

I-072 – INCERTEZA DE MEDIÇÃO EM ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS**Solange Corrêa⁽¹⁾**

Licenciada em Ciências e Matemática pela Faculdade Porto-Alegrense. Licenciada em Biologia pela Universidade Luterana do Brasil. Pós-graduação em Educação Ambiental pelo Centro Universitário La Salle. Funcionária da Companhia Riograndense de Saneamento.

Andrea Vidal dos Anjos

Bacharel em Farmácia e Bioquímica pela Universidade Católica de Pelotas. Pós-graduação em Saúde Pública pelo Instituto Metodista de Educação e Cultura. Funcionária da Companhia Riograndense de Saneamento.

Raquel Berleze

Bacharel em Direito pelo Centro Universitário La Salle. Formanda em Administração de Empresas pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Funcionária da Companhia Riograndense de Saneamento.

Fernanda Scherer

Estudante de Engenharia Industrial Química pela Universidade Feevale. Funcionária da Companhia Riograndense de Saneamento.

Endereço⁽¹⁾: Avenida Antônio de Carvalho, 2667 – Jardim Carvalho – Porto Alegre - RS - CEP: 95430-001 - Brasil - Tel.: (51) 3215-5760 - e-mail: solangecorreia@corsan.com.br

RESUMO

À medida que a legislação e o mercado exigem excelência e qualidade, os laboratórios que executam ensaios Microbiológicos acompanham esta tendência e necessitam evidenciar a fidedignidade de seus resultados.

É através de cálculos de estimativa de incerteza de medição que estes laboratórios demonstram de maneira clara aos clientes, a adequação de seu programa para controle da qualidade intralaboratorial e o grau de influência de todos os fatores relevantes à execução das análises e, conseqüentemente, na precisão de seus resultados.

Desta maneira, os laboratórios de ensaios devem ter e aplicar procedimentos para a estimativa da incerteza de medição, garantindo que o resultado não gere dúvida.

Este trabalho relata a experiência do Laboratório de Microbiologia do Departamento de Ensaios e Apoio Laboratorial da Companhia Riograndense de Saneamento (DEAL) no estabelecimento do seu Programa para Controle da Qualidade Intralaboratorial, na seleção das principais fontes de incerteza de medição dos ensaios Microbiológicos e na busca de referências para subsidiar a prática do laboratório.

Baseado nos dados de pesquisa e prática, este estudo sugere uma metodologia para cálculo de incerteza de fácil aplicação e entendimento, adequada aos ensaios de Bactérias Heterotróficas (Pour Plate), Coliformes Totais e Escherichia coli (substrato enzimático em cartelas).

PALAVRAS-CHAVE: Incerteza de Medição, Ensaios Microbiológicos, Controle de Qualidade Intralaboratorial.

INTRODUÇÃO

O cálculo da incerteza é uma ferramenta de avaliação do ensaio. Ele demonstra a influência dos fatores (mensuráveis ou não) e a variação que é própria da análise, evidenciando também a eficácia do programa da qualidade de um laboratório.

O DEAL analisa o padrão de potabilidade da água para consumo humano e monitora a qualidade dos mananciais (água bruta); atende a Portaria M.S. 518/2004(1) e Resolução CONAMA 357/2005(2) e, voluntariamente, buscou acreditação segundo Norma ISO/IEC 17025 (3) ao INMETRO que exige o cálculo de incerteza de medição dos ensaios, porém não especifica o rigor e o método de cálculo.

À medida que o cálculo de incerteza de medição é exigência dos órgãos certificadores e o mercado seleciona laboratórios fornecedores de resultados confiáveis, os laboratórios buscam adequação. Mas na área de ensaios Microbiológicos ainda restam dúvidas sobre como aplicar as metodologias existentes.

Sendo assim, este trabalho foi resultado de pesquisa e experimentação. E está dividido em duas partes, pesquisa bibliográfica e aplicada.

