



Incerteza de Medição em Análises Químicas

AVALIANDO A INCERTEZA DE MEDIÇÃO
DE ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

AULA 08

REALIZAÇÃO





Sumário

1. Incerteza de medição de ensaios microbiológicos - Abordagem global	4
1.1. Organizando o Ensaio	5
1.2. Roteiro para estimativa de incerteza	6
1.3. Exemplo prático.....	8
Referências	14



Apresentação

Nas aulas anteriores vimos a abordagem clássica, para estimativa de incerteza, “step-by-step” consagrada pelo ISO-GUM. Vimos também, um caso específico da lei de propagação de incertezas (LPI) estabelecido no EURACHEM, que chamamos de regra da adição/subtração e multiplicação/divisão.

Quando pensamos nos ensaios microbiológicos estamos tentando simular condições naturais para o crescimento de certa classe de microorganismos que temos interesse, ou seja, estamos aqui falando da incerteza de medição para organismos vivos.

Há uma série de dificuldades em realizar a quantificação da incerteza de ensaios microbiológicos pelo método passo-a-passo do ISO-GUM. Por isto, é difícil a construção de um modelo que englobe corretamente o processo de medição. Entretanto, isto não chega a ser um problema, pois existem outras abordagens possíveis para casos assim.

Na aula de hoje falaremos sobre uma destas possíveis abordagens: a abordagem global!

Vamos começar?

1. Incerteza de medição de ensaios microbiológicos - Abordagem global



A abordagem global, para estimativa de incerteza de medição em ensaios microbiológicos, consiste em tomar o resultado final como expressão da variabilidade do processo de medição, em que estão presentes as componentes do erro aleatório (precisão) e do erro sistemático (tendência). Assim se variarmos as diversas condições de medição em um ensaio microbiológico, podemos assumir que o desvio-padrão destes resultados obtidos em condições diversas representa uma excelente

estimativa da incerteza de medição deste processo. Neste caso, a incerteza de medição é dada pelo desvio-padrão da reprodutibilidade¹ intralaboratorial do ensaio com “n” amostras.

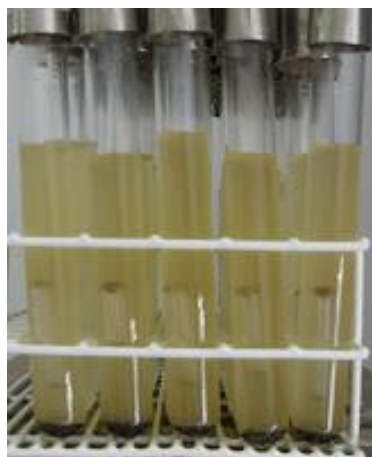
Na prática funciona assim:

Precisamos elaborar uma tabela que contenha a subárea, que indica a matriz do ensaio, o produto e o ensaio propriamente ditos.

Vejamos dois exemplos:

Sub-área	Produto	Ensaio
Água	Água residual	Determinação de Escherichia coli pela técnica de tubos múltiplos.
Água	Água bruta	Determinação de coliformes totais pela técnica do substrato enzimático

¹ “De acordo com o Vocabulário Internacional de Metrologia – VIM 2012, reprodutibilidade é a “Condição de medição num conjunto de condições, as quais incluem diferentes locais, diferentes operadores, diferentes sistemas de medição e medições repetidas no mesmo objeto ou em objetos similares”.



Tubos para análise de coliformes pela técnica de tubos múltiplos

1.1. Organizando o Ensaio

Bom, então agora vamos organizar nosso ensaio.

Um analista que quantifica coliformes totais em água bruta pelo método do substrato enzimático tem a opção de utilizar duas micropipetas diferentes no preparo das soluções de diluição (P1 e P2), duas incubadoras (C1 e C2), e dois lotes diferentes de substrato enzimático (S1, S2). Logo, temos oito combinações possíveis: (P1,C1,S1; P1,C1,S2; P1,C2,S1; P1,C2,S2; P2,C1,S1; P2,C1,S2; P2,C2,S1; P2,C2,S2).

