



**Coordenação Geral de Acreditação**

**EXEMPLOS DE ESTIMATIVA DE INCERTEZA DE  
MEDIÇÃO EM ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS**

**Documento de caráter orientativo**

**DOQ-CGCRE-053**

**Revisão: 01 – NOV/2022**



## SUMÁRIO

- 1 Objetivo
- 2 Campo de Aplicação
- 3 Responsabilidade
- 4 Histórico da Revisão
- 5 Documento de Referência
- 6 Documentos Complementares
- 7 Siglas
- 8 Considerações Gerais
- 9 Exemplos de estimativa de incerteza de medição
- 10 Agradecimentos

## 1 OBJETIVO

Este documento visa apresentar exemplos de estimativa de incerteza de medição em ensaios microbiológicos. Embora este documento não se constitua em critério específico para a acreditação de laboratórios, ele contém informações consideradas relevantes para a elaboração e a avaliação dos procedimentos de estimativa de incerteza de medição nestas áreas. O principal objetivo desta iniciativa é o de contribuir, especialmente com os laboratórios postulantes ou em fase de acreditação, no atendimento aos requisitos da norma ABNT NBR ISO/IEC 17025 e à política da Dicla / Cgcre relacionada a este tema.

## 2 CAMPO DE APLICAÇÃO

Este documento aplica-se à Dicla, aos laboratórios de ensaios biológicos acreditados e postulantes à acreditação na área de ensaios biológicos e aos avaliadores e especialistas da Coordenação Geral de Acreditação (Cgcre).

## 3 RESPONSABILIDADE

A responsabilidade pela aprovação da revisão deste documento é da Dicla/Cgcre.

## 4 HISTÓRICO DA REVISÃO

Revisão	Data	Itens revisados
1	Nov/2022	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Atualizada a marca da Cgcre no cabeçalho.</li><li>▪ Atualizados os cabeçalhos conforme Nie-Cgcre-020.</li><li>▪ Criados os capítulos 4 “Histórico da Revisão” e 6 “Documentos Complementares”</li><li>▪ Alterado Capítulo 10 Agradecimentos, excluindo o nome dos técnicos.</li></ul>

## 5 DOCUMENTO DE REFERÊNCIA

Multiple-tube fermentation technique for members of the coliform group.	In: Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater Section 9221C, 22 ed. Washington: APHA/AWWA/WEF
-------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------



## 6 DOCUMENTOS COMPLEMENTARES

ABNT NBR ISO/IEC 17025	Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração
Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras: água, sedimento, comunidades aquáticas e efluentes líquidos	São Paulo: CETESB; Brasília: ANA, 326p. 2011
GUM 2008	Avaliação de dados de medição – Guia para incerteza de medição - Rio de Janeiro: INMETRO, 126p., 2012
ISO/TS 19036:2019	Microbiology of food and animal feeding stuffs – guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations.
ISO/TS 19036:2019 (Amd1)	Measurement uncertainty for low counts
EA-04/10	Accreditation for microbiological laboratories. Paris: EA, 26p., 2002

## 7 SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
Cgcre	Coordenação Geral de Acreditação
CT-6	Comissão Técnica de Biologia
Dicla	Divisão de Acreditação de Laboratórios
IEC	<i>International Electrotechnical Commission (Comissão Eletrotécnica Internacional)</i>
Inmetro	Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia
ISO	<i>International Organization for Standardization (Organização Internacional para Normalização)</i>
NBR	Norma Brasileira
UFC	Unidade Formadora de Colônias

## 8 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Este documento é resultado do trabalho da Comissão Técnica de Biologia (CT-6) que compilou exemplos sobre a estimativa de incerteza de medição para ensaios microbiológicos a serem considerados para a realização de serviços de ensaio pelos laboratórios acreditados e postulantes à acreditação que atuam nesta área.

A CT-6 e a Dicla encontram-se abertas para receberem contribuições que venham a corrigir ou complementar este documento.

A norma ABNT NBR ISO/IEC 17025 reconhece que conforme a natureza dos ensaios, um rigoroso cálculo da incerteza de medição pode ser inviável, porém nestes casos, o laboratório deve identificar e reportar todos os componentes da incerteza para obter uma razoável estimativa da mesma.



