

## — A Avaliação da Incerteza de Medição em Ensaios Microbiológicos



Cálculo de Estimativa  
de Incerteza

# A Avaliação da Incerteza de Medição em Ensaio Microbiológicos



ISO  
29201

First edition  
2012-01-15

**Water quality — The variability of test results and the uncertainty of measurement of microbiological enumeration methods**

*Qualité de l'eau - Variabilité des résultats d'essais et incertitude de mesure des méthodes d'énumération microbienne*

## AGUAS DE CONSUMO HUMANO

A **incerteza combinada** é obtida através da combinação da variância operacional e da variância intrínseca (variância da distribuição)

Variância Operacional ( $u_0$ ) – Incerteza do Método/Técnica

Variância Intrínseca/distribuição ( $u_d$ ) – Incerteza da Distribuição

$$u_{c,rel} = \sqrt{u_{0,rel}^2 + u_{d,rel}^2}$$

## — A Avaliação da Incerteza de Medição em Ensaios Microbiológicos



Cálculo da Variância Operacional ( $u_o$ ), da Reprodutibilidade ( $u_R$ ) e da Variância da Distribuição ( $u_d$ )

Obtida através da seguinte formula:

$$u_o^2 = u_R^2 - u_d^2$$

$u_R$  – Variância da Reprodutibilidade intralaboratorial / Incerteza padrão da Reprodutibilidade intralaboratorial

$u_d$  – Variabilidade Intrínseca (incerteza padrão da distribuição)

$$u_R^2 = \frac{(\log D1 - \log D2)^2}{2}$$

$$u_d^2 = \frac{0,1886}{\text{média n.º de colónias}}$$

Calcular a média dos valores obtidos (2 analistas em 20 amostras) para obtenção do valor da variância operacional a usar no cálculo da Incerteza Combinada

## A Avaliação da Incerteza de Medição em Ensaio Microbiológicos



Amostra n.º	Data	Técnico (c1)	Técnico (c2)	Resultados				Variância de reprodutibilidade ( $U_{rr}^2$ )	Variância da distribuição ( $u_d^2$ )		Variância operacional ( $u_o^2$ )
				$n_{c1}$	$n_{c2}$	Lg $n_{c1}$	Lg $n_{c2}$	$(\text{Lg } n_{c1} - \text{Lg } n_{c2})^2 / 2$	média ( $n_{c1} : n_{c2}$ )	$(0,1886) / n_o$	$(u_{rr}^2 - u_d^2)$
1	23-mar-15			5	8	0,6990	0,9031	0,0208	7	0,0290	-0,0082
2	24-mar-15			15	11	1,1761	1,0414	0,0091	13	0,0145	-0,0054
3	25-mar-15			11	19	1,0414	1,2788	0,0282	15	0,0126	0,0156
4	20-abr-15			21	39	1,3222	1,5911	0,0361	30	0,0063	0,0299
5	27-abr-15			68	45	1,8325	1,6532	0,0161	57	0,0033	0,0127
6	27-abr-15			151	203	2,1790	2,3075	0,0083	177	0,0011	0,0072
								0,0198		0,0111	0,0086

Valor da Estimativa da Incerteza Operacional

A estimativa das incertezas é expressa como **Incerteza Padrão Relativa** ou %.

Para comparar com os valores da  $u_o^2$  com as incertezas em valores relativos, o seu valor deve ser convertido em escala relativa multiplicando por 5,302

No exemplo,  $u_{o,rel}^2 = 5,302 \times 0,0086 = \mathbf{0,0456}$

**Incerteza Operacional Relativa**  $u_{o,rel} = \sqrt{0,0456} = 0,208 \approx \mathbf{21\%}$

# — A Avaliação da Incerteza de Medição em Ensaio Microbiológicos

## Alimentos

INTERNATIONAL  
STANDARD

ISO  
19036

First edition  
2019-10

---

Microbiology of the food chain —  
Estimation of measurement  
uncertainty for quantitative  
determinations