Deve-se analisar no mínimo dez amostras que contemplem a faixa de medição de rotina do laboratório. Este mínimo de dez amostras deve conter todas as oito combinações possíveis, de tal maneira que seja organizado em pares de condições que chamaremos **A** e **B**.

Observe um exemplo na tabela abaixo:

Amostra	Condição A	Condição B
1	P1,C1,S1	P1,C1,S2
2	P1,C2,S1	P1,C2,S2
3	P2,C1,S1	P2,C1,S2
4	P2,C2,S1	P2,C2,S2
5	P1,C1,S1	P1,C2,S1

6	P1,C1,S2	P1,C2,S2
7	P2,C1,S1	P2,C2,S1
8	P2,C1,S2	P1,C2,S1
9	P1,C1,S1	P1,C2,S2
10	P1,C2,S1	P1,C1,S2

É importante que os ensaios sejam realizados em dias diferentes, para que se estabeleça condições de reprodutibilidade. Pode-se variar outros fatores, como o analista, por exemplo. Isto faz parte do planejamento. Lembre-se que aqui, estamos apresentamos apenas um exemplo.



Micropipeta utilizada para preparar diluições

1.2. Roteiro para estimativa de incerteza

A partir de agora, vamos elaborar um roteiro para a estimativa da incerteza de medição.

Então vamos lá!

Etapa 1

Aplicar logaritmo (\log_{10}) nos resultados obtidos na forma de UFC/g, UFC/mL, UFC/100 mL.

Etapa 2

Calcular o desvio padrão da reprodutibilidade para cada amostra pela seguinte equação:



$$S^2_{repro\ i} = \frac{(Y_{iA} - Y_{iB})^2}{2}$$

Onde:

I = índice de amostra

A e B = condições de reprodutibilidade

Y = resultados linearizados pela aplicação do \log_{10}

Etapa 3

Calcular o desvio padrão da reprodutibilidade intralaboratorial pela seguinte equação:

$$S_{repro} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S^2_{repro\ i}}$$

Onde:

n = número de amostras testadas

$S_{repro\ i}$ = é o desvio padrão da reprodutibilidade para cada amostra, calculado na etapa anterior

Etapa 4

Calcular a incerteza expandida como:

$$U = S_{repro} \cdot k$$

Onde k=2 para um nível de confiança de 95%

O resultado deve ser expresso com apenas uma casa decimal.

Etapa 5

Nesta etapa, quando os resultados das contagens for abaixo de 10 UFC deve-se adotar a seguinte equação:

$$U = 2 \sqrt{S^2_{repro} + \frac{0,18861}{\sum C}}$$

Onde:

S_{repro} é o resultado obtido na etapa 3

$\sum C$ é o resultado obtido na contagem (**ATENÇÃO:** este resultado é aquele que se obtêm diretamente da leitura, não precisamos aplicar o logaritmo).

Etapa 6

Expressar o resultado.

O resultado deve ser expresso da seguinte maneira:

X UFC/g ou mL (10^{Y-U} ; 10^{Y+U})

Onde:

X é o valor encontrado para determinada amostra

Y é o logaritmo(\log_{10}) para X

U é a incerteza expandida calculada na etapa 4 ou 5 (para contagens abaixo 10 UFC) na forma de logaritmo (\log_{10})

1.3. Exemplo prático

Então agora vamos a um exemplo!

Imagine o seguinte:

Um laboratório deseja estimar a incerteza de medição da quantificação de Escherichia coli pela técnica de tubos múltiplos em água residual. No planejamento identificou-se como variáveis dois analistas (T1, T2) que realizam o procedimento e duas micropipetas (P1,P2) disponíveis para a diluição. As combinações possíveis são T1,P1, T1,P2, T2,P1 e T2,P2.

Serão realizados testes com 15 amostras.