Na pesquisa bibliográfica, o grupo concluiu que os dados de incerteza da tabela de McCrady para probabilidade de Coliformes Totais e E.coli em NMP adequada ao uso das cartelas pelo fabricante e o cálculo de incerteza expandida por faixas de contagem para o ensaio de Bactérias Heterotróficas são os mais apropriados.

Na pesquisa aplicada, o grupo operacionalizou a determinação da incerteza de medição dos resultados em NMP através da adaptação e validação da tabela do fabricante do substrato enzimático e de cartelas para quantificação de Coliformes Totais e E.coli; avaliou a determinação da incerteza combinada de reprodutibilidade e repetitividade do ensaio de contagem de Bactérias Heterotróficas para o cálculo da incerteza final (expandida); considerou e ampliou os pontos de controle da qualidade intralaboratorial.

Todo o processo de pesquisa gerou conhecimento aprofundado das técnicas dos ensaios, mapeamento dos pontos fracos e fortes do grupo de trabalho, subsidiou aquisições e melhorias e proporcionou controle do processo com resultados mais seguros e de melhor interpretação.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho foi baseado em pesquisa bibliográfica nacional e internacional e na rotina de trabalho do DEAL.

O Programa para Controle da Qualidade Intralaboratorial foi descrito em procedimento interno baseado no Standard Methods (4) capítulo 9020B e na ISO/TS 11133 (5).

Baseado em documento do CALA (6), o método de cálculo da incerteza de medição para o ensaio de Bactérias Heterotróficas foi do tipo A (através de dados experimentais) com cálculo de repetitividade e reprodutibilidade através de desvio padrão com $n=30$ e fator de abrangência $k=2$ a 95% de confiança.

A incerteza para o ensaio de Coliformes Totais e E.coli foi obtida da tabela e do software do fabricante do substrato enzimático e de cartelas para quantificação, que foi adaptada e validada no laboratório.

O estudo foi aplicado aos resultados dos ensaios de Bactérias Heterotróficas em água tratada do ano de 2009 e ensaios de Coliformes Totais e E.coli em água superficial desde o ano de 2008.

Os métodos de ensaio do laboratório foram descritos em procedimentos internos baseados no Standard Methods (4):

- Coliformes Totais e E.coli: capítulo 9223B – substrato enzimático em cartelas;
- Bactérias Heterotróficas: capítulo 9215 – Pour Plate – Plate Count Agar

PESQUISA BIBLIOGRÁFICA:

Segundo Standard Methods. (4). Capítulo 9020B, um programa completo de controle de qualidade deve ser discutido e dimensionado a cada caso. O Programa para Controle da Qualidade Intralaboratorial do DEAL foi descrito em procedimento interno e contém recomendações gerais sobre as instalações, uso de EPI's, controle de qualidade dos materiais, equipamentos, soluções, meios de cultura e controles específicos dos ensaios (analíticos).

Este Sistema de Garantia da Qualidade garantiu a rastreabilidade em toda a esfera analítica. Como exemplo, os controles dos ensaios geram índices que alimentam cartas de controle para análise crítica do grupo.

Conforme preconiza a ISO/IEC 17025 (3) – item 5.4, o desempenho dos ensaios microbiológicos deve ser verificado através da demonstração com rastreabilidade de todo o programa de controle da qualidade, evidenciando assim o controle da qualidade dos meios de cultura.

O controle da qualidade dos meios, normatizado pela ISO/TS 11133 (5), foi descrito como procedimento interno do DEAL.

BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS:

Conforme Standard Methods. (4) Capítulo 9215, a contagem de Bactérias Heterotróficas depende da interação entre as colônias desenvolvidas e da combinação entre procedimento e meio escolhido, no tempo designado.

A medida de incerteza demonstra a influência dos fatores à execução de uma análise, e, consequentemente, na precisão do resultado. De acordo com CALA (6), seu cálculo requer um adequado programa para controle da qualidade intralaboratorial que evidencie os fatores relevantes e que promova a minimização de suas variabilidades.

Segundo Oliveira (7): Nos ensaios microbiológicos, as principais causas de incerteza inviabilizam o uso de repetitividade porque o número de colônias é imprevisível, varia muito de caso a caso e em contagens baixas é a principal fonte de incerteza (probabilidade de distribuição dos microorganismos) e a instabilidade das amostras porque elas são suspensões (razoavelmente heterogêneas) de partículas, que se multiplicam, morrem, etc. A incerteza do ensaio depende muito de condições que na maioria das vezes não se repetem. Oliveira (7) diz que as principais fontes para os ensaios Pour Plate são: Incertezas das medições volumétricas, diluições, incertezas do analista ao contar as colônias, incerteza da Dispersão de Poison (devido a heterogeneidade da amostra). Também afirma que em métodos em membrana ou Pour Plate a principal fonte de incerteza costuma ser a incerteza da leitura das placas e que outras fontes de incerteza menos previsíveis como heterogeneidade e instabilidade das amostras não podem ser devidamente estimadas.

A seguir algumas definições para repetitividade e reprodutibilidade:

ABNT NBR 14597 (8) diz que a repetitividade exprime a precisão de resultados de ensaios obtidos sob as seguintes condições: medidas realizadas ao mesmo tempo; nenhum ajuste de equipamento entre as medidas; mesmo operador; mesmo equipamento. Ou seja, não há variação dos fatores que podem contribuir com a variabilidade dos resultados de um método de ensaio. E para reprodutibilidade: exprime a precisão de resultados de ensaios obtidos sob as seguintes condições: medidas realizadas em tempos diferentes; ajuste do equipamento executado entre as medições; operadores diferentes; equipamentos diferentes. Ou seja, pelo menos um dos fatores pode contribuir com a variabilidade dos resultados de um método de ensaio.

CETESB (9) indica que para cálculo da repetitividade, é necessário calcular a variância entre cada duplicata, média das variâncias; desvio padrão e o desvio padrão relativo. E para reprodutibilidade: variância entre as contagens de cada placa pelos técnicos, média das variâncias; desvio padrão e o desvio padrão relativo.

CALA (6) sugere que a incerteza seja avaliada por faixas de contagem: 1 a 29; 30 a 99; 100 a 300. Define ainda que a repetitividade mede os erros do método para duplicatas em mesmas condições e a reprodutibilidade mede os erros trocando estas condições.

ISO/TR 13843 (10) diz que repetitividade é a concordância entre os resultados de sucessivas análises da mesma amostra nas mesmas condições. Reprodutibilidade é a concordância entre os resultados de sucessivas análises da mesma amostra trocando as condições de análise.

COLIFORMES TOTAIS / E.COLI:

Segundo ISO/IEC 17025 (3), item 5.4.6 nos casos em que um método de ensaio bem reconhecido especifica limites para os valores de incerteza das principais fontes de incerteza de medição e especifica a forma de apresentação dos resultados calculados, considera-se que o laboratório tenha satisfeito esta seção ao seguir as instruções do método de ensaio e de relato. Ex.: NMP/tabela McCrady.

Conforme a fabricante IDEXX (11), o ensaio quantitativo pela técnica NMP foi idealizada por McCrady (1915) para estimar a densidade microbiana sem necessidade de contagem direta. Baseado na teoria das probabilidades consiste na contagem de tubos positivos de diluições seriadas de uma amostra. A metodologia de substrato enzimático usou o mesmo modelo estatístico que a diluição tradicional em uma série de 15 tubos, distribuindo a amostra em poços (células) de tamanhos diferentes em uma única cartela. No site do fabricante são apresentados valores em NMP para cada combinação numérica de poços (células positivas) com os respectivos limites superiores e inferiores a um nível de confiança de 95%.