O Guia GUM 2008 para a expressão da incerteza de medição é o documento padrão adotado e recomenda que sejam feitas as estimativas das fontes individuais da variabilidade que contribuem para a incerteza em um processo de medição (INMETRO, 2012). No entanto, a abordagem “passo-a-passo” não se aplica satisfatoriamente aos ensaios microbiológicos nos quais se torna difícil a construção de um modelo abrangente do processo de medição. Além disso, é complexa a quantificação precisa da contribuição individual de cada etapa no processo analítico, cujo analito pode sofrer variações amplas em seu estado fisiológico. Assim, os ensaios microbiológicos geralmente se enquadram na categoria que dispensa o cálculo rigoroso, metrológica e estatisticamente válidos, da incerteza de medição (EA, 2002). De acordo com as recomendações da ISO/TS 19036, a estimativa da incerteza de medição deve ser realizada através da abordagem global, baseada no cálculo do desvio padrão referente à reprodutibilidade (ISO, 2006).

Para a estimativa da incerteza de medição em ensaios microbiológicos, o processo é baseado na variabilidade total do processo analítico, no qual o produto final é o resultado, o que significa a utilização de uma abordagem global, em vez de uma abordagem passo-a-passo. A variabilidade total inclui a precisão observável (componente aleatório) e a tendência (bias) (componente sistemático). A estimativa da incerteza de medição é derivada do desvio padrão experimental da reprodutibilidade do resultado final do processo de medição, sendo que o desvio padrão corresponde à incerteza padrão combinada (ISO, 2006).

A ISO/TS 19036 reconhece que amostragem introduz uma significativa parte do erro total, porém para a estimativa de incerteza, a amostragem não é considerada na composição da incerteza final, sendo apenas avaliados os fatores relacionados com a execução do ensaio. Para os ensaios microbiológicos, as principais fontes de incerteza durante o processo analítico são: equipamentos, meios de cultura, reagentes, operador e tempo. Assim, é importante enfatizar que a estimativa de incerteza de medição através da abordagem global somente é possível quando os controles de qualidade requeridos pelo respectivo método tenham sido realizados e resultados satisfatórios tenham sido obtidos. Os mais relevantes são: homogeneização das amostras, treinamento e qualificação adequados do pessoal, manutenção e calibração de equipamentos, preparo e armazenamento adequados dos meios de cultura, seleção apropriada do método de análise e uso de materiais de referência (ISO, 2006).

## **9 EXEMPLOS DE ESTIMATIVA DE INCERTEZA DE MEDIÇÃO**

### **9.1 Ensaios microbiológicos em amostras ambientais e alimentos e bebidas**

O cálculo do desvio padrão referente à reprodutibilidade deve ser efetuado para cada técnica utilizada rotineiramente pelo laboratório, para cada tipo de microrganismo ou grupo de microrganismos e para cada grupo consistente de matrizes.

Para as matrizes ambientais, deve ser utilizada a classificação estabelecida no Guia Nacional de Coleta e Preservação de Amostras (ANA, 2011) que estabelece cinco classes: classe A (amostras de água tratada), classe B (amostras de água bruta), classe C (amostras de água residuária), classe D (amostras ambientais sólidas) e classe E (amostras de materiais biológicos).

Para as matrizes de alimentos e bebidas, a classificação é feita com base em suas propriedades físicas e o agrupamento por características similares conforme estabelecido na ISO/TS 19036 (ISO, 2006): líquidos e pós, sólidos bem misturados, sólidos pequenos ou muito pequenos e outros sólidos.



Após a definição da técnica, dos micro-organismos e das matrizes que requerem a estimativa de incerteza, o laboratório deve testar no mínimo 10 amostras com contagens na faixa de contaminação obtidas na rotina do laboratório e com as diferentes condições encontradas no laboratório (incubadoras, técnicos, lotes de meios de cultura etc.) em diferentes dias para contemplar a diversidade de execução dos ensaios. Para a estimativa de incerteza, o laboratório deve estabelecer duas condições, A e B, que devem ser tão diferentes quanto às executadas e, idealmente, incluir as variações encontradas dentro do laboratório, em termos de técnicos, lotes de meios de cultura e reagentes, homogeneização, medidores de pH, incubadoras, tempo de análise etc. Nos casos em que o laboratório tenha um grupo de técnicos, onde cada um executa uma etapa do procedimento, a equipe pode ser considerada como um único operador (ISO, 2006).

