Estes resultados indicam que a estruturação da IM em camadas progressivas - repetibilidade, calibração e *bias* (quando o *bias* for significativo) - permite uma caracterização mais robusta do desempenho do método, reforçando a rastreabilidade metrológica e a confiança nos resultados, sem comprometer a aplicabilidade prática da abordagem.

6.2 Avaliação da incerteza

A avaliação da incerteza de medição foi realizada por comparação com os limites máximos aceitáveis definidos a partir da VB da hemoglobina, conforme os dados disponibilizados pela EFLM e os princípios da ISO/TS 20914:2019. O MAU, calculado como uma fração da variabilidade intraindividual (CV), representa o limite superior da incerteza, o qual permite a interpretação clínica segura do resultado. De acordo com a Tabela 5, os três modelos de cálculo da incerteza combinada mostraram-se conformes com os níveis mínimo e desejável, reforçando a adequação clínica do método testado. Esta conformidade indica que a incerteza associada aos resultados está suficientemente controlada para garantir a utilidade diagnóstica e terapêutica do teste de hemoglobina, mesmo em contextos mais exigentes. O nível ótimo, por sua vez, não foi atingido por nenhum dos modelos. Este resultado é compreensível, dado que tal critério é geralmente reservado para métodos de alta especialização ou aplicações críticas, como diagnóstico neonatal ou monitorização em contextos de risco elevado. A não conformidade com o nível ótimo não invalida a aplicabilidade do método, mas assinala os seus limites metrológicos em cenários de elevada exigência clínica.

Importa ainda destacar que a utilização do fator de expansão $k = 2$ foi essencial para a obtenção da U com um nível de confiança de 95%, tal como demonstrado na secção [3.4.3](#). Este fator permite assegurar que o intervalo resultante contenha, com elevada probabilidade, o valor verdadeiro do mensuranda. Desta forma, ao comparar a incerteza combinada estimada com o MAU derivado da variação biológica, está-se a avaliar diretamente a adequação clínica do método de medição. Se a u_c for inferior ou igual ao MAU, o método pode ser considerado suficientemente preciso para suportar decisões médicas com confiança. Esta abordagem, reconhecida pela ISO/TS 20914, cria uma ponte operacional entre os requisitos metrológicos do laboratório clínico e a segurança da decisão clínica, promovendo simultaneamente conformidade normativa e confiança por parte dos clínicos e dos doentes.

6.3 Achados do Estudo

Os resultados obtidos neste estudo são consistentes com as abordagens atualmente descritas na literatura científica especializada, nomeadamente no que diz respeito à estimativa da IM em métodos quantitativos aplicados em laboratórios clínicos. A utilização da norma ISO/TS 20914:2019 como referência metodológica para a avaliação da incerteza combinada e da

incerteza expandida revelou-se tecnicamente adequada e alinhada com o entendimento atual de boas práticas metrológicas em diagnóstico laboratorial (19).

A estruturação da IM em camadas - repetibilidade, rastreabilidade através da calibração e *bias* quando significativo - segue a lógica defendida em publicações recentes que aplicam o modelo da propagação da incerteza, conforme estabelecido no GUM, reforçado na prática pela norma ISO supracitada e por orientações como as da EURACHEM/CITAC (51).

A comparação dos valores de incerteza obtidos com os limites máximos aceitáveis definidos a partir da VB disponibilizada pela EFLM demonstrou que os três modelos avaliados se mantêm conformes com os níveis mínimos e desejáveis recomendados para a hemoglobina. Estes achados estão em concordância com estudos prévios que defendem a utilização dos parâmetros de VB como base para a definição de objetivos de desempenho analítico, tanto para incerteza como para imprecisão (80)

A não conformidade com o limite ótimo é esperada, conforme já discutido em trabalhos anteriores, dado que este critério é habitualmente reservado para métodos de elevada complexidade analítica ou contextos clínicos de risco acrescido (ex.: medicina neonatal, oncologia molecular)(79). Tal como defendido, a conformidade com o nível desejável é considerada suficiente para garantir utilidade clínica e segurança do doente em contextos laboratoriais de rotina (80).