De acordo com APLAC (12), CALA (6) e CETESB (9), como o ensaio de coliformes pela técnica NMP já é baseado em uma probabilidade, em geral se aceita os dados de incerteza da própria tabela de McCrady como a incerteza da análise, já que a própria técnica é a maior fonte de incerteza.

PESQUISA APLICADA/ RESULTADOS OBTIDOS:

BACTÉRIAS HETEROTRÓFICAS:

A partir das definições apresentadas, o grupo decidiu que:

- Reprodutibilidade está relacionada com a incerteza da leitura das placas (erros de leitura), isto se deve ao fato da leitura em placas ser uma atividade relacionada a variáveis subjetivas e difíceis de mensurar. A reprodutibilidade demonstra a diferença encontrada pelo grupo de analistas ao contar as colônias de **uma mesma placa, duas vezes**. Seus índices representam a variabilidade dos ensaios realizados pelo grupo para contagens de placas com 30 a 300 UFC (faixa ideal do ensaio).
- Repetitividade está relacionada com a incerteza da heterogeneidade e instabilidade inerente às amostras, relacionada com a multiplicação e morte de microorganismos. Também associada ao tipo de água analisada: águas tratadas, onde os microorganismos estão fora de seu habitat, estressados e por vezes provenientes de biofilmes. A incerteza da heterogeneidade e instabilidade inerente às amostras foi chamada neste estudo, repetitividade. A repetitividade demonstra a capacidade do grupo em “repetir” as contagens de colônias em **duas alíquotas (duas placas) de uma mesma amostra**. A repetitividade representa a variabilidade do método relacionada aos erros na aplicação da técnica que também são difíceis de mensurar como: temperaturas, volumes, tempos, etc...

O grupo também concluiu que:

- Os itens selecionados para controle intralaboratorial deste ensaio evidenciaram os fatores relevantes e promoveram a minimização de suas variabilidades.
- O cálculo da incerteza para Bactérias Heterotróficas pode ser feito levando-se em consideração as duas maiores fontes de incerteza do grupo: as diferenças de contagem e a heterogeneidade das amostras (diferenças de inoculação).
- A incerteza final (incerteza expandida) é resultado das incertezas combinadas relativas da reprodutibilidade com placas com 30 a 300 colônias e da repetitividade obtidas na rotina (por faixas de contagem – 0 a 29 e 30 a 300), com a inoculação e leitura de todas as analistas do grupo.
- Este método de cálculo foi baseado no documento do CALA (6). É incerteza do tipo A que combina resultados de desvios padrão a um nível de confiança de 95%, $k=2$, $n=30$, levando em conta as duas maiores fontes de incerteza do grupo de trabalho. Finalmente, o resultado foi acompanhado do valor da incerteza expandida com uma breve descrição de como foi calculada.

A seguir, na tabela 1, uma simulação de cálculo da incerteza combinada relativa da reprodutibilidade, utilizando 30 dados, de um laboratório com 3 analistas, placas com contagem entre 30 e 300 colônias com contagem de 10 **placas** por analista duas vezes – duplicata 1(D1) e duplicata 2(D2).