*Microbiologie de la chaîne alimentaire — Estimation de l'incertitude  
de mesure pour les déterminations quantitatives*

A incerteza dos resultados dos ensaios resulta da combinação de, pelo menos, 3 componentes:

Variância Operacional ( $u_0$ ) – Incerteza do Método/Técnica

Incerteza da Matriz ( $u_{matriz}$ )

Variância Intrínseca/distribuição ( $u_d$ ) – Incerteza da  
Distribuição

$$u_{c,rel} = \sqrt{u_{0,rel}^2 + u_{d,rel}^2}$$

## — A Avaliação da Incerteza de Medição em Ensaios Microbiológicos

### Cálculo da Variância Operacional ( $u_o$ ) – INCERTEZA TÉCNICA

O cálculo é feito através do cálculo do Desvio Padrão da Reprodutibilidade ( $S_{IR}$ )

$$S_{IR} = \sqrt{\frac{1}{2n} \sum_{i=1}^n (y_{iA} - y_{iB})^2}$$

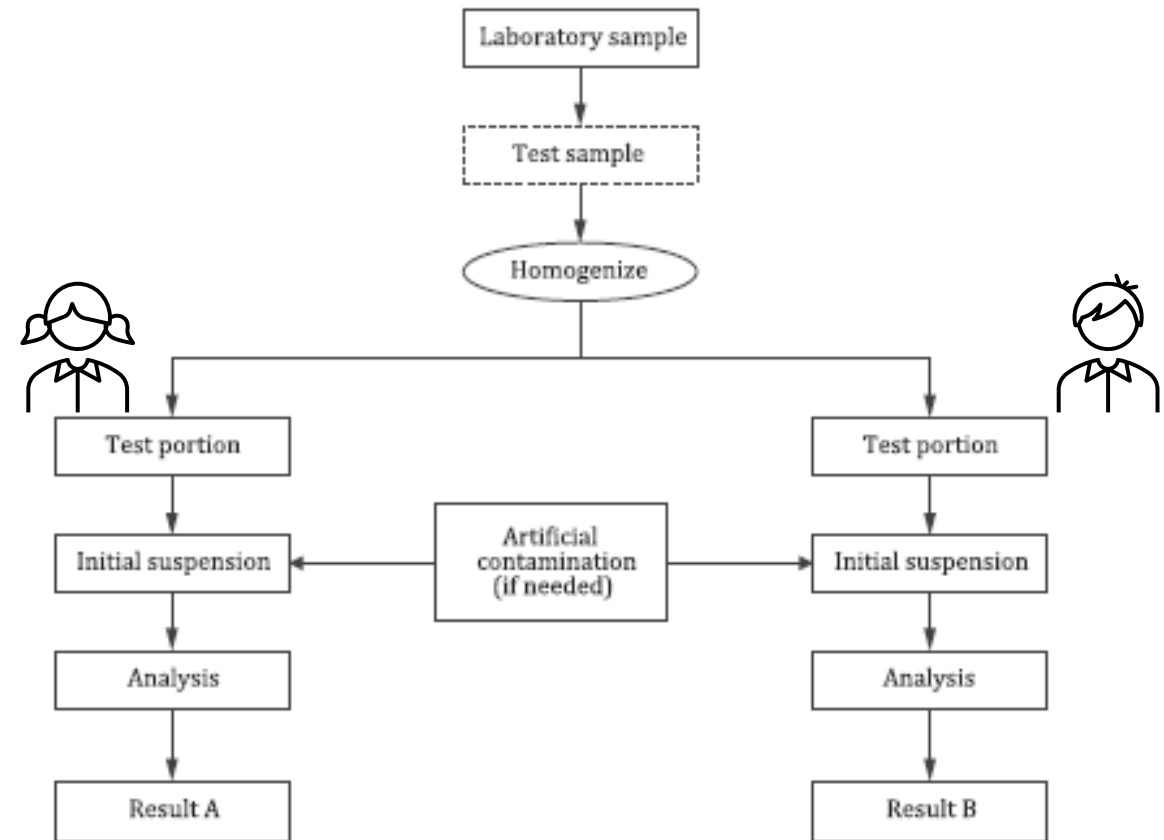
$y_{iA}$  e  $y_{iB}$  – n.º de colónias obtidos transformados em  $\log_{10}$  ufc