Importa ainda referir que a escolha de k aproximadamente igual a 2 como fator de cobertura está amplamente validada na literatura como apropriada para laboratórios clínicos, garantindo um nível de confiança de aproximadamente 95% e correspondendo ao que é usualmente adotado em ambientes acreditados sob ISO 15189 (18,58).

Por fim, a aplicação de simulação paramétrica, com base em valores de referência retirados da literatura laboratorial reconhecida, encontra precedentes em publicações que recorrem a este tipo de modelação para fins de validação interna, formação de técnicos e desenvolvimento de protocolos de controlo da qualidade analítica (74).

Assim, os achados do presente estudo não introduzem conceitos inovadores, mas antes consolidam práticas documentadas e recomendadas em normas e publicações científicas da área da metrologia clínica, contribuindo para a sua aplicação prática e pedagógica no contexto da estimativa da IM.

6.4 Limitações do estudo

Embora o modelo de simulação adotado neste estudo seja estatisticamente robusto, permitindo o controlo rigoroso dos parâmetros de entrada e a reprodutibilidade dos dados gerados, importa

reconhecer as suas limitações quanto à aplicabilidade direta em ambiente laboratorial real.

A utilização exclusiva de simulações paramétricas baseadas em distribuição normal - embora metodologicamente válida - não incorpora a variabilidade associada a fatores operacionais reais, como oscilações ambientais, variações entre operadores, deriva de instrumentos ou desempenho interlote. Estas fontes de variação, típicas da rotina laboratorial, são relevantes para a avaliação realista da incerteza de medição e não estão integralmente refletidas na abordagem simulada (74)(70)(19)

A integração futura de dados reais de rotina com os modelos de simulação aqui desenvolvidos permitiria a construção de modelos híbridos de estimativa da incerteza, mais representativos da realidade clínica e com maior aplicabilidade prática e valor preditivo para a tomada de decisão médica.

Adicionalmente, é importante destacar que a técnica de estimação da incerteza de medição utilizada - baseada na decomposição da incerteza combinada e na aplicação da Lei da Propagação da Incerteza conforme o GUM - apresenta limitações conhecidas, nomeadamente:

A necessidade de pressupostos como a normalidade da distribuição dos dados;

A independência entre os componentes de incerteza e;

A possível subestimação da incerteza total em contextos de *bias* não detetado ou não corrigido.

Estas limitações metodológicas e epistemológicas foram abordadas com maior detalhe na secção [3.8.3](#), onde se discutiram os pressupostos do modelo de propagação, as abordagens alternativas e a necessidade de validação empírica dos componentes de incerteza.

Apesar destas restrições, os resultados obtidos neste estudo permanecem válidos no âmbito da demonstração conceptual e metrológica da Abordagem da Incerteza segundo a ISO/TS 20914:2019, e representam um contributo relevante para a compreensão, aplicação e ensino da estimativa da incerteza de medição no laboratório clínico.

7.1 Considerações finais

A IM constitui um dos pilares fundamentais da metrologia laboratorial. Em laboratórios clínicos, onde os resultados das medições influenciam diretamente as decisões clínicas e terapêuticas, a estimativa correta da IM é essencial para assegurar a qualidade e a segurança do cuidado prestado ao paciente. Conforme enfatizado no GUM, a IM permite quantificar a dispersão dos valores atribuíveis à mensuranda, oferecendo ao clínico uma visão mais completa do grau de confiança associado ao valor reportado. Este aspeto é especialmente crítico na monitorização de parâmetros quantitativos, como os hematológicos, cuja variação pode sinalizar condições patológicas relevantes, incluindo anemias, hemorragias ocultas e doenças hematológicas crónicas.