Tabela1: Simulação de cálculo da incerteza combinada da reprodutibilidade

Nº	Identificação da amostra ou nº de inscrição	Analista	Análises em duplicata		Logaritmo das contagens		Diferença dos logaritmos R log	(R log) ²
			D1	D2	L1	L2	L1 - L2	
1		X	81	80	1,908	1,903	0,005	0,000
2			101	101	2,004	2,004	0,000	0,000
3			41	44	1,613	1,643	0,031	0,001
4			57	57	1,756	1,756	0,000	0,000
5			63	64	1,799	1,806	0,007	0,000
6			77	78	1,886	1,892	0,006	0,000
7			96	98	1,982	1,991	0,009	0,000
8			42	42	1,623	1,623	0,000	0,000
9			55	56	1,740	1,748	0,008	0,000
10			63	63	1,799	1,799	0,000	0,000
11		Y	66	66	1,820	1,820	0,000	0,000
12			67	71	1,826	1,851	0,025	0,001
13			101	101	2,004	2,004	0,000	0,000
14			60	61	1,778	1,785	0,007	0,000
15			44	44	1,643	1,643	0,000	0,000
16			66	66	1,820	1,820	0,000	0,000
17			67	71	1,826	1,851	0,025	0,001
18			101	101	2,004	2,004	0,000	0,000
19			60	61	1,778	1,785	0,007	0,000
20			44	44	1,643	1,643	0,000	0,000
21		Z	81	80	1,908	1,903	0,005	0,000
22			101	101	2,004	2,004	0,000	0,000
23			41	44	1,613	1,643	0,031	0,001
24			57	57	1,756	1,756	0,000	0,000
25			63	64	1,799	1,806	0,007	0,000
26			77	78	1,886	1,892	0,006	0,000
27			96	98	1,982	1,991	0,009	0,000
28			42	42	1,623	1,623	0,000	0,000
29			55	56	1,740	1,748	0,008	0,000
30			63	63	1,799	1,799	0,000	0,000

Na tabela 1, após cada analista registrar suas contagens, cada resultado (D1 e D2) foi transformado em logaritmo (L1 e L2). Calculada a diferença em módulo entre logaritmos e esta diferença elevada ao quadrado. Após seguidas as equações 1,2,3 e 4 abaixo.

$$\text{Variança}(s^2) = \frac{\sum (R \log)^2}{2n} = 0,00007 \quad \text{Equação (1)}$$

$$\text{Desvio padrão}(SD) = \sqrt{s^2} = 0,00837 \quad \text{Equação (2)}$$

$$\text{Desvio padrão relativo (RSD)} = \frac{SD}{\text{média das contagens em log}} = 0,00461 \quad \text{Equação (3)}$$

$$\text{Incerteza combinada da reprodutibilidade (IC)} = \text{RSD} = 0,00461 \quad \text{Equação(4)}$$

A seguir, na tabela 2, uma simulação de cálculo da incerteza combinada relativa da repetitividade, utilizando 30 dados, de um laboratório com 3 analistas, placas com contagem entre 30 e 300 colônias com inoculação em duplicata de 10 **amostras** por analista – duplicata 1(D1) e duplicata 2(D2).

Tabela 2: Simulação de cálculo da incerteza combinada da repetitividade

Nº	Identificação da amostra ou nº de inscrição	Analista	Análises em duplicata		Logaritmo das contagens		Diferença dos logaritmos R log	(R log) ²
			D1	D2	L1	L2	L1 - L2	
1		X	47	51	1,672	1,708	0,036	0,001
2			86	86	1,934	1,934	0,000	0,000
3			48	50	1,681	1,699	0,018	0,000
4			115	116	2,061	2,064	0,003	0,000
5			46	44	1,663	1,643	0,020	0,000
6			44	49	1,643	1,690	0,047	0,002
7			76	83	1,881	1,919	0,038	0,001
8			46	50	1,663	1,699	0,036	0,001
9			107	110	2,029	2,041	0,012	0,000
10			50	49	1,699	1,690	0,009	0,000
11		Y	46	48	1,663	1,681	0,018	0,000
12			84	86	1,924	1,934	0,010	0,000
13			48	46	1,681	1,663	0,018	0,000
14			110	112	2,041	2,049	0,008	0,000
15			46	47	1,663	1,672	0,009	0,000
16			66	66	1,820	1,820	0,000	0,000
17			67	71	1,826	1,851	0,025	0,001
18			101	101	2,004	2,004	0,000	0,000
19			60	61	1,778	1,785	0,007	0,000
20			44	44	1,643	1,643	0,000	0,000
21		Z	81	80	1,908	1,903	0,005	0,000
22			101	101	2,004	2,004	0,000	0,000
23			41	44	1,613	1,643	0,030	0,001
24			57	57	1,756	1,756	0,000	0,000
25			63	64	1,799	1,806	0,007	0,000
26			77	78	1,886	1,892	0,006	0,000
27			96	98	1,982	1,991	0,009	0,000
28			42	42	1,623	1,623	0,000	0,000
29			55	56	1,740	1,748	0,008	0,000
30			63	63	1,799	1,799	0,000	0,000

Na tabela 2, após cada analista registrar suas contagens, cada resultado (D1 e D2) foi transformado em logaritmo (L1 e L2). Calculado a diferença em módulo entre logaritmos e esta diferença elevada ao quadrado. Após seguidas as equações 5,6,7 e 8 abaixo.

$$\text{Variança}(s^2) = \frac{\sum (R \log)^2}{2n} = 0,00012 \quad \text{Equação (5)}$$

$$\text{Desvio padrão}(SD) = \sqrt{s^2} = 0,01095 \quad \text{Equação (6)}$$

$$\text{Desvio padrão relativo (RSD)} = \frac{SD}{\text{média das contagens em log}} = 0,00617 \quad \text{Equação (7)}$$

$$\text{Incerteza combinada da repetitividade (IC)} = \text{RSD} = 0,00617 \quad \text{Equação(8)}$$

A seguir uma simulação de cálculo da incerteza expandida (equação 9 e 10) a partir dos dados obtidos de incerteza combinada de repetitividade e reprodutibilidade, bem como a expressão dos resultados (equações 11, 12, 13).

CÁLCULO DA INCERTEZA EXPANDIDA:

$$\text{Incerteza combinada (IC)} = \sqrt{(\text{RSDreprodutibilidade})^2 + (\text{RSDrepetitividade})^2} = 0,00774 \quad \text{Equação (9)}$$

$$\text{Incerteza expandida (IE)} = \text{IC} \times k = 0,01548 \quad \text{Equação (10)}$$

K=2 para n=30

Nota: esta incerteza foi calculada em log.

EXPRESSÃO DOS RESULTADOS:

$$\text{Transformar o resultado em UFC/mL para log} \quad \text{Equação (11)}$$

$$\text{Subtrair e somar o valor da IE ao resultado(R): } R \pm \text{IE} \quad \text{Equação (12)}$$

$$\text{Transformar os resultados calculados R, (R - IE), (R + IE) em log para UFC/mL} \quad \text{Equação (13)}$$

Nota: O resultado e a estimativa de incerteza devem ser apresentados para o cliente em UFC/mL.

Exemplo:

Resultado em UFC/mL: 100

Resultado em log: 2

Então: $R = 2$, $(R - \text{IE}) = 1,98452$, $(R + \text{IE}) = 2,01548$

Voltando a resultado para UFC/mL: 100 UFC/mL (96 a 104) UFC/mL

COLIFORMES TOTAIS E ESCHERICHIA COLI (SUBSTRATO ENZIMÁTICO DEFINIDO/ CARTELA):

O laboratório considerou que a principal fonte de incerteza é a própria metodologia (utilização de cartelas) assumindo como sua incerteza, os valores fornecidos pelo fabricante.

Para cada combinação numérica de células positivas grandes e pequenas foi calculada a faixa de incerteza em percentual e apenas a maior percentagem de incerteza considerada. As incertezas foram agrupadas por dezenas e mapeadas por cores na tabela original IDEXX (11).

Para otimizar a rotina, a tabela foi adaptada e transformada em anexo do procedimento de ensaio.

A tabela adaptada (figura 1) foi validada em relação aos valores do software e site IDEXX (figura 2) e da tabela original fornecidos pela IDEXX (11).

Estabeleceu-se um procedimento de diluição e de aceitação/rejeição de combinações numéricas de células (poços) positivas e negativas em diversas diluições de maneira que o resultado utilizado fosse condizente com um critério ou meta de menor incerteza possível.

Nos relatórios de ensaio, a incerteza foi expressa em faixas percentuais.

Ex.: Para uma cartela de amostra diluída (10^{-1}) com 25 células grandes e 16 células pequenas positivas, o resultado é 573 NMP – limites (420 a 759), o que representa 27 a 32% de incerteza. O resultado é expresso como 573 NMP, com incerteza na faixa de 30 a 39%.

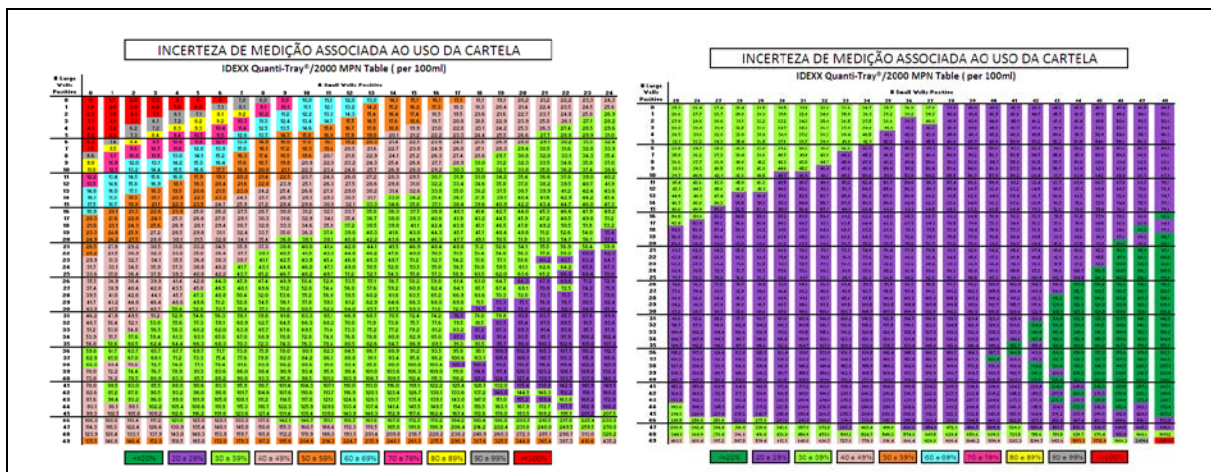


Figura 1: Tabela adaptada.

Quanti-Tray®/2000 Complete MPN Table with 95% Confidence Limits									
Positive Large Wells	Positive Small Wells	MPN	95% Confidence		Positive Large Wells	Positive Small Wells	MPN	95% Confidence	
			Lower Limit	Upper Limit				Lower Limit	Upper Limit
0	0	<1	0,0	3,7	25	0	33,6	22,0	48,9
0	1	1,0	0,0	3,7	25	1	35,0	22,9	51,2
0	2	2,0	0,3	5,6	25	2	36,4	23,8	52,6
0	3	3,0	0,6	7,3	25	3	37,9	25,5	54,0
0	4	4,0	1,1	8,9	25	4	39,3	26,5	55,9
0	5	5,0	1,7	10,5	25	5	40,8	28,3	57,3
0	6	6,0	2,3	12,1	25	6	42,2	29,3	59,0
0	7	7,0	2,9	13,7	25	7	43,7	30,3	60,7
0	8	8,0	3,7	15,3	25	8	45,2	31,3	62,5
0	9	9,0	4,5	15,8	25	9	46,7	33,3	64,2
0	10	10,0	5,2	16,9	25	10	48,2	34,4	66,0
0	11	11,0	5,9	18,5	25	11	49,7	35,4	67,3
0	12	12,0	6,9	20,1	25	12	51,2	36,5	69,0
0	13	13,0	7,8	21,2	25	13	52,7	37,6	70,7
0	14	14,1	8,6	21,9	25	14	54,3	39,7	72,4
0	15	15,1	9,0	23,4	25	15	55,8	40,9	74,0
0	16	16,1	9,6	24,9	25	16	57,3	42,0	75,9

Figura 2: Exemplo de valores de NMP com limites a 95% de confiança.
(valores obtidos a partir do site IDEXX)

CONCLUSÕES / RECOMENDAÇÕES:

Em ensaios de Bactérias Heterotróficas a incerteza final (incerteza expandida), resultado de dados das incertezas combinadas relativas da reprodutibilidade e da repetitividade obtidas na rotina (por faixas de contagem) apresentou-se adequada. O cálculo é simplificado. O resultado é robusto e relativamente fácil de avaliar.

Assumindo a incerteza da tabela de probabilidades como a incerteza dos ensaios de Coliformes, estabeleceu-se um procedimento de diluição e de aceitação/rejeição de resultados, de maneira que o grupo tornou-se autocrítico.

O Programa para Controle da Qualidade demonstrou que os outros fatores críticos (temperaturas de estufas e geladeiras, qualidade dos meios, etc.) estão sob controle e que analisando-se material vivo, a incerteza nem sempre será a ideal.

A variação própria das análises evidenciou a importância do procedimento que uniformiza o ensaio, minimizando os fatores de incerteza não mensurados, mas que influenciam diretamente na análise de precisão por repetitividade e reprodutibilidade do grupo responsável pela análise.

No presente estudo, a maior variabilidade foi aquela relacionada com a inoculação das amostras, definida como repetitividade, promovendo autoconhecimento e busca por melhorias.

Inicialmente o cálculo da incerteza foi mais importante para o grupo de trabalho aprimorar as técnicas do que para apresentar os resultados aos seus clientes, mas no decorrer do tempo, a “imprecisão e a instabilidade” inicial transformaram-se em controle do processo, fornecendo ao cliente resultados mais seguros e de melhor interpretação, consolidando a garantia da qualidade dos resultados dos ensaios realizados pelo laboratório.

O cálculo da incerteza deve ser refeito quando o grupo de analistas alterar a ponto de afetar os resultados significativamente. Estas alterações são demonstradas pelo Programa para Controle da Qualidade, como cartas de controle. O registro destes dados e sua análise crítica evidenciam a necessidade de nova estimativa de incerteza.

As pesquisas e trabalhos nesta área tem se multiplicado. É necessário que o grupo mantenha-se atualizado e pronto a atualizar sua metodologia de cálculo, buscando justamente excelência e qualidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 518, de 25 de março de 2004: estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Brasília: Diário Oficial da União, n. 59, 26/03/04, p. 266-270.
2. CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE (CONAMA). Resolução CONAMA nº 357, de 17 de março de 2005: dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, n. 53, p. 58-63, Mar. 2005.
3. ISO / IEC 17025: 2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
4. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION. 2005. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 21ªed.
5. ISO / TS 11133. Microbiology of food and animal feeding stuffs – Guidelines and preparation and production of culture media.
6. CALA. (Canadian association for laboratory accreditation inc) 2010. P.19 appendix 2 revision 1.10: Measurement Uncertainty Policy. [HTTP://www.cala.ca](http://www.cala.ca). Consultado em 02/05/2011.
7. OLIVEIRA, F. M. Incertezas em ensaios de contagens microbiológicas. *Revista Analytica*, nº45, fev-mar 2010.
8. ABNT NBR 14597:2000, Precisão de métodos analíticos – Determinação da repetibilidade e reprodutibilidade de métodos para ensaios de produtos químicos – Estudo Intralaboratorial.
9. CETESB. Curso de controle de qualidade analítico de laboratórios de análises microbiológicas de água. 27 a 30/Nov/2006.
10. ISO / TR 13843: 2000. Water quality – Guidance on validation of microbiological methods.
11. IDEXX LABORATORIES. [HTTP://al.idexx.com](http://al.idexx.com). Consultado em 02/05/2011.
12. APLAC (Asia Pacific Laboratory Accreditation Cooperation). 2010. APLAC TC005: Interpretation and guidance on the estimation of uncertainty os measuring in testing. [HTTP://www.aplac.org](http://www.aplac.org). Consultado em 02/05/2011.