## — A Avaliação da Incerteza de Medição em Ensaio Microbiológicos

### Cálculo da Variância Operacional ( $u_o$ ) – INCERTEZA TÉCNICA

#### Protocolo:

1. Executar o protocolo para **cada método de ensaio**;
2. Escolher amostras **homogêneas** ou bem homogeneizadas;
3. Analisar pelo menos **10 amostras** e obter pelo menos **2 resultados aceitáveis** para cada amostra (valores entre 30 ufc/placa e o limite de colónias contadas por placa (150 ou 300)).



## — A Avaliação da Incerteza de Medição em Ensaio Microbiológicos

### Cálculo da Variância da matriz ( $u_{\text{matriz}}$ ) – INCERTEZA MATRIZ

O cálculo é feito através do cálculo do Desvio Padrão da Reprodutibilidade ( $S_{IR}$ )

$$S_{IR} = \sqrt{\frac{1}{2n} \sum_{i=1}^n (y_{iA} - y_{iB})^2}$$

$y_{iA}$  e  $y_{iB}$  – n.º de colónias obtidos transformados em  $\log_{10}$  ufc

## — A Avaliação da Incerteza de Medição em Ensaaios Microbiológicos

### Cálculo da Variância matriz ( $u_{\text{Matriz}}$ ) – INCERTEZA MATRIZ

#### A saber:

Se o matriz for **homogéneo, como os líquidos e os sólidos bem mistrurados**, espera-se um **valor de incerteza pequeno**;

Assim, e de acordo com o ponto 6.2 da ISO 19036, o valor estimado para a incerteza da matriz associada a

- **Amostras homogéneas bem misturadas**
- **Amostras líquidas**

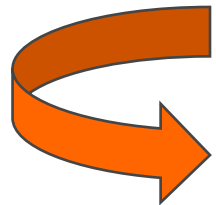


Falta calcular a U associada às matrizes, **sólidos pequenos e outros sólidos...**

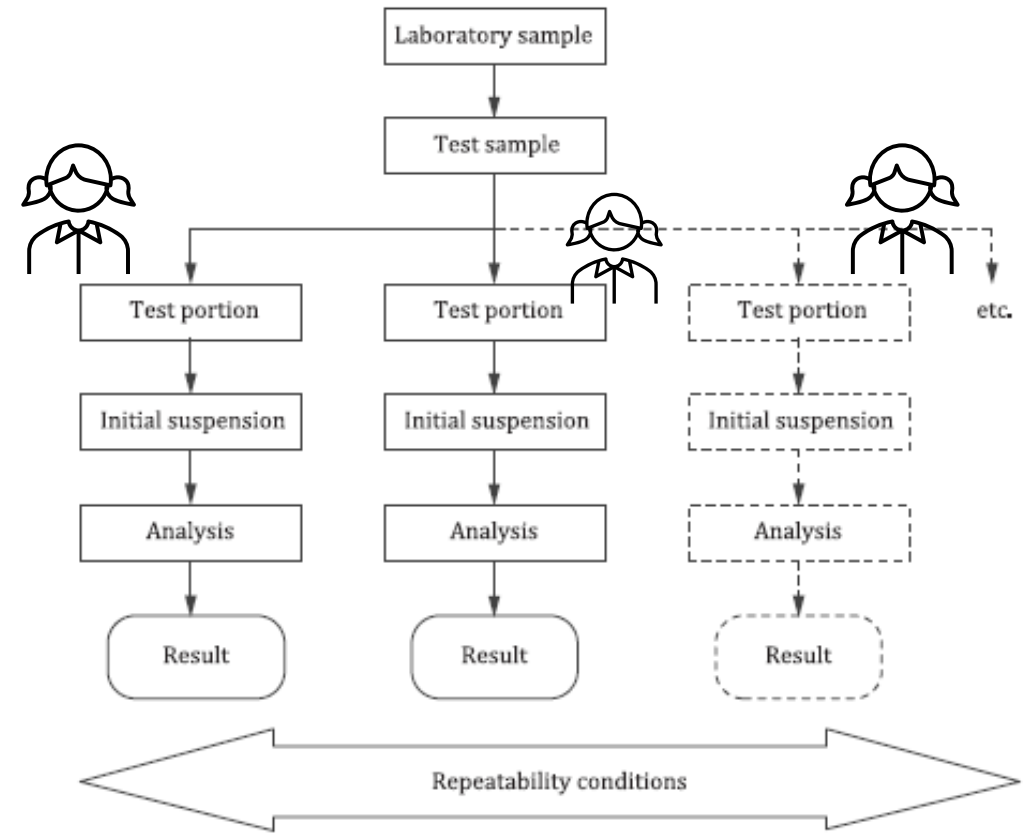
## — A Avaliação da Incerteza de Medição em Ensaios Microbiológicos

