

aoxlab	Procedimiento de estimación de incertidumbres  AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-002
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2023-09-06

# Procedimiento de estimación de incertidumbres




AOXLAB S.A.S.

aoxlab	Procedimiento de estimación de incertidumbres AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-002
		Revisión: 4
		Inicio de vigencia: 2023-09-06

## DOCUMENTO CONTROLADO


PROC-TC-002 Procedimiento de estimación de incertidumbres.

Copia controlada No.: 1

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
<b>Elaboró:</b>	Angela P. Patiño Pérez	Director de Calidad		2023-09-04
<b>Revisó:</b>	Darío Pardo Pardo	Director Técnico		2023-09-06
<b>Aprobó:</b>	Yasmín E. Lopera Pérez	Gerente		2023-09-06
<b>Localización del documento:</b>		<a href="http://107.190.139.42/~aoxlabsgc/sig/">http://107.190.139.42/~aoxlabsgc/sig/</a>		


## Control de Cambios

Estado	Fecha de inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Obsoleto	2018/02/15	1	Ninguno (versión original).	NBR	YELP	YELP
Obsoleto	2020-08-27	2	Se detallaron las directrices para estimar la incertidumbre de las mediciones de acuerdo con el enfoque de la Norma ISO 11352:2012	DPP	JFBA	YELP
Obsoleto	2021-09-06	3	Se documentaron las directrices para la estimación de la incertidumbre de métodos de ensayo microbiológicos acorde con la norma ISO 19036:2019 y 29201: 2012	DPP	YELP	YELP
Vigente	2023-09-06	4	Se ajusta estilo según manual identidad	APPP	DPP	YELP


	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

## ÍNDICE

1.	OBJETIVO Y ALCANCE.....	5
1.1.	Objetivo.....	5
1.2.	Alcance.....	5
2.	DEFINICIONES Y NOTACIONES.....	5
2.1.	Definiciones.....	5
2.2	Notaciones.....	6
3.	REFERENCIAS.....	7
4.	DESARROLLO.....	8
4.1	Especificación del mensurando.....	8
4.2	Identificación de las fuentes de incertidumbre.....	9
4.2.1	Recopilación de la información faltante.....	11
4.2.2	Conciliación los requerimientos de información con los datos disponibles.....	11
4.2.3	Plan para obtener la información requerida faltante.....	11
4.3	Evaluación de los componentes de la incertidumbre.....	11
4.3.1	Evaluación tipo A.....	11
4.3.2	Evaluación tipo B.....	12
4.4	Cuantificación de la incertidumbre.....	15
4.4.1	Cuantificación de la incertidumbre asociada a cada fuente individual.....	15
4.4.2	Cuantificación de la incertidumbre basada en fuentes globales.....	15
4.5	Cálculo de la incertidumbre estándar combinada.....	23
4.5.1	Ensayos fisicoquímicos.....	23
4.5.2	Ensayos microbiológicos.....	26
4.6	Cálculo de la incertidumbre expandida.....	33
4.6.1	Ensayos fisicoquímicos.....	34
4.6.2	Ensayos microbiológicos.....	34
4.7	Reporte de la incertidumbre.....	35
4.7.1	Ensayos fisicoquímicos.....	35
4.7.2	Ensayos microbiológicos.....	35
5	RESPONSABILIDADES.....	37
5.1	Director Técnico.....	37
5.2	Líder de Laboratorio.....	37
5.3	Analistas.....	37

	<p style="text-align: center;">Procedimiento de estimación de incertidumbres</p> <p style="text-align: center;">AOXLAB S.A.S</p>	Identificación: <a href="#">PROC-TC-002</a>
		Revisión: <a href="#">4</a>
		Inicio de vigencia: <a href="#">2023-09-06</a>

6	FORMATOS RELACIONADOS.....	37
7	ANEXOS.....	37

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

## 1. OBJETIVO Y ALCANCE.

### 1.1. Objetivo.

Definir las directrices para estimar la incertidumbre de las mediciones realizadas en el Laboratorio, conforme los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017 [1].

### 1.2. Alcance.

Aplica para todas las mediciones realizadas en el Laboratorio.

## 2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

### 2.1. Definiciones.

#### Documento [2].

Información y su medio de soporte.

#### Ensayo/prueba [2].

Determinación de una o más características de acuerdo con un procedimiento.

#### Evaluación tipo A (de incertidumbre) [6]

método de evaluación de la incertidumbre mediante el análisis estadístico de series de observaciones

#### Evaluación tipo B (de incertidumbre) [6]

método de evaluación de la incertidumbre por medios distintos del análisis estadístico de series de observaciones

#### Factor de cobertura [6]


factor numérico utilizado como un multiplicador de la incertidumbre estándar combinada para obtener una mayor incertidumbre

#### Incertidumbre (de medición) [6]

parámetro, asociado con el resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían atribuirse razonablemente al mensurando.

#### Incertidumbre estándar [6]

incertidumbre del resultado de una medición expresada como una desviación estándar

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b> AOXLAB S.A.S	Identificación: <a href="#">PROC-TC-002</a>
		Revisión: <b>4</b>
		Inicio de vigencia: <a href="#">2023-09-06</a>

### **Incertidumbre estándar combinada [6]**

incertidumbre estándar del resultado de una medición cuando ese resultado se obtiene de los valores de un número de otras cantidades, igual a la raíz cuadrada positiva de una suma de términos, siendo los términos las varianzas o covarianzas de estas otras cantidades ponderadas de acuerdo con cómo el resultado de la medición varía con los cambios en estas cantidades

### **Incertidumbre expandida [6]**

cantidad que define un intervalo sobre el resultado de una medición que se puede esperar que abarque una gran fracción de la distribución de los valores que podrían estar razonablemente asignados al mensurando

### **Procedimiento [2].**

Forma especificada para llevar a cabo una actividad o un proceso.


### **2.2 Notaciones.**

Para propósitos de este documento, se hacen las siguientes consideraciones:

**“Laboratorio”**: se refiere al laboratorio AOXLAB S.A.S.


**“Informe de resultados”**: se refiere a los informes de ensayo que emite el Laboratorio.

**“Servicios”**: para referir a los servicios de ensayo que el Laboratorio ofrece.

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

### 3. REFERENCIAS.

- [1] ISO/IEC 17025:2017 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories / Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración.
- [2] ISO 9000:2015 Quality management systems -- Fundamentals and vocabulary/ Sistemas de gestión de la calidad-- Fundamentos y vocabulario.
- [3] VIM: 2012, Vocabulario internacional de metrología – Conceptos básicos y generales y términos asociados. 3ª Ed. Española. Centro Español de Metrología.
- [4] ISO/IEC 17000:2005 Conformity assessment -- Vocabulary and general principles.
- [5] ISO 19036:2019 Microbiology of food and animal feeding stuffs — Guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations.
- [6] JCGM100:2008 -- Guide to the Expression of Uncertainties in Measurement. <https://www.iso.org/sites/JCGM/GUM/JCGM100/C045315e.html/C045315e.html?csnumber=50461>
- [7] GUÍA CG 4 EURACHEM / CITAC-- Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas. Primera edición Española 2014
- [8] ISO 11352:2012-- Water quality — Estimation of measurement uncertainty based on validation and quality control data
- [9] ISO 29201:2012 Water quality — The variability of test results and the uncertainty of measurement of microbiological enumeration methods

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	Identificación: <b>PROC-TC-002</b>
		Revisión: <b>4</b>
		Inicio de vigencia: <b>2023-09-06</b>

#### 4. DESARROLLO.

La estimación de la incertidumbre de las mediciones realizada en AOXLAB S. A. S., se basa en las pautas establecidas en la Guía ISO 98-3:2008 - "Guía para la estimación de la incertidumbre" (GUM 1995). Estas directrices fueron a su vez publicadas por el Comité Conjunto de Guías en Metrología (JCGM) bajo el código JCGM100:2008. Como guía práctica para la implementación y adopción de dichas directrices, se utilizaron las referencias bibliográficas [6] y [7].

Dado que no existe una manera única para estimar la incertidumbre de todas las mediciones, en este documento se proporcionan pasos e instrucciones generales, las cuales deben ser evaluadas por el director técnico y complementadas mediante la incorporación de etapas adicionales provistas en otras fuentes bibliográficas relacionadas con el tema o los métodos de referencia.


De manera amplia, la estimación de la incertidumbre involucra las siguientes etapas:



En los numerales siguiente del documento se ampliará el detalle de cada una de estas etapas.

##### 4.1 Especificación del mensurando.

La especificación del mensurando consiste en realizar una declaración clara y sin ambigüedades de lo que se va a medir, así como una expresión cuantitativa que relacione el valor del mensurando con los parámetros de los que depende (normalmente es una

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

ecuación). Estos parámetros pueden ser otros mensurandos, magnitudes que no se miden directamente, o constantes. La expresión matemática debe ser tan rigurosa como sea posible. Debe incluir, en la medida que sea relevante aspectos tales como factores de dilución, aproximaciones o procedimientos alternativos, etc.

De manera general es posible decir que una buena definición del mensurando incluye una declaración de

- El tipo particular de magnitud que se va a medir, habitualmente la concentración o la fracción de masa de un analito.
- El objeto o material que se va a analizar y, si es necesario, información adicional sobre la posición en el objeto de ensayo.
- El método de ensayo (procedimiento de medición)
- La base de cálculo de la magnitud informada, cuando sea necesario. Por ejemplo, la magnitud de interés puede ser la cantidad extraída bajo unas condiciones especificadas, o una fracción másica puede informarse en base seca o después de haber eliminado algunas partes específicas del material de ensayo (como parte de comida no digerible).


En la definición del mensurando, resulta importante aclarar si el ensayo realizado corresponde a un método empírico o no.

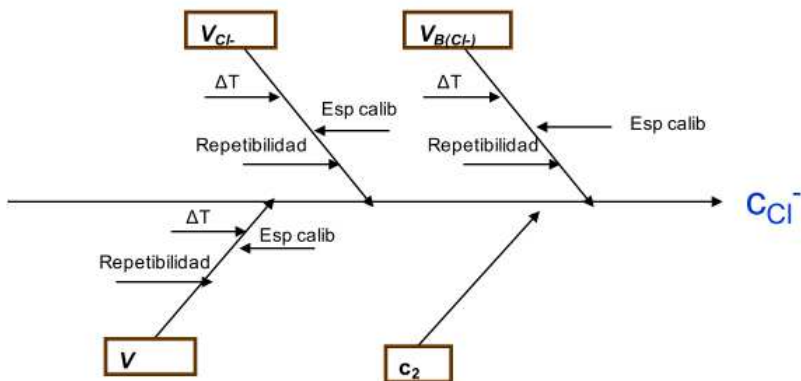
#### **4.2 Identificación de las fuentes de incertidumbre.**

Esta actividad debe partir de una lista exhaustiva de fuentes de incertidumbre relevantes. El propósito de esta etapa es ser totalmente claro sobre qué debería tenerse en cuenta durante el proceso de estimación de la incertidumbre.

Para comenzar a elaborar la lista de fuentes es conveniente empezar por la expresión matemática utilizada para calcular el mensurando a partir de los valores intermedios. Todos los parámetros en esta expresión pueden tener una incertidumbre asociada a su valor y, por lo tanto, ser una fuente potencial de incertidumbre. Por otro lado, puede haber otros parámetros que no aparecen explícitamente en la expresión utilizada para calcular el valor del mensurando, pero que afectan al resultado de la medida, como, por ejemplo, el tiempo o la temperatura de extracción. Estas son fuentes potenciales de incertidumbre.

El diagrama de causa y efecto o diagrama de Ishikawa (ver ejemplo), es una forma muy práctica de listar las fuentes de incertidumbre. Este esquema facilita tener una visión global de la manera en la cual se relacionan las diferentes fuentes de incertidumbre, indicando su influencia sobre la incertidumbre de la medición. La implementación de este diagrama ayuda además a evitar que se cuenten por duplicado las fuentes.

	Procedimiento de estimación de incertidumbres <b>AOXLAB S.A.S</b>	Identificación: <b>PROC-TC-002</b>
		Revisión: <b>4</b>
		Inicio de vigencia: <b>2023-09-06</b>




Ejemplo de diagrama causa - efecto

Adicionalmente puede resultar útil considerar el procedimiento de medida como una serie de operaciones discretas (algunas llamadas operaciones unitarias), cada una de las cuales puede ser evaluada por separado para obtener estimaciones de la incertidumbre asociadas con ellas. Esto es particularmente útil cuando procedimientos de medida similares comparten operaciones unitarias comunes. Las incertidumbres separadas de cada operación forman contribuciones sobre la incertidumbre global.

En química analítica y microbiología es más habitual considerar incertidumbres asociadas con elementos del desempeño global del método, tales como precisión y sesgo observable medido en relación con materiales de referencia apropiados. Estas contribuciones forman generalmente las contribuciones dominantes en la estimación de la incertidumbre, y se modelizan mejor como efectos separados sobre el resultado. Es necesario entonces evaluar otras posibles contribuciones con el fin de comprobar su relevancia, cuantificando solamente aquellas que tienen un aporte significativo. Entre estas están:

- Muestreo
- Condiciones de almacenamiento
- Condiciones instrumentales
- Pureza de reactivos
- Estequiometría asumida
- Condiciones de medición
- Efectos de la muestra
- Efectos de cálculo
- Corrección por blanco
- Condiciones del analista
- Efectos aleatorios

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

#### 4.2.1 Recopilación de la información faltante

Antes de cuantificar las fuentes de incertidumbre, es necesario verificar que se cuenta con la información requerida. Esto puede realizarse llevando a cabo los siguientes pasos:

#### 4.2.2 Conciliación los requerimientos de información con los datos disponibles

La lista de fuentes de incertidumbre debe revisarse para determinar cuáles de ellas se pueden evaluar con los datos disponibles. Estos datos pueden provenir de un estudio explícito de la contribución particular o por estimación de la variabilidad durante el transcurso de experimentos del método completo. Estas fuentes deben ser comparadas con a la lista original, para proporcionar un registro verificable de las contribuciones a la incertidumbre que han sido incluidas.

#### 4.2.3 Plan para obtener la información requerida faltante

Para fuentes de incertidumbre no adecuadamente explicadas por los datos existentes, debe buscarse información adicional procedente de la literatura o datos permanentes (certificados, especificaciones técnicas de equipos, etc.). En algunas ocasiones, puede ser necesario planear experimentos para obtener los datos adicionales requeridos. Estos pueden incluir, estudios específicos de la contribución individual a la incertidumbre, o estudios del desempeño del método habitual, enfocados a asegurar la variación representativa de factores importantes.

Es importante tener en cuenta que no todos los componentes tienen una contribución significativa a la incertidumbre combinada; de hecho, en la práctica, es muy probable que sólo un pequeño número de ellos la tenga. A menos que haya un gran número de componentes, aquellos que son menores de un tercio del total, no necesitan ser evaluados en detalle. Por tal razón, Debe hacerse una estimación preliminar de la contribución a la incertidumbre de cada componente, o combinación de componentes, y aquellos cuya contribución no sea significativa pueden excluirse de la estimación.

### 4.3 Evaluación de los componentes de la incertidumbre

Una vez identificadas las fuentes de incertidumbre y recopilada la información necesaria, el siguiente paso es evaluar la incertidumbre asociada a esas fuentes. Esto se puede hacer mediante los dos métodos que se explican a continuación, los cuales no son mutuamente excluyentes y a menudo se debe utilizar una combinación de ambos.

#### 4.3.1 Evaluación tipo A

A menudo, es posible y práctico obtener estimaciones de las contribuciones a la incertidumbre procedentes de estudios experimentales específicos para parámetros individuales. La incertidumbre estándar procedente de efectos aleatorios se mide a menudo a partir de la repetibilidad de experimentos realizados por el propio laboratorio,

<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	Identificación: <b>PROC-TC-002</b>
		Revisión: <b>4</b>
		Inicio de vigencia: <b>2023-09-06</b>

y es cuantificada en términos de desviación estándar de los valores medidos, de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$u_x = s_{\bar{x}} = \frac{s_x}{\sqrt{n}}$$

Donde  $s_x$  corresponde a la desviación estándar de la media de las mediciones repetidas  $x_1, x_2, \dots, x_n$ , dada por:

$$s_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

$n$  corresponde al número de mediciones realizadas.

En la práctica, no se consideran necesarias más de unas quince réplicas, a menos que se requiera una alta precisión.

Los experimentos diseñados para evaluar la incertidumbre como tipo A pueden incluir experimentos como:

- Variación experimental de variables
- Diseños experimentales sistemáticos multifactoriales
- Estudios de robustez

### 4.3.2 Evaluación tipo B

La evaluación tipo B de la incertidumbre comprende todas las demás formas posibles de estimar la incertidumbre. Esta puede basarse en:

- Datos disponibles, como certificados de calibración y medidas.
- Modelización a partir de principios teóricos
- Juicios basados en la experiencia, o fundamentados en modelización de hipótesis

La evaluación tipo B no se basa en un análisis estadístico, sino que, en la mayoría de los casos, debido a la limitada información que se tiene, se asume una función de distribución a priori, a partir de la cual se realiza la evaluación. Las funciones de distribución de probabilidad más comúnmente utilizadas son:

#### 4.3.2.1 Distribución normal

De manera general pueden presentarse los siguientes casos prácticos:

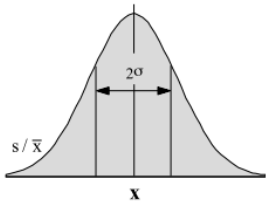
- Si la incertidumbre asignada ( $u$ ) se toma de una fuente establecida y su incertidumbre es expresada como un múltiplo ( $k$ ) de una desviación estándar, la incertidumbre estándar ( $u_B$ ) se obtiene dividiendo por el factor multiplicador

$$u_B = \frac{u}{k}$$

- Si la incertidumbre asignada ( $u$ ) se define como un intervalo con un nivel de confianza (95%, 99%), a menos que se especifique otra cosa, se asume que se utilizó una distribución normal. En este caso, la incertidumbre estándar ( $u_B$ ) se

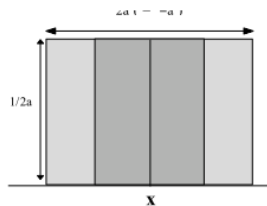
<b>aoxlab</b>	Procedimiento de estimación de incertidumbres	Identificación: <b>PROC-TC-002</b>
	<b>AOXLAB S.A.S</b>	Revisión: <b>4</b>
		Inicio de vigencia: <b>2023-09-06</b>

puede obtener dividiendo la incertidumbre asignada por el factor( $k$ ) apropiado. Los valores de  $k$  para los correspondientes niveles de confianza son 1.96 y 2.58

Forma	Emplear cuando:	Incertidumbre
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se estima a partir de mediciones repetidas</li> <li>• La incertidumbre es dada como una desviación estándar <math>s</math> or <math>\sigma</math>, una desviación estándar relativa o un coeficiente de variación CV (%) sin especificar la distribución.</li> <li>• La incertidumbre se proporciona en la forma de un intervalo de confianza <math>x \pm c</math> al 95 % (o diferente) sin especificar la distribución.</li> </ul>	$u(x) = s$  $u(x) = x \cdot (s/x)$ $u(x) = \%CV(x)/100$  $u(x) = c/2$ (para $c$ al 95%)  $u(x) = c/3$ (para $c$ al 99.7%)

#### 4.3.2.2 Distribución rectangular

En otras ocasiones, pueda que solo sea posible contar con los límites de un intervalo  $[a_- ; a_+]$  o  $\pm a$ , en el cual el valor verdadero de una medición  $x_i$  esté presente. Si no se tiene un conocimiento específico a cerca de los valores de  $x_i$  en este intervalo, es posible asumir que la probabilidad de que  $x_i$  se encuentre en el intervalo  $[a_- ; a_+]$  es la misma a todo lo largo del mismo es igual a 1 y por ende se asume una distribución rectangular, como la que se muestra en la figura siguiente.

Forma	Emplear cuando:	Incertidumbre estándar
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Un certificado u otra especificación proporciona límites sin indicar el nivel de confianza (ejemplo: Pureza de una sustancia= 0.9999 ± 0.0001)</li> <li>• Se aplica cuando se tienen lecturas con instrumentos digitales y cuando no se está seguro de la distribución.</li> </ul>	$u(x) = \frac{a}{\sqrt{3}}$

En este caso la incertidumbre estándar se obtendrá a partir de

$$u_B = \frac{a}{\sqrt{3}}$$

La función de distribución rectangular se puede asumir cuando se analizan fuentes de incertidumbre individuales como, por ejemplo:

- El error de un instrumento, establecido como un error máximo permisible.
- La resolución de un instrumento digital o la apreciación de la lectura en un instrumento análogo.

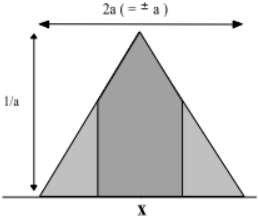
<b>aoxlab</b>	Procedimiento de estimación de incertidumbres	Identificación: <b>PROC-TC-002</b>
	<b>AOXLAB S.A.S</b>	Revisión: <b>4</b>
		Inicio de vigencia: <b>2023-09-06</b>

- La histéresis de un instrumento de medición.

determinando directamente la contribución combinada a la incertidumbre de los resultados de algunas o todas estas fuentes, usando datos del desempeño del método.

#### 4.3.2.3 Distribución triangular

Cuando además de conocer el intervalo en el cual se encuentra el resultado de una magnitud proveniente de una fuente de incertidumbre y además se proporciona alguna información sobre un valor que pueda ser más probable dentro de dicho intervalo, es posible entonces asumir una distribución triangular.

Forma	Emplear cuando:	Incertidumbre
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>La información disponible acerca de x es menos limitada que en una distribución rectangular. Los valores próximos a x son más probables que cerca de los límites.</b></li> </ul> <p><b>Se utiliza cuando se tienen mediciones con instrumentos analógicos.</b></p>	$u(x) = \frac{a}{\sqrt{6}}$

En este caso, la incertidumbre estándar puede estimarse como

$$u_B = \frac{a}{\sqrt{6}}$$

Un caso típico donde puede asumirse una distribución triangular es cuando se evalúa la incertidumbre debida a material volumétrico aforado.

#### 4.3.2.4 Incertidumbre debida a la interpolación en curvas de calibración


En análisis químico, un método analítico utiliza una función de calibración lineal basado en las respuestas instrumentales obtenidas en función de la variación de una propiedad. De esta manera, mediante una respuesta observada, puede conocerse el valor estimado de dicha propiedad para una muestra desconocida.

Cuando se realiza este ejercicio, se pueden identificar cuatro fuentes de incertidumbre:

- Las variaciones aleatorias en la medición de la respuesta esta fuente de incertidumbre se estima de acuerdo con:

$$s_{x_0} = \frac{s_{y/x}}{p} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{m} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{p^2 \sum (x_i - \bar{x})^2}}$$

Donde:

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

$s_{x0}$  corresponde a la incertidumbre estándar en la determinación de la propiedad de la muestra desconocida

$s_{y/x}$  es la desviación estándar residual del ajuste de regresión.

$n$  es el número de veces que se midió la respuesta para la muestra desconocida

$m$  corresponde al número de estándares de calibración utilizados para realizar la curva

$p$  corresponde a la pendiente de la curación de ajuste por mínimos cuadrados.

$y_0$  es la respuesta instrumental obtenida para la muestra desconocida.

$\bar{y}$  es el promedio de las respuestas instrumentales obtenidas para los estándares de calibración

$\bar{x}$  corresponde al valor promedio de la propiedad en el rango de calibración.

- Los errores aleatorios en la asignación de la propiedad que se mide, para los estándares de calibración. Esta fuente puede despreciarse si no se requiere una estimación muy rigurosa. De lo contrario debe estimarse.
- Los valores de la propiedad y su respuesta pueden estar sometidos a un corrimiento. Esto debe controlarse utilizando estándares de calibración obtenidos independientemente y realizando un correcto ajuste del instrumento.
- El supuesto de linealidad puede no ser válido. Esta presunción debe verificarse siempre que se obtenga una nueva curva de calibración.

#### 4.4 Cuantificación de la incertidumbre.

La cuantificación de la incertidumbre puede realizarse utilizando principalmente dos aproximaciones. Estas son:

##### 4.4.1 Cuantificación de la incertidumbre asociada a cada fuente individual


Casi siempre es necesario considerar individualmente algunas fuentes de incertidumbre. En algunos casos, esto es sólo necesario para un pequeño número de fuentes; en otros casos, particularmente cuando hay disponibles pocos o ningún dato de desempeño del método, cada fuente puede necesitar un estudio separado. Como salida de este procedimiento, se obtiene la incertidumbre asociada a una fuente expresada como una desviación estándar.

##### 4.4.2 Cuantificación de la incertidumbre basada en fuentes globales

Este enfoque se basa en la cuantificación de fuentes de incertidumbre globales relacionadas con el desempeño de los métodos analíticos respecto de la precisión y sesgo de estos.

Cuando la estimación de la incertidumbre se base, parcial o completamente en estudios previos de desempeño de métodos, es necesario sustentar la validez de aplicar los resultados de estudios previos. Esto puede realizarse demostrando:

- Que es posible conseguir una precisión comparable a las que se han obtenido previamente.

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

- Que el uso de datos de sesgo obtenidos previamente está justificado. Esto puede sustentarse habitualmente mediante la determinación del sesgo en materiales de referencia relevantes, mediante una participación satisfactoria en ejercicios de intercomparación relevantes, u otras intercomparaciones entre laboratorios.
- La continua permanencia del método analítico bajo control estadístico a través de resultados de muestras de control de calidad, y la implementación de procedimientos eficaces de aseguramiento la calidad analítica

De una manera general, el enfoque establecido en [8] se basa en los resultados analíticos del control de calidad y los datos de validación que representan tanto en la reproducibilidad dentro del laboratorio como en el sesgo del laboratorio y el método. En general, la incertidumbre estándar combinada bajo este enfoque se cuantifica de la siguiente manera:

$$u_c(y) = \sqrt{u_{Rw}^2 + u_b^2}$$

Donde

$u_{Rw}$  es el componente de incertidumbre asociado a la reproducibilidad intralaboratorio y  $u_b$  es el componente de incertidumbre asociado con el sesgo del laboratorio y el método.

De acuerdo con las características del método analítico, las características de los ítems de ensayo y la información disponible, es posible utilizar una gran variedad de estrategias, las cuales se documentan en la referencia [8].

#### 4.4.2.1 Evaluación de la reproducibilidad intralaboratorio

La estimación de las variaciones aleatorias de los resultados de la medición se debe realizar en las mismas condiciones que se utilizan cuando se realizan análisis de rutina. Por lo tanto, es necesario que las mediciones se realicen en "condiciones intralaboratorio" (es decir, en diferentes días y, según las condiciones del laboratorio respectivo, con diferentes equipos y diferentes operadores). Para la estimación de la reproducibilidad intralaboratorio es posible utilizar los siguientes enfoques:

##### 4.4.2.1.1 Muestras de control de calidad ensayadas en todo el proceso analítico

Si se dispone de materiales de referencia ensayados aplicando todo el proceso analítico, incluidos todos los pasos de preparación de la muestra, se analizan regularmente en condiciones de reproducibilidad intralaboratorio, y si estas muestras de son similares en matriz y niveles de concentración de analito a las muestras de prueba, Entonces, el componente de incertidumbre para la reproducibilidad dentro del laboratorio,  $u_{Rw}$ , en esta concentración y para esta matriz, puede estimarse a partir de la desviación estándar de estos resultados de control de calidad

$$u_{Rw} = S_{Rw}$$

<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  AOXLAB S.A.S	Identificación: <b>PROC-TC-002</b>
		Revisión: <b>4</b>
		Inicio de vigencia: <b>2023-09-06</b>

Donde  $S_{RW}$  es la desviación estándar de los resultados de los ensayos realizados sobre el material de referencia.

Se requiere un mínimo de 8 resultados del ensayo del material de referencia obtenidos en condiciones de reproducibilidad intralaboratorio para estimar este componente de incertidumbre

#### 4.4.2.1.2 Uso de soluciones estándar como material de referencia.

Si no se dispone de material de referencia con una matriz idéntica a las muestras que se ensayan rutinariamente y se utilizan soluciones estándar sintéticas (con una matriz que difiere de la de las muestras de rutina), debe tenerse en cuenta, además, el componente de incertidumbre adicional debido a un posible aumento de la falta de homogeneidad del analito en la matriz.

La incertidumbre adicional debida a la falta de homogeneidad se puede estimar a partir de gráficos de control de precisión utilizando muestras de diferentes matrices.

Dado que el componente de incertidumbre del gráfico de control de precisión,  $u_r$ , cubre solo el componente de repetibilidad, esta debe combinarse con la incertidumbre de los resultados de la muestra de control de calidad analizada, es decir, las soluciones estándar,  $u_{RW,stand}$ , para obtener un valor confiable de la estimación de la reproducibilidad intralaboratorio.

$$u_{RW} = \sqrt{u_{RW,stand}^2 + u_r^2}$$

Donde  $u_{RW,stand}$  es el componente de incertidumbre de los resultados de la solución estándar que se utiliza como muestra de control de calidad y  $u_r$  es el componente de incertidumbre obtenido de la carta control de precisión.


Se requiere un número mínimo de ocho mediciones para la estimación de ambas contribuciones de incertidumbre.

#### 4.4.2.1.3 Materiales inestables

Cuando no se disponga de muestras estables, el componente de incertidumbre de la repetibilidad se puede calcular a partir del promedio de la repetibilidad obtenida de las mediciones replicadas realizadas en cada lote de ensayo.

Para el componente de incertidumbre resultante de variaciones entre lotes,  $u_{RW,bat}$ , se requieren otros procedimientos para la estimación. En muchos casos, este componente se basa en el juicio científico basado en la experiencia del analista.

$$u_{RW} = \sqrt{u_{RW,bat}^2 + u_r^2}$$

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

Donde  $u_{RW, bat}$  es el componente de incertidumbre debida a la variabilidad entre lotes de ensayo y  $u_r$  es el componente de incertidumbre obtenido de la carta control de precisión.

Se requiere un número mínimo de ocho datos para la determinación de cada componente de incertidumbre.

#### 4.4.2.2 Exactitud del método y el laboratorio

Si es posible, las fuentes de sesgo siempre deben eliminarse. Si el sesgo es significativo y puede estimarse de manera confiable, siempre se debe corregir el resultado de una medición. Esto generalmente se especifica durante el desarrollo de un procedimiento de medición.

En muchos casos, el sesgo observado puede variar según la matriz y la concentración del analito. Este componente debe evaluarse e incluirse en el presupuesto de incertidumbre, mediante el uso de materiales de referencia de matrices diferentes.

Para evaluar la incertidumbre asociada con el método y el sesgo de laboratorio,  $u_b$ , se deben estimar dos componentes:

- El sesgo en sí (como la diferencia entre el resultado y el valor de referencia nominal o certificado)
- La incertidumbre del valor de referencia.

Nota: el componente de incertidumbre puede considerarse como insignificante si es menor que la tercera parte del componente de precisión ( $u_{RW}/3$ ).

A continuación, se detallan 3 enfoques para la estimación del componente de incertidumbre asociado a la exactitud del método y el laboratorio.

##### 4.4.2.2.1 Ensayo de materiales de referencia apropiados

Los resultados del análisis regular de materiales de referencia adecuados se pueden utilizar para estimar el componente de incertidumbre de medición asociado con el sesgo del método y del laboratorio,  $u_b$ . Para esto, cada material de referencia debería haberse analizado en al menos seis lotes de análisis.

La incertidumbre en el valor de asignado del material de referencia certificado puede obtenerse del certificado del productor. Dependiendo como se exprese la incertidumbre en dicho documento, puede ser necesario convertir la incertidumbre indicada en el certificado en una incertidumbre estándar, por ejemplo, si la incertidumbre se expresa como una incertidumbre expandida o como un intervalo de confianza. Para otros materiales de referencia, la incertidumbre en el valor de referencia se toma de datos estadísticos adecuados, por ejemplo, para material de ensayos entre laboratorios a partir de la desviación estándar de reproducibilidad.

Para obtener una estimación confiable del componente de incertidumbre de medición asociado con el método y el sesgo de laboratorio,  $u_b$ , es recomendable utilizar varios materiales de referencia que cubran el alcance del método analítico (diferentes matrices

<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  AOXLAB S.A.S	Identificación: <b>PROC-TC-002</b>
		Revisión: <b>4</b>
		Inicio de vigencia: <b>2023-09-06</b>

y niveles de concentración). Si solo se utiliza un material de referencia, la incertidumbre puede subestimarse.

Si se utilizan varios materiales de referencia, se obtienen diferentes valores de sesgo que se utilizan para calcular el componente de incertidumbre  $b_{rms}$ . El componente de incertidumbre asociado con el sesgo del método y del laboratorio,  $u_b$ , se estima como:

$$u_b = \sqrt{\bar{u}_{Cref}^2 + b_{ms}^2}$$

Donde  $\bar{u}_{Cref}^2$  es la incertidumbre promedio de los valores de referencia y  $b_{ms}^2$  es la raíz cuadrada del promedio de los valores de sesgo, el cual, a su vez se estima mediante la siguiente ecuación:

$$b_{ms} = \sqrt{\frac{(b_i)^2}{n_r}}$$

Donde  $b_i$  es la diferencia entre el valor medio medido y el valor de referencia aceptado del  $i$ -ésimo material de referencia y  $n_r$  es el número de materiales de referencia empleados en la estimación del componente de incertidumbre debida a la exactitud y método del laboratorio.

Si los valores de sesgo individuales y las incertidumbres de los valores de referencia varían significativamente, puede ser necesario estimar por separado las incertidumbres para los diferentes casos.

Si solo se dispone de un material de referencia, los resultados de los análisis de este material de referencia se tratan como la mejor estimación disponible para el componente de incertidumbre de medición asociado con el sesgo del método y del laboratorio,  $u_b$ .


Cuando solo se utiliza un material de referencia, el componente de incertidumbre asociado con el sesgo del método y del laboratorio estará dado por:

$$u_b = \sqrt{b^2 + \left(\frac{s_b}{\sqrt{n_M}}\right)^2 + u_{Cref}^2}$$

Donde  $b$  es la diferencia entre el promedio de los resultados obtenidos del ensayo del material de referencia y su valor asignado;  $s_b$  es la desviación estándar de los resultados obtenidos de los ensayos realizados sobre el material de referencia;  $n_M$  es el número de mediciones del sesgo realizadas sobre el material de referencia y  $u_{Cref}^2$  es la incertidumbre del valor asignado.

#### 4.4.2.2.2 Uso de resultados de participaciones en comparaciones interlaboratorio

Los resultados de las comparaciones entre laboratorios se pueden utilizar de la misma manera que los resultados de los análisis de materiales de referencia, si se supone que el

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

valor asignado en la comparación entre laboratorios es una estimación suficientemente buena del valor real.

Para cada material de referencia certificado, se puede obtener una estimación del sesgo, con un valor medio basado en varias mediciones realizadas en diferentes días. En los esquemas de ensayos de aptitud, a menudo, solo se realizan mediciones únicas en un solo día. Por tanto, la diferencia entre un resultado de laboratorio y el valor asignado se calcula para diferentes muestras entre laboratorios. Por tanto, esta diferencia incluye contribuciones tanto del componente de incertidumbre asociado con el sesgo del método y del laboratorio,  $u_b$ , como del componente de incertidumbre para la reproducibilidad dentro del laboratorio,  $u_{Rw}$ . Las contribuciones de ambos componentes pueden llevar a una sobreestimación de la incertidumbre de la medición.

Para determinar una estimación del sesgo a partir de los resultados de las comparaciones entre laboratorios, el laboratorio debe haber analizado al menos seis muestras diferentes dentro de una o más rondas de comparaciones interlaboratorio.

Las diferencias,  $D_i$ , entre los resultados de la medición y los valores asignados para las diferentes muestras pueden ser tanto positivos como negativos. Todos los resultados del cálculo de las diferencias se utilizan para estimar la raíz cuadrada media de las diferencias,  $D_{rms}$ , de acuerdo con lo siguiente ecuación:

$$D_{rms} = \sqrt{\frac{\sum D_i^2}{n_{ilc}}}$$

Donde  $D_i$  es la diferencia entre el resultado de la medición y el valor asignado de la  $i$ -ésima muestra de la comparación entre laboratorios y  $n_{ilc}$  es el número de muestras de comparación entre laboratorios analizadas.

Si las diferencias individuales y las incertidumbres de los valores asignados varían significativamente, es necesario estimar por separado las incertidumbres para los diferentes casos.

Por lo general, la incertidumbre de un valor asignado de una muestra de comparación entre laboratorios es mayor que la incertidumbre del valor de referencia certificado de un material de referencia. Por tanto, normalmente el componente de incertidumbre estimado es mayor. En algunos casos, la incertidumbre del valor asignado de la muestra de comparación entre laboratorios es tan grande que no se puede utilizar para la estimación del componente de incertidumbre asociado con el sesgo del método y del laboratorio.

La incertidumbre media de los valores asignados de las muestras de comparación interlaboratorios, estimada por el consenso entre los laboratorios participantes,  $u_{Cref}$  se calcula como:

$$\bar{u}_{Cref} = \frac{\sum u_{Cref,i}}{n_{ilc}}$$

<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	Identificación: <b>PROC-TC-002</b>
		Revisión: <b>4</b>
		Inicio de vigencia: <b>2023-09-06</b>

Si el valor asignado por consenso es estimado como la media robusta, de acuerdo con las directrices establecidas en la Norma ISO 13528,  $\bar{u}_{Cref}$  se estima como:

$$u_{Cref,i} = 1.25 \times \frac{S_{R,i}}{\sqrt{n_{p,i}}}$$

Si el valor asignado por consenso corresponde a la media aritmética de los resultados de los laboratorios participantes, entonces  $\bar{u}_{Cref}$  se calcula de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$u_{Cref,i} = \frac{S_{R,i}}{\sqrt{n_{p,i}}}$$

Donde  $u_{Cref,i}$  es la incertidumbre sobre el valor asignado de la  $i$ -ésima muestra;  $n_{ilc}$  es el número de muestras de comparación entre laboratorios analizadas;  $S_{R,i}$  es la desviación estándar de la reproducibilidad de la comparación interlaboratorios para la  $i$ -ésima muestra y  $n_{p,i}$  es el número de laboratorios participantes en el ensayo de la  $i$ -ésima muestra.

Si el valor asignado se establece de una manera diferente, la incertidumbre debe obtenerse directamente del organizador del esquema de comparación interlaboratorio.

Finalmente, el componente de incertidumbre estándar asociado con el sesgo del método y del laboratorio,  $u_b$ , se calcula como:

$$u_b = \sqrt{D_{rms}^2 + \bar{u}_{Cref}^2}$$

Donde  $D_{rms}^2$  la raíz cuadrada media de las diferencias y  $\bar{u}_{Cref}^2$  es la incertidumbre media de los valores asignados de las muestras de comparación entre laboratorios

#### 4.4.2.2.3 Ensayos de recuperación


El componente de incertidumbre por exactitud es posible evaluarlo a partir de resultados de ensayos de recuperación.

En este caso, la incertidumbre asociada con el sesgo del método y del laboratorio,  $u_b$ , consta de dos componentes: la diferencia entre la recuperación observada y completa del analito y la incertidumbre en la concentración del analito agregado.

Los experimentos de recuperación deben realizarse con al menos seis muestras diferentes de la matriz relevante.

La incertidumbre estándar asociada con el sesgo de método y laboratorio,  $u_b$ , estimada a partir de experimentos de recuperación es:

$$u_b = \sqrt{b_{ms}^2 + u_{ad}^2}$$

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

Donde  $u_{ad}^2$  es la incertidumbre sobre la concentración de analito añadido a las muestras al prepararlos adicionados y  $b_{ms}$  es la raíz cuadrada del promedio de las desviaciones de los ensayos de recuperación, estimada como:

$$b_{ms} = \sqrt{\frac{\sum b_i^2}{n_\eta}}$$

Donde  $b_i$  es la desviación de la recuperación completa (100%) del i-ésimo experimento de recuperación o de la recuperación media, si los resultados se corrigen con esta recuperación media y  $n_\eta$  es el número de ensayos de recuperación.

Si los valores de sesgo individuales varían significativamente, puede ser necesario estimar por separado las incertidumbres para los diferentes casos.

El sesgo de los experimentos de recuperación consiste en contribuciones de ambos componentes de incertidumbre,  $U_b$  y  $U_{Rw}$ .

Estas contribuciones pueden llevar a una sobreestimación de la incertidumbre de la medición. Por lo tanto, cada recuperación que se utiliza para calcular la desviación,  $b_i$ , idealmente debería ser una recuperación media basada en seis determinaciones para reducir la contribución del componente  $U_{Rw}$ .

La incertidumbre en la concentración del analito agregado,  $u_{adr}$ , consta de dos componentes: la incertidumbre del volumen agregado,  $u_v$ , y la incertidumbre en la concentración de la solución agregada,  $u_{conc}$ .

La incertidumbre del volumen agregado,  $u_v$ , a menudo se puede estimar a partir de la información proporcionada por los fabricantes de material de laboratorio volumétrico. Se deben tener en cuenta los errores sistemáticos y aleatorios (repetibilidad). El error sistemático a menudo se denomina "desviación máxima". Cuando no se dispone de información suficiente, es necesario suponer una distribución rectangular y añadir el componente de incertidumbre estándar sistemática del volumen,  $u_{v,b}$ , calculado como:

$$u_{v,b} = \frac{\varepsilon_{v,max}}{\sqrt{3}}$$


donde  $\varepsilon_{v,max}$  es la desviación máxima del volumen del valor especificado (obtenido de la información provista por el fabricante del material volumétrico).

Si la temperatura ambiente del laboratorio se desvía de la especificada por el fabricante para la calibración del material de laboratorio volumétrico, debe tenerse en cuenta este componente en el presupuesto de incertidumbre.

El componente de incertidumbre aleatorio del volumen agregado,  $u_{v,rep}$ , proporcionado por el fabricante a menudo se da como una desviación estándar.

El componente de incertidumbre del volumen agregado,  $u_v$ , viene dado por:

$$u_v = \sqrt{u_{v,b}^2 + u_{v,rep}^2}$$

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

Donde  $u_{V,b}$  es el componente de incertidumbre sistemática del volumen agregado y  $u_{V,rep}$  es el componente de incertidumbre aleatorio del volumen agregado estimado en condiciones de repetibilidad.

Si la solución utilizada en la preparación de los adicionados es un material de referencia certificado, la incertidumbre de la concentración puede obtenerse del certificado. Si la solución la prepara el laboratorio, la incertidumbre en la concentración debe estimarse de manera adecuada.

La incertidumbre en la concentración del analito agregado,  $u_{ad}$ , se calcula como:

$$u_{ad} = \sqrt{u_V^2 + u_{conc}^2}$$

Donde  $u_V$  es el componente de incertidumbre del volumen agregado y  $u_{conc}$  es la incertidumbre de la concentración de la solución spike.

Finalmente, el componente de incertidumbre estándar asociado con el sesgo del método y del laboratorio,  $u_b$ , se calcula de acuerdo con la Ecuación.

$$u_b = \sqrt{b_{ms}^2 + u_{ad}^2}$$

Es posible que el experimento de recuperación no cubra todas las posibles causas de incertidumbre, como por ejemplo las causadas por sustancias interferentes, tendrán que evaluarse por separado. Se consideran contribuciones relevantes aquellas mayores a la tercera parte de la incertidumbre estándar combinada,  $u_c$ .

## 4.5 Cálculo de la incertidumbre estándar combinada

### 4.5.1 Ensayos fisicoquímicos

#### 4.5.1.1 Para estimaciones basadas en la cuantificación de fuentes individuales

La incertidumbre estándar de  $y$  donde  $y$  es el resultado de la medición del mensurando  $Y$ , se obtiene combinando apropiadamente las incertidumbres de sus magnitudes de entrada ( $x_1, x_2, x_3, x_N$ ). Esta incertidumbre estándar combinada se denota como  $u_c(y)$  y contiene toda la información relevante sobre la incertidumbre del mensurando  $Y$ .

Antes de la combinación, todas las incertidumbres estándar deben estar expresadas como desviaciones estándar y deben expresarse en las unidades de medición adecuadas.

La incertidumbre estándar combinada de  $y$  se estima como la raíz cuadrada positiva de la varianza del valor estimado de  $Y$ , a partir de la ley de propagación de la incertidumbre, cuya ecuación se muestra a continuación:

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N c_i^2 \cdot u^2(x_i) + 2 \cdot \sum_{i=1}^N \sum_{j=i+1}^N c_i \cdot c_j \cdot u(x_i, x_j)$$

<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

Donde  $c_i$ ,  $c_j$  son los coeficientes de sensibilidad son evaluados como  $c_i = \frac{\partial y}{\partial x_i}$  y  $c_j = \frac{\partial y}{\partial x_j}$ ,  $u(x_i)$  denota la incertidumbre en  $x_i$  y  $u(x_i, x_j)$  es la covarianza entre  $x_i$  y  $x_j$ .

Los coeficientes de sensibilidad denotan que tan sensible es el mensurando con respecto a la variable de entrada correspondiente.

La covarianza está relacionada con el coeficiente de correlación mediante la siguiente ecuación:

$$u(x_i, x_j) = u(x_i) \cdot u(x_j) \cdot r_{ij}$$

Donde  $r_{ij}$  puede asumir valores entre 1 y -1, donde los extremos de este intervalo representan la máxima correlación y el valor de 0 corresponde a la total ausencia de correlación.

Cuando las magnitudes de entrada no están correlacionadas, es decir,  $r_{ij} = 0$ , la ecuación queda simplificada de la siguiente manera.

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N c_i^2 \cdot u^2(x_i)$$

La covarianza entre dos variables aleatorias  $x_i$  y  $x_j$  puede asumirse como cero o despreciarse si:

- Los valores han sido determinados en experimentos independientes o porque ellas representan resultados de evaluaciones que han sido realizadas en forma independiente.
- Cualquiera de las variables  $x_i$  /  $x_j$  puede ser asumida como una constante.
- La investigación respecto de ellas no arroja información que indique una posible correlación entre ellas.

Los coeficientes de sensibilidad  $c_i$ ,  $c_j$  pueden calcularse a partir de las derivadas parciales, métodos numéricos o a través de experimentos orientados a hallarlas.

En algunos casos, las expresiones para combinar incertidumbres se reducen a formas mucho más sencillas. A continuación, se dan dos reglas simples para combinar incertidumbres estándar.

Para modelos que supongan solo una suma o resta de cantidades, por ejemplo  $y = (a+b+c+...)$ , la incertidumbre estándar combinada  $u_c(y)$  viene dada por:

$$U_c(y(a, b, c \dots)) = \sqrt{U_a^2 + U_b^2 + U_c^2 + \dots}$$

<b>aoxlab</b>	Procedimiento de estimación de incertidumbres	Identificación: <b>PROC-TC-002</b>
	<b>AOXLAB S.A.S</b>	Revisión: <b>4</b>
		Inicio de vigencia: <b>2023-09-06</b>

Para modelos que involucren multiplicación, división o potenciación, por ejemplo  $y = (a^{P_1} \cdot b^{P_2} \cdot c^{P_3} \dots)$

La incertidumbre estándar combinada se determina de la siguiente manera:

$$\frac{u_c(y)}{y} = \sqrt{\left(P_1 \cdot \frac{u_a}{a}\right)^2 + \left(P_2 \cdot \frac{u_b}{b}\right)^2 + \left(P_3 \cdot \frac{u_c}{c}\right)^2 + \dots}$$

Las ecuaciones anteriores, se basan en una aproximación de serie de Taylor de primer orden y se utilizan cuando el modelo matemático del mensurando es una combinación lineal de las variables de entrada.

Para combinar fuentes de incertidumbre donde el modelo matemático involucre simultáneamente sumas (o restas) y multiplicaciones (o divisiones, potenciaciones), este debe descomponerse en partes donde se aplique únicamente una regla y posteriormente, las incertidumbres parciales se combinen nuevamente utilizando la otra.

#### 4.5.1.2 Para estimaciones basadas en la cuantificación de fuentes globales

Para el cálculo de la incertidumbre estándar combinada a partir de la cuantificación de las fuentes globales se siguen las mismas directrices definidas en el numeral anterior. La incertidumbre estándar puede expresarse de manera absoluta:

$$U_c(y(a, b, c \dots)) = \sqrt{U_a^2 + U_b^2 + U_c^2 + \dots}$$

O relativa:


$$\frac{u_c(y)}{y} = \sqrt{\left(P_1 \cdot \frac{u_a}{a}\right)^2 + \left(P_2 \cdot \frac{u_b}{b}\right)^2 + \left(P_3 \cdot \frac{u_c}{c}\right)^2 + \dots}$$

Si no hay más componentes de incertidumbre, además de  $u_{RW}$  y  $u_b$ , tal como se describió en el numeral 4.4.2, la incertidumbre estándar combinada se puede escribir como:

$$u_c = \sqrt{u_{RW}^2 + u_b^2}$$

Donde

$u_{RW}$  es el componente de incertidumbre asociado a la reproducibilidad intralaboratorio y  $u_b$  es el componente de incertidumbre asociado con el sesgo del laboratorio y el método.

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

## 4.5.2 Ensayos microbiológicos

### 4.5.2.1 Matrices alimentarias (estimación basada en la norma ISO 19036)

El término "incertidumbre de la medición" (MU) se utiliza para denotar la falta de exactitud (veracidad y precisión) que se puede asociar con los resultados de un análisis. En el contexto de la microbiología cuantitativa, proporciona una indicación del grado de confianza que se puede depositar en las estimaciones del número de microorganismos en los alimentos u otros materiales.


La Guía 98-3 de IISO / IEC (también conocida como "GUM") es un documento de referencia ampliamente adoptado. El enfoque principal de la Guía ISO / IEC 98-3 es construir un modelo de medición matemático o por computadora que describa cuantitativamente la relación entre la cantidad que se mide (el mensurando) y cada cantidad de la que depende (cantidades de entrada). Este documento también reconoce que podría no ser factible establecer una relación matemática completa entre el mensurando y las cantidades de entrada individuales y que, en tales casos, el efecto de varias cantidades de entrada se puede evaluar como un grupo. La Norma ISO / IEC 17025 también reconoce que la naturaleza del método de ensayo puede impedir un cálculo riguroso de la incertidumbre de la medición.

En el caso del análisis microbiológico de muestras de la cadena alimentaria, no es factible construir un modelo de medición cuantitativa integral, ya que no es posible cuantificar con precisión la contribución de cada cantidad de entrada, donde:

- El analito es un organismo vivo, cuyo estado fisiológico puede ser muy variable;
- El objetivo analítico incluye diferentes cepas, diferentes especies o diferentes géneros;
- Muchas cantidades de entrada son difíciles, si no imposibles, de cuantificar (por ejemplo, estado fisiológico);
- Para muchas cantidades de entrada (por ejemplo, temperatura, actividad del agua), su efecto sobre el mensurando no puede describirse cuantitativamente con la precisión adecuada.

Por las razones expuestas anteriormente, este documento utiliza principalmente un enfoque de arriba hacia abajo o global para estimar la incertidumbre de los métodos de ensayo microbiológicos, en el que la contribución de la mayoría de las cantidades de entrada se estima como una desviación estándar de la reproducibilidad del resultado final del proceso de medición, calculado a partir de resultados experimentales con réplicas de dichos ensayos, como parte del proceso de medición. En microbiología, los valores asignados o los valores de las cantidades de referencia generalmente no están disponibles, por lo que el sesgo (que cuantitativamente (expresa la falta de veracidad) no se puede estimar de manera confiable y no se incluye en la incertidumbre estimada.

Si bien, la reproducibilidad proporciona una estimación general de la incertidumbre asociada con el método de medición, es posible que no refleje las características asociadas con la incertidumbre de la matriz, como resultado de la distribución de microorganismos en la matriz alimentaria.

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

Además, las mediciones microbiológicas a menudo dependen del recuento o la detección de un número bastante pequeño de organismos que están distribuidos de manera más o menos aleatoria, lo que genera una variabilidad intrínseca entre las réplicas y la correspondiente incertidumbre de distribución. Para las técnicas de recuento de colonias, se determina la incertidumbre de Poisson, a la que se puede agregar, en ciertos casos, una incertidumbre vinculada a las pruebas de confirmación utilizadas para identificar organismos aislados.

Estos tres tipos diferentes de incertidumbre (incertidumbre técnica, de matriz y de distribución) se combinan utilizando los principios de la Guía ISO / IEC 98-3.

La incertidumbre técnica es a menudo la mayor de estos tres tipos y se estima a partir de una desviación estándar de reproducibilidad, que inevitablemente incluye algunas contribuciones de los otros dos tipos. La estimación preferida de la incertidumbre técnica se basa en la reproducibilidad intralaboratorio, como lo establece la Norma ISO 16140-3, (ver PROC-TC-012). Si es coherente con los protocolos de laboratorio y los requisitos del cliente, puede informarse un estimado de la incertidumbre basado únicamente en una desviación estándar de reproducibilidad.

La estimación de la incertidumbre de las mediciones realizadas en ensayos microbiológicos de recuento y NMP, se basa en una aproximación global de la desviación estándar de la reproducibilidad del resultado final de la medición.

Para estimar la desviación estándar de la reproducibilidad en métodos de análisis microbiológico de recuento, debe elaborarse un riguroso protocolo experimental, en el cual deben observarse estrictamente las siguientes reglas:

- La desviación estándar de la reproducibilidad debe evaluarse para cada microorganismo y para cada tipo de matriz.
- Deben analizarse mínimo diez muestras por cada matriz.
- La repetición del protocolo debe realizarse en diferentes días
- La cantidad de tipos de matrices que se probarán depende de la diversidad de las matrices analizadas rutinariamente por el laboratorio. Las matrices seleccionadas deberían ser representativas, en términos de incertidumbre, de los tipos de matrices analizadas por el laboratorio y también relevantes para los microorganismos para los que se realizará la prueba.
- El cálculo de la desviación estándar en los datos transformados logarítmicamente estabiliza la varianza de la reproducibilidad sobre los niveles de contaminación, dado que los niveles bajos no se consideran aquí. Por lo tanto, no es necesario estimar la desviación estándar de reproducibilidad por nivel de contaminación. Sin embargo, cuando sea posible, las muestras y / o diluciones deben elegirse para cubrir el rango de concentración en las pruebas de rutina.
- No deben incluirse en la estimación de la incertidumbre resultados menores a 10 UFC. Resultados entre 10 UFC y 30 UFC si la desviación estándar esperada es mayor de  $0.2 \log_{10}(\text{UFC})$

<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	Identificación: <b>PROC-TC-002</b>
		Revisión: <b>4</b>
		Inicio de vigencia: <b>2023-09-06</b>

- Se deben utilizar muestras contaminadas naturalmente siempre que sea posible, ya que permiten una estimación más realista de la incertidumbre, que se utilizará para caracterizar los resultados obtenidos en muestras contaminadas naturalmente. Además, el estado fisiológico del microorganismo (por ejemplo, estresado) también puede influir en la variabilidad de los resultados, y por lo tanto debe ser similar a las condiciones encontradas en la prueba de rutina.
- Si se requiere contaminar las muestras, debe controlarse muy estrictamente este proceso para que no introduzca un elemento adicional de variabilidad en los resultados. La adición de microorganismos debe diseñarse para imitar la contaminación real en la medida de lo posible (por ejemplo, mediante el uso de organismos estresados y la inclusión de una flora competitiva / de fondo).
- Para cada muestra, cada operador<sup>1</sup> (A y B) toma una porción de prueba y prepara una suspensión inicial, analizada una vez. Realice el análisis como en las pruebas de rutina (por ejemplo, preparación de una serie de diluciones decimales, inoculación de 1 o 2 placas por dilución).
- El protocolo debe incorporar el efecto del muestreo de la porción de prueba en la evaluación de la incertidumbre total.

Una vez obtenidos los resultados de los ensayos ejecutados siguiendo el protocolo, la desviación estándar de la reproducibilidad se calcula de la siguiente manera:

Los resultados se ordenan en parejas. El primero obtenido con el operador A ( $x_{iA}$ ) y el segundo con el operador B ( $x_{iB}$ ). sí en el protocolo se estableció que se analizarían diez muestras, entonces deben obtenerse diez parejas.

A cada resultado se le saca el logaritmo en base 10 ( $\log_{10}$ )

$$y_{iA} = \log_{10}(x_{iA})$$

$$y_{iB} = \log_{10}(x_{iB})$$


Calcule la desviación estándar de la reproducibilidad de las  $n$  muestras (10) de la siguiente manera

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

#### 4.5.2.2 Matrices de agua (Estimación basada en la norma ISO 29201)

La referencia [9] determina que, de manera general, la incertidumbre de las mediciones está dada por:

<sup>1</sup> El término operador puede referirse a un grupo de analistas, a una condición o grupo de condiciones. Las condiciones A y B deberían ser lo más diferentes posible e idealmente deberían incluir tantas variaciones como puedan encontrarse de un día a otro dentro del laboratorio, en términos de técnicos, lotes de medios de cultivo y reactivos, mezclador vortex, medidor de pH, incubadoras, tiempo de análisis, etc.

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

$$U_{c,rel}(y) = \sqrt{u_{o,rel}^2 + u_{d,rel}^2}$$

Donde el primer término bajo el radical corresponde al cuadrado de la incertidumbre operacional relativa o incertidumbre experimental relativa. El segundo término corresponde al cuadrado de la incertidumbre intrínseca o distribucional.

Así mismo, propone dos enfoques para estimar la incertidumbre operativa relativa. El primero se basa en los resultados de calidad analítico.

El segundo enfoque se estima, las contribuciones individuales a la incertidumbre de la medición (submuestreo, dilución, inoculación, incubación y lectura) evaluadas por separado se combinan matemáticamente utilizando la ley de propagación de la incertidumbre (Guía ISO/IEC 98-3:2008). El laboratorio adopta esta última opción, ya que la referencia bibliográfica establece que la evaluación de la variación operativa mediante el enfoque global se basa en la resta. Cuanto menor sea el componente operativo en comparación con la incertidumbre de distribución, mayor será su imprecisión relativa y, por tanto, el enfoque global es menos eficiente con recuentos bajos que el enfoque de componentes, lo que sucede habitualmente con las muestras de agua que llegan al laboratorio.

#### 4.5.2.2.1 Estimación de los componentes de la incertidumbre

Desde el punto de vista estadístico, la estructura de incertidumbre en las enumeraciones microbiológicas consta de tres capas:

- antes de realizar la suspensión: La incertidumbre antes de la suspensión final es principalmente originada por actividades tales como el submuestreo y la variabilidad de la matriz, así como la dilución. Las cantidades de influencia antes de la suspensión final afectan la incertidumbre combinada proporcionalmente a la concentración media. Cualquier variación adicional que se produzca en el submuestreo o durante la dilución se propaga proporcionalmente a la media de la suspensión final
- Durante la suspensión: La incertidumbre durante la suspensión final es especialmente debida a la distribución aleatoria de las partículas en suspensión. Junto con la distribución de colonias en la placa, y la posible contribución de la incertidumbre de la confirmación parcial, constituyen la variación intrínseca. La variación intrínseca no contribuye a la incertidumbre operativa
- Después de realizar la suspensión: La variación después de la suspensión final se origina en fuentes relacionadas con la lectura de los resultados y las influencias del ambiente y el tiempo de incubación sobre el resultado aparente observado.

Las incertidumbres pueden incluir elementos tanto aditivos (por ejemplo, contaminación) como proporcionales (por ejemplo, incertidumbre en el recuento). Los componentes de varianza para los efectos de submuestreo e incubación requieren experimentos especiales. Los otros tres componentes operativos se documentan en los procedimientos de control de calidad de los ensayos.

<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	Identificación: <b>PROC-TC-002</b>
		Revisión: <b>4</b>
		Inicio de vigencia: <b>2023-09-06</b>

Cuando los componentes son independientes, es decir, que estadísticamente no están correlacionados, y las cantidades de influencia son multiplicativas, la incertidumbre operativa relativa combinada se calcula como la raíz cuadrada positiva de la suma de las varianzas relativas.

La varianza relativa operativa combinada se obtiene como la suma de las varianzas relativas de los componentes, de acuerdo con:

$$u_{o,rel}^2 = \sqrt{u_{rel,M}^2 + u_{rel,F}^2 + u_{rel,V}^2 + u_{rel,I}^2 + u_{rel,L}^2}$$

Los componentes individuales empleados en este enfoque se tratan a continuación:

#### 4.5.2.2.1.1 Incertidumbre debida a la matriz y submuestreo: ( $u_{rel,M}^2$ )

La variación del submuestreo de la muestra de laboratorio, también llamada efecto matriz, se puede evaluar con un experimento en el que se realizan análisis duplicados de dos o más (preferiblemente tres o cuatro) suspensiones iniciales hechas de submuestras iguales medidas a partir de una muestra de laboratorio. El diseño estadístico es más complejo que el experimento global para la evaluación de la incertidumbre de todo el proceso analítico. Por lo tanto, es necesario reflexionar sobre si la información cuantitativa sobre el submuestreo es lo suficientemente importante como para justificar el esfuerzo de evaluar este único parámetro por separado. Esta información es invaluable cuando es necesario analizar las razones de una incertidumbre combinada alta observada o sospechada.

La replicación en niveles subordinados (inferiores) es necesaria para permitir la estimación del componente de varianza relacionado con el submuestreo de la muestra de laboratorio. En agua y otras matrices líquidas, es probable que la varianza del submuestreo no sea importante y la evaluación experimental de la varianza del submuestreo sea innecesaria. Se deben analizar al menos 10 muestras del mismo tipo de material de muestra para obtener un valor medio suficientemente confiable para la varianza del submuestreo. Está permitido que diferentes personas procesen diferentes muestras, pero se recomienda que el análisis se realice en condiciones de repetibilidad. Sólo una persona debe participar en la lectura de los resultados de cada muestra.

Un análisis de varianza con replicación de submuestras y series de dilución es un método estándar para investigar la precisión (imprecisión) del submuestreo. La muestra de laboratorio, lo mejor homogenizada posible según las circunstancias, se submuestra aleatoriamente  $k$  veces y se realizan  $n$  ensayos replicados en cada submuestra. Los valores mínimos para  $n$  y  $k$  son 2. A partir de dichos datos se puede calcular una estimación de la varianza del submuestreo. Generalmente se recomienda la transformación logarítmica de los datos. La razón principal es eliminar el efecto de los niveles variables de contaminación de las diferentes muestras. También es probable que mejore la normalidad de los datos. Los logaritmos naturales son algo más convenientes que los logaritmos comunes porque

<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	Identificación: <b>PROC-TC-002</b>
		Revisión: <b>4</b>
		Inicio de vigencia: <b>2023-09-06</b>

los resultados pueden interpretarse directamente como varianzas relativas. Con logaritmos comunes, el resultado final requiere multiplicación con una constante si se desea convertir a expresión relativa o porcentual.

Para estimar la varianza debida a la matriz y submuestreo, se emplea la herramienta informática SOFT-TC-079. En ella se selección la pestaña "PRECISIÓN" y en la columna correspondiente a cada lote se introducen los logaritmos naturales de las concentraciones de las mediciones replicadas de cada muestra. La incertidumbre debida a la matriz y submuestreo será el resultado arrojado por la herramienta informática en el cuadro "EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN" en la intersección de la fila "NETA ENTRE LOTES" con la columna "D. S."

#### 4.5.2.2.1.2 Factor de dilución ( $u_{rel,F}^2$ )

La incertidumbre debida al facto de dilución debe considerar las diluciones sucesivas:

$$F = f_1, f_2, \dots, f_k$$

La incertidumbre relativa debida a cada paso de la dilución se estima mediante la siguiente ecuación:

$$u_{rel,f}^2 = \left( \frac{v_b}{v_a + v_b} \right)^2 (u_{rel,a}^2 + u_{rel,b}^2)$$

Donde

$v_a$  es el volumen de la alícuota de la suspensión

$v_b$  es el volumen del blanco de dilución

$u_{rel,a}^2$  es la incertidumbre relativa asociada a la alícuota de la suspensión

$u_{rel,b}^2$  es la incertidumbre relativa debía al volumen del blanco de dilución

La varianza relativa del factor de dilución total es la suma de los cuadrados de las incertidumbres relativas individuales.

$$u_{rel,F}^2 = u_{rel,f1}^2 + u_{rel,f2}^2 + \dots + u_{rel,fk}^2$$

#### 4.5.2.2.1.3 Incertidumbre debida a la toma de la porción analítica: ( $u_{rel,V}^2$ )

Esta fuente tiene dos componentes. El primero es la repetibilidad relativa y reproducibilidad intralaboratorio de medidas de volumen. Esta fuente puede evaluarse ejecutando 20 mediciones de volumen de acuerdo con lo establecido en el procedimiento para la calibración de micropipetas, siguiendo los lineamientos consignados en el documento PROC-TC-142. Esta determinación puede realizarse con un analista, lo cual permitiría evaluar la repetibilidad propiamente dicha, o por varios analistas, lo cual evaluaría la reproducibilidad intralaboratorio.

El siguiente componente tiene que ver con la incertidumbre relativa de una suma de porciones de prueba. Cuando se fabrica una serie de placas a partir de la misma

<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	Identificación: <b>PROC-TC-002</b>
		Revisión: <b>4</b>
		Inicio de vigencia: <b>2023-09-06</b>

suspensión final, la incertidumbre del volumen total se obtiene mediante la aplicación directa de las reglas de incertidumbre combinadas.

$$SV = V_1 + V_2 + \dots + V_n$$

La incertidumbre correspondiente se calcula a partir de

$$u_{\Sigma v} = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + \dots + u_n^2}$$

donde  $u_1, u_2, \dots$  son estimaciones de la incertidumbre estándar de  $V_1, V_2, \dots$  expresadas en unidades de volumen (mililitros).

Para su uso posterior en cálculos de incertidumbre, generalmente es mejor expresar el resultado como incertidumbre relativa.

$$u_{rel, \Sigma v} = \frac{u_{\Sigma v}}{\Sigma v}$$

**Nota:** Para el caso en el cual se requiera una estimación rigurosa de la incertidumbre y se hayan empleado otros tipos de diseño experimental donde se emplean otros ensayos, tales como Una dilución, porciones de prueba iguales o dos porciones analíticas, debe remitirse al apéndice J de la referencia [9] para obtener instrucciones adicionales

#### 4.5.2.2.1.4 Efectos de la incubación: incertidumbre debida a la posición y al tiempo. ( $u_{rel, l}^2$ )

Durante la incubación pueden suceder cosas que cambien el número de colonias en una placa. