

Estimación de la medición de incertidumbre asociada a ensayos microbiológicos

Demaria, M.⁽¹⁾; Ottino, P.⁽¹⁾; Cortes, M.⁽¹⁾; Speranza, J.⁽¹⁾

⁽¹⁾INTI-Lácteos división Rafaela

Introducción

Tradicionalmente los resultados cuantitativos de los análisis microbiológicos de alimentos se han presentado sin ninguna estimación de incertidumbre, difiriendo marcadamente de los análisis químicos.

Existen varias razones por las cuales ocurre esta diferencia, entre ellas se pueden mencionar: la no disponibilidad de materiales de referencia en matrices lácteas con un contenido de microorganismos establecido para ensayos microbiológicos y la naturaleza de los microorganismos que hacen difícil la aplicación de los principios utilizados en análisis químico.

Este trabajo tiene por finalidad el desarrollo de una sistemática que permita una estimación de la medición de incertidumbre asociada a ensayos microbiológicos.

Metodología / Descripción Experimental

Por lo enunciado anteriormente y ante la necesidad de expresar los resultados de ensayos microbiológicos con un valor de incertidumbre adecuado, se realizaron una serie de cálculos los cuales se basan teóricamente en la publicación del Centro de Metrología y Acreditación ^[1]

Para la realización de estos cálculos se evaluaron distintas contribuciones de incertidumbre, como se detalla a continuación:

—Incertidumbre estándar relativa del *factor de dilución*: el término **factor de dilución** fue seleccionado para denotar el número de veces que la muestra original fue diluida para obtener la dilución final. Es el recíproco de la dilución y es usado como un múltiplo cuando se convierte el recuento a la concentración de analito a la muestra original

- Incertidumbre estándar relativa del volumen de la porción del ensayo
- Incertidumbre estándar relativa de la distribución estadística de las colonias (Scatter Poisson)
- Incertidumbre estándar relativa de la lectura común del laboratorio

- Incertidumbre estándar relativa de la repetibilidad del ensayo
 - Incertidumbre estándar relativa de la pesada de la muestra
- Una vez corroborada la incidencia de cada incertidumbre individual se procedió a calcular la *incertidumbre relativa combinada*.

Resultados

La incidencia de cada incertidumbre se corroboró mediante la aplicación de las siguientes fórmulas:

Incertidumbre estándar relativa:

- Del factor de dilución (w_f)

$$w_f^2 = \frac{(u_b^2 + b^2 \cdot w_a^2)}{(a+b)^2}$$

Donde **a**: volumen de suspensión transferida, **b**: es el volumen de la dilución estéril, **u_b**: incertidumbre estándar de b y **w_a**: incertidumbre estándar relativa de a

- Del volumen de la porción del ensayo (w_v)

$$w_v = u_v / V$$

Donde: **u_v**: incertidumbre absoluta del volumen y **V**: es la porción del volumen a analizar

—De la distribución estadística de las colonias (Scatter Poisson) (w_z)

$$w_z^2 = 1 / \sum z = 1 / Z$$

Donde $\sum z$: es la suma de las colonias observadas

—De la lectura común del laboratorio (w_T)

$$w_T^2 = w_t^2 \frac{\sum z_i^2}{(\sum z_i)^2}$$

Donde w_T : incertidumbre combinada de lectura de la suma de los recuentos de colonias, w_t : incertidumbre relativa de lectura de la una placa (asumida constante), z_i : recuento de colonias i placas .

—Del la repetibilidad del ensayo (w_r)

$$w_r = \frac{\log n \text{ desviación estándar}}{\log n \text{ promedio}}$$

Donde w_r : es la incertidumbre estándar relativa de repetibilidad

—Del la pesada de la muestra (w_B)

$$w_B = \sqrt{w_C^2 + s_P^2}$$

Donde w_B : incertidumbre estándar relativa de la pesada, w_C : incertidumbre estándar relativa de la calibración de la balanza y s_P : desviación estándar de la pesada.

-Incertidumbre estándar relativa combinada:

$$w_i = \sqrt{w_F^2 + w_V^2 + w_Z^2 + w_T^2 + w_r^2}$$

Donde w_i : es la incertidumbre combinada del ensayo, w_F : es la incertidumbre estándar relativa del factor de dilución, w_V : es la incertidumbre estándar del volumen, w_Z : es la incertidumbre estándar de la distribución de las colonias, w_T : es la incertidumbre estándar relativa de la lectura, w_r : es la incertidumbre estándar relativa de repetibilidad.

Conclusiones

Como producto de lo expuesto precedentemente, se obtuvo el valor de incertidumbre relativa combinada de los ensayos, la cual puede ser expresada en porcentaje

y transferirse al resultado del ensayo microbiológico en cuestión

Referencias

- [1] "Uncertainty of quantitative determinations derived by cultivation of microorganisms" (Niemelä S, 2002)
- [2] Guía ENAC para la acreditación de laboratorios que realizan análisis microbiológicos – G-ENAC-04 Rev. 2-3-97
- [3] Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración – ISO /IEC 17025 edición 1999
- [4] Bacteriological Analytical Manual – U. S. Food & Drug Administration Center for Food Safety & Applied Nutrition - Enero 2001 Apendice 2 -Número más probable para serie de diluciones
- [5] J. C. Eur. J. Appl. Biotechnol, Tabla de NMP de Man, 17: 301-305 (1983)

Para mayor información contactarse con:
Demaria Mónica – demaria@inti.gov.ar