### Cálculo da Variância matriz ( $u_{\text{Matriz}}$ ) – INCERTEZA MATRIZ

Pode ser estimada como o **desvio padrão da repetibilidade** dentro da amostra de laboratório, analisando várias tomas em condições de repetibilidade de uma ou mais amostras de laboratório, usando o desenho experimental



Mesmo analista analisa em duplicado, triplicado...

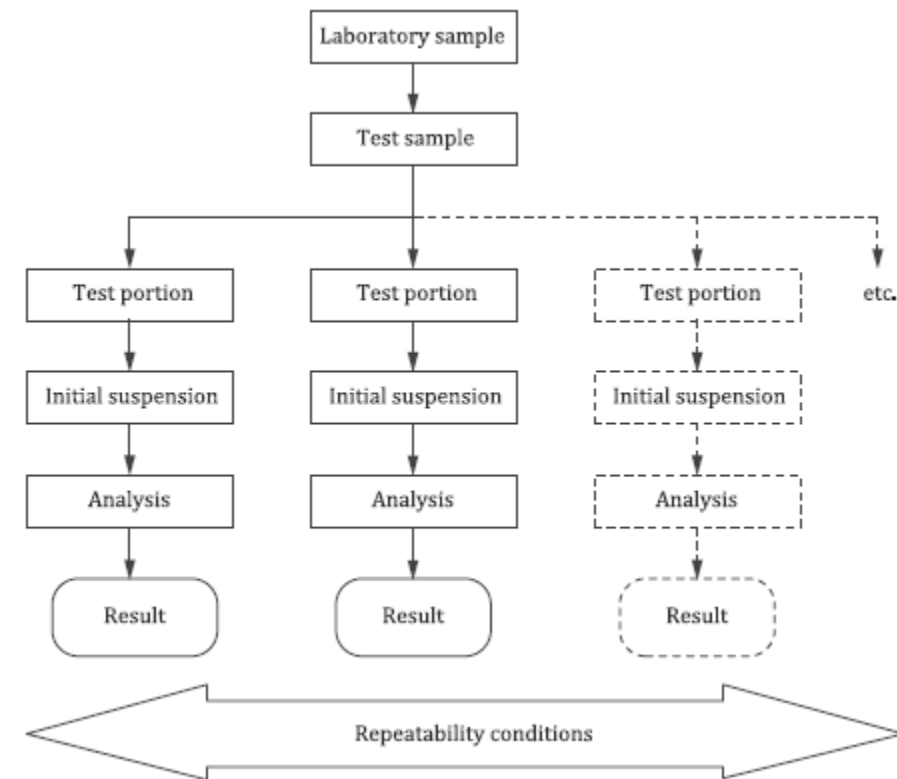


## — A Avaliação da Incerteza de Medição em Ensaio Microbiológicos

### Cálculo da Variância matriz ( $u_{\text{Matriz}}$ ) – INCERTEZA MATRIZ

#### Protocolo:

1. Executar o protocolo para **cada método de ensaio**;
2. Escolher amostras **homogêneas** ou bem homogeneizadas;
3. Analisar pelo menos **10 amostras** e obter pelo menos **2 resultados aceitáveis** para cada amostra (valores entre 30 ufc/placa e o limite de colónias contadas por placa (150 ou 300)).



## — A Avaliação da Incerteza de Medição em Ensaios Microbiológicos

### Cálculo da Variância matriz ( $u_{\text{Matriz}}$ ) – INCERTEZA MATRIZ

#### Notas importantes:

Usar amostras naturalmente contaminadas, pois é improvável que a contaminação artificial reflita a incerteza real da matriz.

Como a incerteza da matriz é considerada independente do parâmetro e do método de teste usado, devem-se escolher parâmetros para os quais é provável que amostras naturalmente contaminadas sejam encontradas.

Os valores de incerteza da matriz obtidos num laboratório podem ser usados por outro laboratório para amostras de laboratório que se espera terem uma incerteza de matriz semelhante.