7.2 Sugestões para Estudos Futuros

Com base nos achados e limitações identificadas ao longo do presente trabalho, é possível propor diversas linhas de aprofundamento que poderão contribuir para o desenvolvimento técnico-científico da metrologia no laboratório clínico, bem como para o reforço das competências profissionais nesta área. As sugestões abaixo estão organizadas por tipo de potencial aplicação:

- **Desenvolvimento de investigação pós-mestrado**

O desenvolvimento de um projeto de doutoramento orientado para a implementação de modelos híbridos de estimativa da incerteza de medição, que integrem dados empíricos reais (controlo interno, verificações interlaboratoriais) com simulações paramétricas avançadas, nomeadamente com recurso a métodos como simulações de Monte Carlo, propagação não linear de incerteza ou modelos Bayesianos. Tal abordagem permitiria estudar a variabilidade real em condições de rotina e propor indicadores de qualidade metrológica mais sensíveis para a prática clínica.

- **Estudos sobre impacto clínico da incerteza nos processos de decisão clínica**

A realização de estudos que avaliem o impacto da incerteza de medição na interpretação clínica de resultados laboratoriais, particularmente em áreas sensíveis como a hematologia, endocrinologia ou oncologia. Estes estudos poderiam aplicar modelos de risco diagnóstico, análise de zonas clínicas ou estudos de caso reais em colaboração com clínicos.

- **Integração da formação em metrologia nos currículos laboratoriais e biomédicos**

Com base nas lacunas identificadas durante este estudo, propõe-se o desenvolvimento de

programas formativos modulares sobre incerteza de medição, dirigidos a técnicos superiores de análises clínicas e outros profissionais de saúde com funções laboratoriais. Estes programas deveriam incluir formação prática em ISO/TS 20914:2019, avaliação de rastreabilidade metrológica e interpretação clínica da incerteza, com recurso a casos simulados e exercícios com *software*.

8.Referências bibliográficas

1. Plebani M, Lippi G. Improving diagnosis and reducing diagnostic errors: the next frontier of laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med*. 2016 Jul 1;54(7):1117–8.
2. Hallworth MJ. The “70% claim”: What is the evidence base? *Ann Clin Biochem*. 2011;48(6):487–8.
3. Hallworth MJ, Epner PL, Ebert C, Fantz CR, Faye SA, Higgins TN, et al. Current evidence and future perspectives on the effective practice of patient-centered laboratory medicine. *Clin Chem*. 2015 Apr 1;61(4):589–99.
4. Gonçalves H, Rodrigues C, Silva HF, Pereira P. Insights on trends in the management of metrological analysis of devices in blood and transfusion medicine services: Verification based on their fitness for purpose and suitability for their respective applications. *Transfus Apher Sci*. 2024;63(1):103874.
5. Lombardo B, Izzo V, Terracciano D, Ranieri A, Mazzaccara C, Fimiani F, et al. Laboratory medicine: health evaluation in elite athletes. *Clin Chem Lab Med*. 2019 Sep 25;57(10):1450–73.
6. Đerek L, Radišić Biljak V, Marević S, Šimac B, Žarak M, Perović A, et al. Laboratory medicine and sports: where we now? are we now? *Biochem Med (Zagreb)*. 2024 Oct 15;34(3):030501.
7. Olver P, Bohn MK, Adeli K. Central role of laboratory medicine in public health and patient care. *Clin Chem Lab Med*. 2023 Mar 28;61(4):666–73.
8. Pereira P. Trends in the accreditation of medical laboratories by ISO 15189. In: *Six Sigma and Quality Management*. London: IntechOpen; 2024.
9. Plebani M, Carraro P. Mistakes in a stat laboratory: types and frequency. *Clin Chem*. 1997 Aug 1;43(8 Pt 1):1348–51.
10. Bonini P, Plebani M, Ceriotti F, Rubboli F. Errors in laboratory medicine. *Clin Chem*. 2002 May 1;48(5):691–8.
11. Kalra J. Medical errors: impact on clinical laboratories and other critical areas. *Clin Biochem*. 2004 Dec;37(12):1052–62.
12. International Organization for Standardization (ISO). ISO 9001:2015 Quality management systems [Internet]. Geneva: ISO; 2015 [acedido em 3 de novembro de 2025]. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/62085.html>
13. Instituto Português da Acreditação (IPAC). Guia para a aplicação da NP EN ISO 15189:2022. Lisboa: IPAC; 2024.
14. Ministério da Saúde. Diário da República n.º 137/1999, Série I-A de 1999-06-15, Decreto-Lei n.º 217/99. p. 3410–7 [Internet]. [acedido em 3 de novembro de 2025]. Disponível em: <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/decreto-lei/217-1999-309005>
15. Instituto Português da Qualidade (IPQ). NP EN ISO 15189:2024. Lisboa: IPQ; 2024.
16. IPAC. NP EN ISO/IEC 17025:2018 [Internet]. Lisboa: IPAC; 2018 [acedido em 3 de novembro de