O laboratório deve estabelecer duas condições de teste, de modo que todas as combinações possíveis sejam contempladas. Por exemplo, para determinado ensaio, o laboratório utiliza duas incubadoras (A e B) e três técnicos, um efetuando a inoculação das amostras, o segundo as leituras e o terceiro a expressão do resultado final, configurando uma única condição (X). O mínimo de 10 amostras que seriam testadas deve conter as combinações possíveis: AX e BX. Se os técnicos executam as diferentes etapas aleatoriamente, haveria técnicos X, Y e Z e as condições testadas deveriam ser AX, BX, AY, BY, AZ e BZ.

A ISO/TS 19036 estabelece que a estimativa de incerteza utilizando o desvio padrão intralaboratorial deve ser feita somente para contagens maiores que 10 UFC (ISO, 2006). Para baixas contagens, a estimativa da incerteza é obtida a partir do desvio padrão da reprodutibilidade intralaboratorial de contagens maiores que 10 para determinado micro-organismo e matriz. O cálculo leva em consideração um fator de correção associado à distribuição de Poisson (ISO, 2009).

### 9.1.1 Matrizes e ensaios executados pelo laboratório

Sendo o desvio padrão da reprodutibilidade intralaboratorial, a opção preferencial para a estimativa da incerteza de medição (ISO, 2006), este foi adotado pelo laboratório. Para atender aos critérios estabelecidos pela Norma, o laboratório listou os ensaios que executa, discriminando os parâmetros microbiológicos, o método utilizado e as matrizes onde as análises são feitas (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1 – Ensaios na área de atividade meio ambiente na classe de ensaios biológicos:

Sub-área	Produto	Ensaio
Água	Água para consumo humano	Coliformes totais e <i>Escherichia coli</i> - Determinação pela técnica de Presença/Ausência (substrato enzimático). Bactérias heterotróficas - Determinação quantitativa pela técnica de inoculação em profundidade
Água	Água bruta	Enterococos /Estreptococos fecais - Determinação quantitativa pela técnica de membrana filtrante. <i>Escherichia coli</i> – Determinação pela técnica de membrana filtrante
Água	Água residual	Coliformes termotolerantes (fecais) - Determinação quantitativa pela técnica de tubos múltiplos (NMP)
Resíduos sólidos	Lodo de esgoto	Coliformes termotolerantes (fecais) - Determinação quantitativa pela técnica de tubos múltiplos (NMP)



Tabela 2 – Ensaio na área de atividade alimentos e bebidas na classe de ensaios biológicos:

Sub-área	Produto	Ensaio
Bebidas alcoólicas	não- Água mineral	Enterococos /Estreptococos fecais - Determinação quantitativa pela técnica de membrana filtrante. Clostrídios sulfito redutores (formas esporuladas) - Determinação quantitativa pela técnica de membrana filtrante. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> - Determinação quantitativa pela técnica de membrana filtrante

### 9.1.2 Condições do laboratório para estimativa da incerteza

O laboratório também estabeleceu as condições de execução de cada um dos ensaios (incubadoras, técnicos, lotes de meios de cultura etc.) e as faixas de contagem usualmente obtidas para cada ensaio (resultado final). Na tabela 3, estão os ensaios onde o desvio padrão intralaboratorial foi calculado. As condições testadas foram determinadas e para cada amostra foi utilizado um par das condições estabelecidas, de modo que as diferentes condições fossem testadas com as amostras. Para os ensaios onde são obtidos resultados negativos ou com contagens menores que 10 UFC, amostras foram artificialmente contaminadas utilizando-se uma cultura padrão em concentração que permitisse a obtenção de contagens na faixa adequada ao método. O número de amostras testado foi determinado pela faixa usualmente obtida no laboratório, onde para os ensaios onde são obtidas faixas mais amplas, houve a seleção de um número maior de amostras (Tabela 3).