## — A Avaliação da Incerteza de Medição em Ensaios Microbiológicos

### Cálculo da Variância da Distribuição ( $u_d$ ) – INCERTEZA DISTRIBUIÇÃO

Mesmo para material homogéneo, há componentes mínimos de incerteza que surgem da distribuição aleatória de microrganismos nas amostras, geralmente representada pela distribuição de Poisson.

$$u_{\text{Poisson}} = \frac{1 / \ln(10)}{\sqrt{\sum C}} = \frac{0,4343}{\sqrt{\sum C}}$$

$C$  – n.º de colónias obtidos em ufc

## — A Avaliação da Incerteza de Medição em Ensaio Microbiológicos

### Cálculo da Variância da Confirmação ( $u_{\text{conf}}$ ) – INCERTEZA CONFIRMAÇÃO

Para os ensaios em que é necessária a confirmação de colônias suspeitas, torna-se necessário, calcular a sua variância.

$$u_{\text{conf}} = \frac{1}{2,303} \sqrt{\frac{(n_c + 0,5)(n_p - n_c + 0,5)n_p^2}{(n_p + 1)^2(n_p + 2)n_c^2}}$$

$n_c$  – n.º de colónias confirmadas

$n_p$  – n.º de colónias presumíveis

## — A Avaliação da Incerteza de Medição em Ensaio Microbiológicos

### As componentes da Incerteza Combinada em ALIMENTOS

**Incerteza da Matriz**

$$s_{IR} = \sqrt{\frac{1}{2n} \sum_{i=1}^n (y_{iA} - y_{iB})^2}$$

**Incerteza técnica ou Variância Operacional**

**Incerteza da Distribuição**

$$u_{\text{Poisson}} = \frac{1 / \ln(10)}{\sqrt{\sum C}} = \frac{0,4343}{\sqrt{\sum C}}$$

**Incerteza da Confirmação**

$$u_{\text{conf}} = \frac{1}{2,303} \sqrt{\frac{(n_c + 0,5)(n_p - n_c + 0,5)n_p^2}{(n_p + 1)^2 (n_p + 2)n_c^2}}$$

## A Avaliação da Incerteza de Medição em Ensaios Microbiológicos

### A Incerteza Combinada

$$\text{Colony-count methods, without partial confirmation: } u_c(y) = \sqrt{u_{\text{tech}}^2 + u_{\text{matrix}}^2 + u_{\text{Poisson}}^2}$$