2025]. Disponível em: <https://www.ipac.pt>

17. ISO/CASCO. ISO/IEC 17025:2017 [Internet]. Geneva: ISO; 2017 [acedido em 3 de novembro de 2025]. Disponível em: <https://www.iso.org/standard/66912.html>

18. ISO. *ISO 15190:2022 Medical laboratories — Requirements for safety*. Geneva: ISO; 2022.

19. ISO. *ISO 20914:2019 Medical laboratories — Practical guidance for the estimation of measurement uncertainty*. Geneva: ISO; 2019.

20. European Parliament and the Council of the European Union. *Regulation (EU) 2017/746 on in vitro diagnostic medical devices*. *Off J Eur Union*. 2017;60(L117):1–76.

21. Goldberg D. Hospital admits fatal lab errors. *The Plain Dealer*. 2001.

22. Mock G. DUKE continues review of Jessica Santillan case [Internet]. Durham: Duke University; 2003 [acedido em 3 de novembro de 2025]. Disponível em: <https://today.duke.edu/2003/02/santillancase0203.html>

23. Writers MAM, MPS. Patient who died had received wrong type of blood. *Sarasota Herald-Tribune* [Internet]. 2004 Jul 17 [acedido em 3 de novembro de 2025]. Disponível em:

<https://eu.heraldtribune.com/story/news/2004/07/17/patient-who-died-had-received-wrong-type-of-blood/28815974007/>

24. Eurolab. *Measurement uncertainty in testing*. Technical Report No. 1. Brussels: Eurolab; 2002.

25. JCGM. *Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement (GUM)*. Sèvres: BIPM; 2008.

26. Instituto Português da Qualidade (IPQ); Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO). *Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM)*. Lisboa: IPQ; 2012

27. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Harmonized Terminology Database*. Wayne (PA):CLSI; 2014.

28. JCGM. *International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM3)*. 3rd ed. Sèvres: BIPM; 2017.

29. Pereira P. Uncertainty of measurement in medical laboratories. In: Cocco L (Ed). *New Trends and Developments in Metrology*. London: InTech; 2016.

30. Frenkel RB, Farrance I. Uncertainty in measurement: procedures for determining uncertainty with application to clinical laboratory calculations. In: *Advances in Clinical Chemistry*. Vol. 85. Amsterdam: Elsevier; 2018. p. 149–211.

31. Coskun A, Theodorsson E, Oosterhuis WP, Sandberg S. Measurement uncertainty for practical use. *Clin Chim Acta*. 2022 Jun;531:352–60.

32. Galindo-Méndez M, Sánchez-López A, Cruz-Fuentes L. The estimation of uncertainty of measurement of glycated hemoglobin as an analytical performance specification and in the interpretation of its results. *Clin Biochem*. 2019;63:92–6.

33. National Pathology Accreditation Advisory Council (NPAAC). *Requirements for the estimation of*

- measurement uncertainty. Canberra: NPAAC; 2007.
34. Westgard JO, Carey RN, Wold S. Criteria for judging precision and accuracy in method development and evaluation. *Clin Chem.* 1974 Jul;20(7):825–33.
 35. Westgard JO, Westgard SA. Measuring analytical quality: total analytical error versus measurement uncertainty. *Clin Lab Med.* 2017;37(1):1–13.
 36. Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *PLoS Med.* 2009 Jul 21;6(7):e1000097.
 37. Bureau International des Poids et Mesures (BIPM). *Le Système international d'unités (SI)*. Sèvres: BIPM; 2006.
 38. International Organization for Standardization (ISO) [Internet]. Geneva: ISO; [acedido em 3 de novembro de 2025]. Disponível em: <https://www.iso.org/home.html>
 39. Eurachem [Internet]. [acedido em 3 de novembro de 2025]. Disponível em: <https://www.eurachem.org/>
 40. Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry (CITAC) [Internet]. [acedido em 3 de novembro de 2025]. Disponível em: <https://www.citac.cc/>
 41. Instituto Português da Qualidade (IPQ) [Internet]. [acedido em 3 de novembro de 2025]. Disponível em: <https://www.ipq.pt/>
 42. Instituto Português de Acreditação (IPAC) [Internet]. [acedido em 3 de novembro de 2025]. Disponível em: <https://www.ipac.pt/>
 43. NORDTEST [Internet]. [acedido em 3 de novembro de 2025]. Disponível em: <https://www.nordtest.info/wp/>
 44. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [Internet]. [acedido em 3 de novembro de 2025]. Disponível em: <https://clsi.org/>
 45. MacDonald J. Systematic approaches to a successful literature review. *J Can Health Libr Assoc.* 2014 Jul 21;34(1):46.
 46. Carraro P, Plebani M. Errors in a stat laboratory: types and frequencies 10 years later. *Clin Chem.* 2007 Jul 1;53(7):1338–42.
 47. Eurachem/CITAC. *Guide: Use of uncertainty information in compliance assessment*. 3rd ed. London: Eurachem; 2021.
 48. Bettencourt da Silva R, Williams A. *Setting and using target uncertainty in chemical measurement*. Eurachem/CITAC; 2015.
 49. Ellison SLR, Rosslein M, Williams A, Konopel'ko LA, Garmash AV. *Quantifying uncertainty in analytical measurement*. 2nd ed. *J Anal Chem.* 2003;58(2):191.
 50. Eurachem/CITAC. *Quantifying uncertainty in analytical measurement*. 3rd ed. Eurachem; 2012.
 51. Bettencourt da Silva R, Ellison SLR. *Assessment of performance and uncertainty in qualitative chemical analysis*. Eurachem/CITAC; 2021.

52. Eurolab. *Measurement uncertainty revisited: Alternative approaches to uncertainty evaluation*. Technical Report 1/2007. Brussels: Eurolab; 2007.
53. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *EP15-A3: User Verification of Precision and Estimation of Bias*. Wayne (PA): CLSI; 2014.
54. Magnusson B, Näykki T, Hovind H, Krysell M, Sahlin E. *Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories*. Nordtest Report TR 537 (ed. 4). Espoo: Nordtest; 2017.
55. Finnish Environment Institute (SYKE). *MUkit (Measurement Uncertainty Kit)*. Helsinki: SYKE; 2012.
56. Fraser CG. *Biological Variation: From Principles to Practice*. Washington (DC): AACC Press; 2001.
57. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *EP29-A: Expression of Measurement Uncertainty in Laboratory Medicine*. Wayne (PA): CLSI; 2012.
58. Medical Device Coordination Group (MDCG). *Guidance on classification rules for in vitro diagnostic medical devices under Regulation (EU) 2017/746*. Brussels: European Commission; 2020.
59. Cornbleet PJ, Gochman N. Incorrect least-squares regression coefficients in method-comparison analysis. *Clin Chem*. 1979 Mar;25(3):432–8.
60. Linnet K. Evaluation of regression procedures for methods comparison studies. *Clin Chem*. 1993 Mar 1;39(3):424–32.
61. Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1983 Nov;21(11):709–20.
62. Young DS. *Effects of Preanalytical Variables on Clinical Laboratory Tests*. 3rd ed. Washington (DC): AACC Press; 2007.
63. Young DS. *Effects of Disease on Clinical Laboratory Tests*. 4th ed. Washington (DC): AACC Press; 2001.
64. Young DS. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*. Washington (DC): AACC Press; 2000.
65. Berkow L. Factors affecting hemoglobin measurement. *J Clin Monit Comput*. 2013 Oct 26;27(5):499–508.
66. Zwart A, van Assendelft OW, Bull BS, England JM, Lewis SM, Zijlstra WG. Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood (ICSH standard 1995). *J Clin Pathol*. 1996 Apr 1;49(4):271–4.
67. Whyte G. Risk management in blood transfusion services. *Vox Sang*. 1998 Jun 9;74(S2):105–9.
68. Martinello F, Snoj N, Skitek M, Jerin A. The top-down approach to measurement uncertainty: which formula should we use in laboratory medicine? *Biochem Med (Zagreb)*. 2020;30(2):020703.
69. Ross SM. *Simulation*. 6th ed. London: Academic Press; 2022.
70. Walpole RE, Myers RH, Myers SL, Ye K. *Probability and Statistics for Engineers and Scientists*. 9th ed. Boston: Pearson; 2012.