Além das condições especificadas na tabela, foram testadas diferentes amostras em diferentes dias com diferentes lotes de meio de cultura. Os resultados finais obtidos das contagens foram utilizados para o cálculo do desvio padrão intralaboratorial.

Tabela 3 – Ensaio, condições do laboratório, faixas de contagem e número de amostras testadas para a estimativa de incerteza de medição

Ensaio	Condições do laboratório	Condições testadas	Faixa de contagem obtida na rotina	Número de amostras testadas
Bactérias heterotróficas - Determinação quantitativa pela técnica de inoculação em profundidade – água para consumo humano	2 pipetadores (P1 e P2) 2 incubadoras (I1 e I2) 2 técnicos (T1 e T2) Duplicata de cada amostra (característica do ensaio)	P1, I1, T1 P1, I1, T2 P1, I2, T1 P1, I2, T2 P2, I1, T1 P2, I1, T2 P2, I2, T1 P2, I2, T2	<1-5700	30
Enterococos /Estreptococos fecais - Determinação quantitativa pela técnica de membrana filtrante – água bruta	1 incubadora (I1) 3 técnicos (T1, T2 e T3)	I1, T1 I1, T2 I1, T3	10-1000	15
<i>Escherichia coli</i> – Determinação pela técnica de membrana filtrante – água bruta	2 incubadoras de 35 °C (I1, I2) 1 incubadora de 44,5 °C (I3) 2 técnicos (T1 e T2)	I1,I3,T1 I2,I3,T1 I1,I3,T2 I2,I3,T2 I1,I3,T3 I2,I3,T3	50-10000	25
Enterococos /Estreptococos fecais - Determinação quantitativa pela técnica de membrana filtrante – água mineral	1 incubadora 3 técnicos	I1, T1 I1, T2 I1, T3	<1-4	10
Clostrídios sulfito redutores (formas esporuladas) - Determinação quantitativa pela técnica de membrana filtrante – água mineral	1 incubadora 1 técnico	I1, T1 (duplicata da amostra)	<1-2	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> - Determinação quantitativa pela técnica de membrana filtrante – água mineral	1 incubadora 3 técnicos	I1, T1 I1, T2 I1, T3	<1-6	10



### 9.1.3 Estimativa da incerteza de medição a partir do desvio padrão da reprodutibilidade intralaboratorial

A estimativa da incerteza de medição foi calculada usando os critérios estabelecidos na ISO/TS 19036 (ISO, 2006) e a Amd1 (ISO, 2009).

#### a) Cálculo do desvio padrão da reprodutibilidade intralaboratorial

O cálculo do desvio padrão da reprodutibilidade para cada amostra é feito utilizando-se a seguinte fórmula:

$$S_{\text{repro } i}^2 = \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}$$

onde:

i = índice da amostra, i=1 de n (n ≥ 10)

A e B = índices das condições da reprodutibilidade

y = resultados transformados em log<sub>10</sub> (UFC/g) ou log<sub>10</sub> (UFC/mL) ou log<sub>10</sub> (UFC/100 mL)

O desvio padrão da reprodutibilidade para as n amostras de uma dada matriz é obtido utilizando-se a seguinte fórmula:

$$S_{\text{repro}} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S_{\text{repro},i}^2}$$

#### b) Cálculo da incerteza de medição expandida

A incerteza de medição expandida é obtida através da fórmula:

$$U = S_{\text{repro}} \times k$$

Onde k = 2 (nível de confiança de 95%), de acordo com a tabela t de Student

A incerteza deve ser expressa com apenas uma casa decimal.