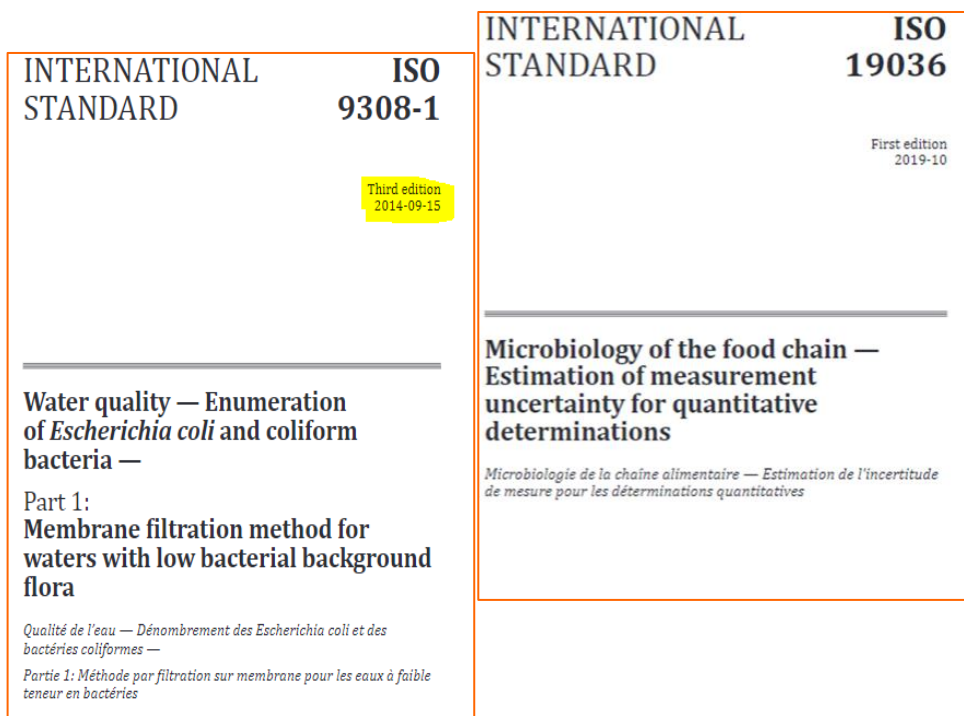
$$\text{Colony-count methods, with partial confirmation: } u_c(y) = \sqrt{u_{\text{tech}}^2 + u_{\text{matrix}}^2 + u_{\text{Poisson}}^2 + u_{\text{conf}}^2}$$

A incerteza combinada poderá ser **expandida** para um nível de confiança de 95%, aplicando o fator  $K=2$

$$U = 2 u_c(y)$$

# A Avaliação da Incerteza de Medição em Ensaio Microbiológicos

- A incerteza técnica só volta a ser calculada se houver mudança de



# A Incerteza na Avaliação de resultados analíticos

## 2.2. Expressão de resultados com Incerteza

- A incerteza deve ser reportada na mesma unidade que o resultado do ensaio e deve ser reportada expandida.

- É expressa como:

- Intervalo de escala log10
- Valores naturais (ufc/g ou ufc/ml)

resultado  $\log_{10}$  com  $\pm U$ :  $y \pm U \log_{10} \text{ ufc / g ou ufc / ml}$

- Ex:  $5,00 \pm 0,31 \log_{10} \text{ ufc / g}$

resultado  $\log_{10}$  + intervalo:  $y \log_{10} \text{ ufc / g ou ufc/ml [y - U; y + U]$

- Ex:  $5,00 \log_{10} \text{ ufc / g [4,69; 5,31]$

resultado ufc + intervalo de  $U$ :  $x \text{ ufc/g ou ml [} 10^{y-U}; 10^{y+U}]$ ;

- Ex:  $1,0 \times 10^5 \text{ ufc / g [} 4,9 \times 10^4; 2,0 \times 10^5]$