O planejamento experimental ficou assim:



Amostra	Condição A	Condição B
1	T1,P1	T1,P2
2	T2,P1	T2,P2
3	T1,P1	T2,P2
4	T1,P2	T2,P1
5	T1,P1	T2,P1
6	T1,P2	T2,P2
7	T1,P1	T1,P2
8	T2,P1	T2,P2
9	T1,P1	T2,P2
10	T1,P2	T2,P1
11	T1,P1	T2,P1
12	T1,P2	T2,P2
13	T1,P1	T1,P2
14	T2,P1	T2,P2
15	T1,P1	T2,P2

Considere que os testes foram agrupados em três blocos de cinco testes, cada bloco sendo realizado em dias diferentes e que os resultados obtidos são os apresentados a seguir:

Amostra	Condição A (UFC/mL)	Condição B (UFC/mL)
1	85	92
2	246	210
3	12000	10800
4	5000	4700
5	865	765
6	478	420
7	1564	1900
8	1876	1732
9	91	145
10	234	201
11	765	714
12	6591	7000

13	845	800
14	890	770
15	54	78

Agora vamos aplicar o logaritmo (\log_{10}) nos resultados.

Amostra	Condição A – Ca (UFC/mL)	Condição B – Cb (UFC/mL)	Log Ca	Log Cb
1	85	92	1,93	1,96
2	246	210	2,39	2,32
3	12000	10800	4,08	4,03
4	5000	4700	3,70	3,67
5	865	765	2,94	2,88
6	478	420	2,68	2,62
7	1564	1900	3,19	3,28
8	1876	1732	3,27	3,24
9	91	145	1,96	2,16
10	234	201	2,37	2,30
11	765	714	2,88	2,85
12	6591	7000	3,82	3,85
13	845	800	2,93	2,90
14	890	770	2,95	2,89
15	54	78	1,73	1,89

Em seguida devemos calcular o $S^2_{repro\ i}$ para cada amostra.

Amostra	Condição A – Ca (UFC/mL)	Condição B – Cb (UFC/mL)	Log Ca	Log Cb	$S^2_{repro\ i}$
1	85	92	1,93	1,96	0,00059
2	246	210	2,39	2,32	0,00236
3	12000	10800	4,08	4,03	0,00105
4	5000	4700	3,70	3,67	0,00036
5	865	765	2,94	2,88	0,00142
6	478	420	2,68	2,62	0,00158

7	1564	1900	3,19	3,28	0,00357
8	1876	1732	3,27	3,24	0,00060
9	91	145	1,96	2,16	0,02047
10	234	201	2,37	2,30	0,00218
11	765	714	2,88	2,85	0,00045
12	6591	7000	3,82	3,85	0,00034
13	845	800	2,93	2,90	0,00028
14	890	770	2,95	2,89	0,00198
15	54	78	1,73	1,89	0,01275

Assim $\sum_{i=1}^n S^2_{repro\ i}$ é o somatório da coluna $S^2_{repro\ i}$:

$$\sum_{i=1}^n S^2_{repro\ i} = 0,04998$$

Podemos calcular o desvio padrão da reprodutibilidade:

$$S_{repro} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n S^2_{repro\ i}} = \sqrt{\frac{0,04998}{15}} = 0,0577$$

A incerteza da medição é:

$$U = S_{repro} \cdot k = 0,0577 \cdot 2 = 0,1$$

Vamos expressar dois resultados hipotéticos e utilizar esta incerteza utilizando a regra estabelecida na etapa 6.

Amostra A – resultado – 620 UFC/100 mL

$$X = 620$$

$$y = \log 620 = 2,79$$

$$10^{y-U} = 10^{2,79-0,1} = 10^{2,69} = 490$$

$$10^{y+U} = 10^{2,79+0,1} = 10^{2,89} = 776$$

O resultado desta amostra deve ser expresso como:

620 UFC/ mL (490; 776)

Amostra B – resultado – 5 UFC/100 mL

Neste caso, como a contagem é menor que 10 UFC/100 mL devemos aplicar a equação da etapa 5.

$$U = 2 \sqrt{S^2_{repro} + \frac{0,18861}{\sum C}} = 2 \cdot \sqrt{0,0577^2 + \frac{0,18861}{5}} = 2 \cdot \sqrt{0,0410} = 0,4$$

$X = 5$

$y = \log 5 = 0,70$

$10^{y-U} = 10^{0,7-0,4} = 10^{0,3} = 2$

$10^{y+U} = 10^{0,7+0,4} = 10^{1,1} = 13$

O resultado desta amostra deve ser expresso como:

5 UFC/ mL (2; 13)

Ficou mais fácil entender?