#### c) Cálculo da incerteza de medição para baixas contagens

Deve-se utilizar a seguinte fórmula:

$$U = 2 \times \sqrt{S_{\text{repro}}^2 + \frac{0,18861}{\sum C}}$$

Onde  $S_{\text{repro}}$  = desvio padrão da reprodutibilidade  
0,18861 = componente devido a distribuição de Poisson  
 $\sum C$  = soma das colônias de todas as placas

#### d) Expressão da incerteza de medição

y ± U (log)  
y log (y-U; y+U)  
x UFC/g ou mL (10<sup>y-U</sup>; 10<sup>y+U</sup>)



Por convenção, os resultados são sempre arredondados para baixo "para o valor na extremidade inferior do intervalo" e sempre arredondado para cima "para o valor na extremidade superior". Deste modo, a cobertura mínima de 95% é preservada.

#### 9.1.4 Estimativa da incerteza – Bactérias heterotróficas – técnica de inoculação em profundidade – água para consumo humano

Os resultados finais das contagens de bactérias heterotróficas testadas nas diferentes condições existentes no laboratório em água destinadas ao consumo humano estão na tabela 4 abaixo:

Tabela 4 - Resultados finais das contagens de bactérias heterotróficas

Amostra	Resultado final (UFC/ml)		log do resultado		Variância
	Condição A (C <sub>A</sub> )	Condição B (C <sub>B</sub> )	y <sub>A</sub> (log C <sub>A</sub> )	y <sub>B</sub> (log C <sub>B</sub> )	$\frac{(y_A - y_B)^2}{2}$
1	200	120	2,30	2,08	0,02461
2	66	90	1,82	1,95	0,00907
3	500	590	2,70	2,77	0,00258
4	40	55	1,60	1,74	0,00956
5	310	290	2,49	2,46	0,00042
6	330	400	2,52	2,60	0,00349
7	39	62	1,59	1,79	0,02027
8	37	50	1,57	1,70	0,00855
9	190	170	2,28	2,23	0,00117
10	2200	2600	3,34	3,41	0,00263
11	200	240	2,30	2,38	0,00313
12	3900	5400	3,59	3,73	0,00999
13	217	180	2,34	2,26	0,00330
14	120	130	2,08	2,11	0,00060
15	28	46	1,45	1,66	0,02324
16	100	110	2,00	2,04	0,00086
17	110	89	2,04	1,95	0,00423
18	45	62	1,65	1,79	0,00969
19	98	130	1,99	2,11	0,00753
20	2400	2000	3,38	3,30	0,00313
21	5700	4800	3,76	3,68	0,00279
22	280	230	2,45	2,36	0,00365
23	30	34	1,48	1,53	0,00148
24	150	190	2,18	2,28	0,00527
25	2000	2500	3,30	3,40	0,00470
26	980	860	2,99	2,93	0,00161
27	3600	3200	3,56	3,51	0,00131
28	20	26	1,30	1,41	0,00649
29	180	230	2,26	2,36	0,00567
30	400	480	2,60	2,68	0,00313

O desvio padrão foi calculado:

$$S_{\text{repro}} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S_{\text{repro},i}^2}$$
$$S_{\text{repro}} = \sqrt{\frac{0,02461 + 0,00907 + 0,00258 + \dots + 0,00313}{30}}$$
$$S_{\text{repro}} = 0,078 \text{ (log}_{10}\text{)}$$





A incerteza de medição expandida obtida foi:

$$\begin{aligned}U &= S_{\text{repro}} \times k \\U &= 0,078 \times 2 \\U &= 0,2\end{aligned}$$

Para expressar a incerteza de medição, foi selecionada a expressão em UFC. Para uma amostra que apresente o resultado de 400 UFC/ml, o resultado pode ser expresso como:  $2,6\log \pm 0,2 \log$  ou 400 UFC/ml [250;630].

Para uma amostra que apresente contagens inferiores a 10 UFC, por exemplo: 8 UFC, a incerteza foi expressa como:

$$\begin{aligned}U &= 2 \times \sqrt{S_{\text{repro}}^2 + \frac{0,18861}{\sum C}} \\U &= 2 \times \sqrt{0,078^2 + \frac{0,18861}{8}} \\U &= 0,3\end{aligned}$$

E o resultado seria expresso como:  $0,9\log \pm 0,3 \log$  ou 8 UFC/ml [4;16].