71. Daniel WW, Cross CL. *Biostatistics: A Foundation for Analysis in the Health Sciences*. 10th ed. Hoboken: Wiley; 2013.
72. Axelson LC. *Excel for Scientists and Engineers: Numerical Methods*. Hoboken: Wiley-Interscience; 2007.
73. Zimmerman SM, Imlay ML. *Statistical Quality Control Using Excel*. 2nd ed. Milwaukee (WI): ASQ Quality Press; 2003.
74. Botchkarev A. Assessing Excel VBA suitability for Monte Carlo simulation. *Spreadsheets Educ*. 2015;2(3).
75. Wu AHB, editor. *Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests*. 4th ed. Philadelphia: Saunders; 2006.
76. World Medical Association. Declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human participants. Geneva: WMA; 2013.
77. European Code of Conduct for Research Integrity. Berlin: ALLEA; 2024.
78. European Commission. European Charter for Researchers and Code of Conduct for the Recruitment of Researchers. Brussels: EC; 2005.
79. Fraser CG, Petersen PH, Libeer JC, Ricos C. Proposals for setting generally applicable quality goals solely based on biology. *Ann Clin Biochem*. 1997 Jan;34(1):8–12.
80. Petersen PH, Sandberg S, Fraser CG, Goldschmidt H. Influence of index of individuality on false positives in repeated sampling from healthy individuals. *Clin Chem Lab Med*. 2001 Jan 9;39(2):160–6.

Página intencionalmente deixada em branco

9 Apêndices

9.1 Cronograma do estudo

Erro! A origem da referência não foi encontrada.

	Período Cronológico 2024/2025											
	2024					2025						
Atividades	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
Revisão de literatura	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Recolha dos dados							■	■				
Tratamento estatístico dos dados								■	■			
Interpretação dos resultados									■	■		
Definição das considerações finais										■	■	
Conclusão da investigação											■	
Escrita do documento	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
Revisão do documento										■	■	■
Entrega da dissertação												■

9.2 Dados simulados de hemoglobina em mulheres

Fonte: Wu AHB, editor. Tietz clinical guide to laboratory tests. 4th ed. Philadelphia: Saunders; 2006. Unidades: g/dL

Tabela 6 - U_{Rw}

n	DP_R	DP_r
1	11,4	11,6
2	11,4	11,8
3	11,7	11,7
4	11,9	11,7
5	11,6	11,6
6	11,7	11,7
7	12,0	11,6
8	11,8	11,7
9	11,6	11,7
10	11,7	11,6
11	12,1	11,8
12	11,3	11,7
13	11,5	11,7
14	11,3	11,8
15	11,8	11,7
16	11,9	11,7
17	11,8	11,7
18	11,5	11,8
19	11,9	11,7
20	11,8	11,7
21	11,6	11,7
22	11,6	11,6
23	11,8	11,8
24	12,3	11,7
25	11,7	11,7
26	11,8	11,7
27	12,1	11,7
28	11,5	11,7
29	12,0	11,7
30	11,3	11,7
31	11,7	11,9
32	11,6	11,6
33	11,9	11,7
34	11,9	11,6
35	11,6	11,7

Tabela 7 - Dados utilizado para corrigir o *bias*

<i>n</i>	<i>y</i>	Referência	
		<i>x</i>	<i>bias</i>
1	11,7	11,6	0,1
2	11,7	11,6	0,1
3	11,9	11,9	0,0
4	11,7	11,8	-0,1
5	11,5	11,7	-0,2
6	11,6	11,1	0,5
7	11,4	11,4	0,0
8	11,7	11,5	0,2
9	11,7	11,4	0,3
10	11,5	11,5	0,0
11	11,6	11,7	-0,1
12	11,4	11,0	0,4
13	11,6	11,4	0,2
14	11,5	11,6	-0,1
15	11,8	11,8	0,0
16	11,9	11,8	0,1
17	11,6	11,2	0,4
18	11,8	11,8	0,0
19	11,8	11,6	0,2
20	11,2	11,4	-0,2
21	11,8	11,9	-0,1
22	11,8	12,0	-0,2
23	11,9	11,5	0,4
24	11,7	11,3	0,4
25	11,8	11,5	0,3
26	11,6	11,8	-0,2
27	11,9	11,6	0,3
28	11,6	11,8	-0,2
29	11,7	11,2	0,5
30	11,9	11,7	0,2
31	12,0	11,7	0,3
32	12,1	11,6	0,5
33	11,6	11,5	0,1
34	11,5	11,5	0,0
35	11,6	11,8	-0,2

Página intencionalmente deixada em branco

9. Anexos

Anexo I- Parecer do Conselho de Ética da Escola Superior de Saúde de Lisboa

REFERÊNCIA INTERNA DO PROJETO: CE-ESTeSL-Nº.74-2024 – Maria Helena Timoteo
TÍTULO DO PROJETO: Avaliação da Incerteza de Medição no Método de Cianometemoglobina no Doseamento de Hemoglobina
INVESTIGADOR PRINCIPAL: Maria Helena Timoteo
ORIENTADOR: Paulo Pereira
EQUIPA: Ana Tavares
INSTITUIÇÃO PROMOTORA: ESTeSL
INSTITUIÇÃO(ÕES) ENVOLVIDAS: Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa

Exmo. Senhor Prof. Doutor Paulo Pereira
Exma. Senhora Dra. Maria Helena Timoteo, estudante de mestrado,

A CE-ESTeSL teve oportunidade de apreciar, na sua reunião ordinária de 17 de julho de 2025, a documentação enviada após a reunião de esclarecimentos ocorrida por via telemática no passado dia 4 de julho de 2025. Após análise e deliberação dos novos elementos, a CE aprovou por unanimidade a emissão de parecer favorável.

A CE-ESTeSL encontra-se inteiramente ao dispor.

Com os melhores cumprimentos,

Hélder Raposo

Anexo II- Parecer do Conselho de Científico da Escola Superior de Saúde de Lisboa

Caro(a) mestrando(a),

Informamos que a proposta de Trabalho Final foi aprovada em CTC de 11-10-2024.

Solicitamos, obrigatoriamente, resposta a este email com o documento indicado na última coluna.

Nome Estudante	Tema	Orientador	Orientador	Observações
Maria Helena Timóteo	Avaliação da incerteza de medição no método de cianometemoglobina no doseamento de hemoglobina	Ana Sofia Tavares Doutorada ESTeSL	Paulo Rodrigues Pereira Doutorado IPST	No prazo de 10 dias úteis, após conhecimento da aprovação em CTC, entregar na DGA o comprovativo de submissão à CE-ESTeSL. https://www.estesl.ipl.pt/estesl/comissao-de-etica

Com os melhores cumprimentos,

Ana Isa Graça
Técnica Superior