Nosso curso termina por aqui!

Como você pôde ver, a incerteza da medição faz parte do nosso cotidiano e tem um papel essencial para expressar o grau de dúvida associado ao resultado da medição.

Conhecer a importância e o impacto da incerteza da medição possibilita aprimorar os processos, e assim conquistar um diferencial competitivo, pois os clientes costumam buscar laboratórios com maior confiabilidade em seus processos de medição.

Quando há um limite de tolerância máximo ou mínimo para um mensurando, seja ele estabelecido por uma legislação ou acordo entre as partes envolvidas no processo, a incerteza torna-se imprescindível para a interpretação correta do resultado da medição. A não consideração da incerteza de medição ou

um erro de medição em seu, cálculo pode inviabilizar um processo e causar grandes prejuízos as partes envolvidas.

Esperamos também, que você tenha aprendido a calcular a incerteza de medição para ensaios microbiológicos.

Lembre-se! Você deve planejar bem as condições experimentais, e depois basta aplicar as equações conforme as etapas apresentadas. É recomendável que o valor da incerteza para cada ensaio seja atualizado frequentemente.

Sabemos que esse conteúdo é bastante complexo e, por esse motivo, ele foi desenvolvido cuidadosamente para que fosse apresentado de forma clara, acessível e com aplicabilidade prática. Agora, é adaptar o que aprendeu à sua realidade e aos processos de medição que você realiza em sua rotina.

Esperamos que você tenha gostado do curso e estamos inteiramente abertos às suas críticas e sugestões, pois buscamos melhoria contínua em nossos processos de capacitação.

Desejamos imenso sucesso em sua caminhada, e esperamos vê-lo novamente em nossos cursos.

Até a próxima!



Referências

ABACKERLI, A. J. et al. Metrologia para a qualidade. 1. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2015

ALBERTAZZI, A.; de SOUZA, A. R. Fundamentos da metrologia científica e industrial. 1. ed. Barueri, SP: Manole. 2008.

da SILVA NETO, J. C. Metrologia e Controle Dimensional. 1. ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2012.

GUEDES, P. Metrologia industrial. 1. ed. Lisboa, Portugal: ETEP. 2011.

INMETRO. GUM: Guia para a Expressão de Incerteza de Medição. 1ª edição. Rio de Janeiro. 2008.

INMETRO. VIM – Vocabulário Internacional de Metrologia: conceitos fundamentais e gerais e termos associados. Edição luso-brasileira. Rio de Janeiro. 2012.

MENDES, ALEXANDRE; ROSARIO, PEDRO PAULO. Metrologia & Incerteza de medição. Rio de Janeiro, RJ. EPSE. 2005.

SANTANA, R. G. Metrologia. 1. ed. Curitiba: Livro Técnico. 2012.

EURACHEM. Quantifying uncertainty in analytical measurement : EURACHEM / CITAC Guide CG 4 . United kingdom, 2012. (Third edition)

EURACHEM. Use of uncertainty information in compliance assessment: EURACHEM/CITAC Guide. United kingdom, 2007. (First edition)

RELACRE . Guia eurachem/relacre 1: Exemplo de cálculos de incertezas. Portugal, 2002. (Primeira edição)

EURACHEM. Ea guide 04/10: Accreditation for Microbiological Laboratories. United Kingdom, 2002. (Second edition)

ISO. Iso 19036:2019: Microbiology of the food chain ? Estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations. Switzerland, 2019. (First edition).