### 9.1.5 Estimativa da incerteza – Enterococos/Estreptococos fecais – técnica de membrana filtrante – água bruta

Os resultados finais das contagens de Enterococos/Estreptococos fecais testadas nas diferentes condições existentes no laboratório em água bruta estão na tabela 5 abaixo:

Tabela 5 - Resultados finais das contagens de Enterococos/Estreptococos fecais

Amostra	Resultado final (UFC/ml)		log do resultado		Variância
	Condição A (C <sub>A</sub> )	Condição B (C <sub>B</sub> )	y <sub>A</sub> (log C <sub>A</sub> )	y <sub>B</sub> (log C <sub>B</sub> )	$\frac{(y_A - y_B)^2}{2}$
1	120	90	2,08	1,95	0,00780
2	15	10	1,18	1,00	0,01550
3	250	320	2,40	2,51	0,00575
4	700	790	2,85	2,90	0,00138
5	540	480	2,73	2,68	0,00131
6	250	330	2,40	2,52	0,00727
7	450	390	2,65	2,59	0,00193
8	40	32	1,60	1,51	0,00470
9	130	85	2,11	1,93	0,01702
10	980	1000	2,99	3,00	0,00004
11	50	65	1,70	1,81	0,00649
12	800	950	2,90	2,98	0,00279
13	90	110	1,95	2,04	0,00380
14	70	60	1,85	1,78	0,00224
15	25	32	1,40	1,51	0,00575



O desvio padrão foi calculado:

$$S_{\text{repro}} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n s_{\text{repro},i}^2}$$
$$S_{\text{repro}} = \sqrt{\frac{0,0078 + 0,0155 + 0,00575 + \dots + 0,00575}{15}}$$
$$S_{\text{repro}} = 0,074 (\log_{10})$$

A incerteza de medição expandida obtida foi:

$$U = S_{\text{repro}} \times k$$
$$U = 0,074 \times 2$$
$$U = 0,2$$

Para expressar a incerteza de medição, foi selecionada a expressão em UFC. Para uma amostra que apresente o resultado de 80 UFC/ml, o resultado foi expresso como: 1,9log ± 0,2 log ou 80 UFC/ml [50;130].

#### 9.1.6 Estimativa da incerteza – *Escherichia coli* – técnica de membrana filtrante – água bruta

Os resultados finais das contagens de *Escherichia coli* testadas nas diferentes condições existentes no laboratório em água bruta estão na tabela 6 a seguir:

Tabela 6 - Resultados finais das contagens de *Escherichia coli* testadas

Amostra	Resultado final (UFC/ml)		log do resultado		Variância $\frac{(y_A - y_B)^2}{2}$
	Condição A (C <sub>A</sub> )	Condição B (C <sub>B</sub> )	y <sub>A</sub> (log C <sub>A</sub> )	y <sub>B</sub> (log C <sub>B</sub> )	
1	960	760	2,98	2,88	0,00515
2	250	340	2,40	2,53	0,00892
3	240	170	2,38	2,23	0,01121
4	180	270	2,26	2,43	0,01550
5	2000	1200	3,30	3,08	0,02461
6	1000	1600	3,00	3,20	0,02083
7	230	160	2,36	2,20	0,01242
8	410	310	2,61	2,49	0,00737
9	1990	1390	3,30	3,14	0,01214
10	800	1000	2,90	3,00	0,00470
11	8200	10000	3,91	4,00	0,00371
12	3900	5400	3,59	3,73	0,00999
13	240	170	2,38	2,23	0,01121
14	100	150	2,00	2,18	0,01550
15	60	42	1,78	1,62	0,01200
16	1100	1600	3,04	3,20	0,01324
17	10000	8100	4,00	3,91	0,00419
18	810	630	2,91	2,80	0,00596
19	100	130	2,00	2,11	0,00649
20	2600	2000	3,41	3,30	0,00649
21	7700	5800	3,89	3,76	0,00757
22	2800	3600	3,45	3,56	0,00596
23	38	56	1,58	1,75	0,01418
24	140	190	2,15	2,28	0,00879
25	2000	2700	3,30	3,43	0,00849



O desvio padrão foi calculado:

$$S_{\text{repro}} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n s_{\text{repro},i}^2}$$
$$S_{\text{repro}} = \sqrt{\frac{0,0515 + 0,00892 + 0,01121 + \dots + 0,00849}{25}}$$
$$S_{\text{repro}} = 0,10 \text{ (log}_{10}\text{)}$$

A incerteza de medição expandida obtida foi:

$$U = S_{\text{repro}} \times k$$
$$U = 0,10 \times 2$$
$$U = 0,2$$

Para expressar a incerteza de medição, foi selecionada a expressão em UFC. Para uma amostra que apresente o resultado de 1000 UFC/ml, o resultado foi expresso como:  $3 \log \pm 0,2 \log$  ou 1000 UFC/ml [630;1600].

### 9.1.7 Estimativa da incerteza – Enterococos/Estreptococos fecais – técnica de membrana filtrante – água mineral

Os resultados finais das contagens de Enterococos testadas nas diferentes condições existentes no laboratório em água mineral estão na tabela 7 abaixo:

Tabela 7 - Resultados finais das contagens de Enterococos

Amostra	Resultado final (UFC/ml)		log do resultado		Variância
	Condição A (C <sub>A</sub> )	Condição B (C <sub>B</sub> )	y <sub>A</sub> (log C <sub>A</sub> )	y <sub>B</sub> (log C <sub>B</sub> )	$\frac{(y_A - y_B)^2}{2}$
1	27	24	1,43	1,38	0,00131
2	39	45	1,59	1,65	0,00193
3	40	36	1,60	1,56	0,00105
4	50	46	1,70	1,66	0,00066
5	56	59	1,75	1,77	0,00026
6	38	41	1,58	1,61	0,00054
7	36	22	1,56	1,34	0,02287
8	42	49	1,62	1,69	0,00224
9	56	52	1,75	1,72	0,00052
10	25	26	1,40	1,41	0,00015

O desvio padrão foi calculado:

$$S_{\text{repro}} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n s_{\text{repro},i}^2}$$



$$S_{\text{repro}} = \sqrt{\frac{0,00131 + 0,00193 + 0,00105 + \dots + 0,00015}{10}}$$

$$S_{\text{repro}} = 0,056 (\log_{10})$$

A incerteza de medição expandida obtida foi:

$$U = S_{\text{repro}} \times k$$

$$U = 0,056 \times 2$$

$$U = 0,2$$

Para expressar a incerteza de medição, foi selecionada a expressão em UFC. As amostras do laboratório XXYYZZ para o ensaio de Enterococos em água mineral apresentam contagens inferiores a 10 UFC. Por exemplo, uma amostra com resultado de 4 UFC/ml, a incerteza foi expressa como:

$$U = 2 \times \sqrt{S_{\text{repro}}^2 + \frac{0,18861}{\sum C}}$$

$$U = 2 \times \sqrt{0,056^2 + \frac{0,18861}{4}}$$

$$U = 0,4$$

E o resultado foi expresso como:  $0,6 \log \pm 0,4 \log$  ou 4 UFC/ml [2;10].

### 9.1.8 Estimativa da incerteza – Clostrídios sulfito redutores (formas esporuladas) – técnica de membrana filtrante – água mineral

Os resultados finais das contagens de Clostrídios sulfito redutores testados nas diferentes condições existentes no laboratório em água mineral estão na tabela 8 abaixo:

Tabela 8 - Resultados finais das contagens de Clostrídios sulfito redutores

Amostra	Resultado final (UFC/ml)		log do resultado		Variância
	Condição A (C <sub>A</sub> )	Condição B (C <sub>B</sub> )	y <sub>A</sub> (log C <sub>A</sub> )	y <sub>B</sub> (log C <sub>B</sub> )	$\frac{(y_A - y_B)^2}{2}$
1	40	45	1,60	1,65	0,00131
2	80	74	1,90	1,87	0,00057
3	20	32	1,30	1,51	0,02083
4	25	22	1,40	1,34	0,00154
5	38	45	1,58	1,65	0,00270
6	70	75	1,85	1,88	0,00045
7	52	47	1,72	1,67	0,00096
8	33	27	1,52	1,43	0,00380
9	61	70	1,79	1,85	0,00179
10	48	53	1,68	1,72	0,00093



O desvio padrão foi calculado:

$$S_{\text{repro}} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S_{\text{repro},i}^2}$$
$$S_{\text{repro}} = \sqrt{\frac{0,00131 + 0,00057 + 0,02083 + \dots + 0,00093}{10}}$$
$$S_{\text{repro}} = 0,059 \text{ (log}_{10}\text{)}$$

A incerteza de medição expandida obtida foi:

$$U = S_{\text{repro}} \times k$$
$$U = 0,059 \times 2$$
$$U = 0,1$$

Para expressar a incerteza de medição, foi selecionada a expressão em UFC. As amostras do laboratório XXYZZ para o ensaio de Clostrídios sulfito redutores em água mineral apresentam contagens inferiores a 10 UFC. Por exemplo, uma amostra com resultado de 1 UFC/ml, a incerteza foi expressa como:

$$U = 2 \times \sqrt{S_{\text{repro}}^2 + \frac{0,18861}{\sum C}}$$
$$U = 2 \times \sqrt{0,059^2 + \frac{0,18861}{1}}$$
$$U = 0,9$$

E o resultado foi expresso como:  $0 \log \pm 0,9 \log$  ou 1 UFC/ml [0;8].



### 9.1.9 Estimativa da incerteza – *Pseudomonas aeruginosa* – técnica de membrana filtrante – água mineral

Os resultados finais das contagens de *Pseudomonas aeruginosa* testadas nas diferentes condições existentes no laboratório em água mineral estão na tabela 9 abaixo:

Tabela 9 - Resultados finais das contagens de *Pseudomonas aeruginosa*

Amostra	Resultado final (UFC/ml)		log do resultado		Variação
	Condição A (C <sub>A</sub> )	Condição B (C <sub>B</sub> )	y <sub>A</sub> (log C <sub>A</sub> )	y <sub>B</sub> (log C <sub>B</sub> )	$\frac{(y_A - y_B)^2}{2}$
1	42	47	1,62	1,67	0,00119
2	38	27	1,58	1,43	0,01101
3	21	29	1,32	1,46	0,00983
4	66	59	1,82	1,77	0,00119
5	35	41	1,54	1,61	0,00236
6	78	71	1,89	1,85	0,00083
7	55	51	1,74	1,71	0,00054
8	29	34	1,46	1,53	0,00239
9	58	64	1,76	1,81	0,00091
10	32	27	1,51	1,43	0,00272

O desvio padrão foi calculado:

$$S_{\text{repro}} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n s_{\text{repro},i}^2}$$
$$S_{\text{repro}} = \sqrt{\frac{0,00119 + 0,01101 + 0,00983 + \dots + 0,00272}{10}}$$
$$S_{\text{repro}} = 0,057 \text{ (log}_{10}\text{)}$$


A incerteza de medição expandida obtida foi:

$$U = S_{\text{repro}} \times k$$
$$U = 0,057 \times 2$$
$$U = 0,1$$

Para expressar a incerteza de medição, foi selecionada a expressão em UFC. As amostras do laboratório XXYZZ para o ensaio de *Pseudomonas aeruginosa* em água mineral apresentam contagens inferiores a 10 UFC. Por exemplo, uma amostra com resultado de 5 UFC/ml, a incerteza foi expressa como:

$$U = 2 \times \sqrt{S_{\text{repro}}^2 + \frac{0,18861}{\sum C}}$$
$$U = 2 \times \sqrt{0,057^2 + \frac{0,18861}{5}}$$
$$U = 0,4$$

E o resultado foi expresso como: 0,7log ± 0,2 log ou 5 UFC/ml [2;13].

	<b>DOQ-CGCRE-053</b>	<b>REV. 01</b>	<b>PÁGINA 15/15</b>
-----------------------------------------------------------------------------------	----------------------	--------------------	-------------------------

## 10 AGRADECIMENTOS

A Divisão de Acreditação de Laboratórios (Dicla) da Cgcre agradece à **Comissão Técnica de Biologia (CT-06)**, e aos especialistas, que se dedicaram à elaboração deste trabalho.

---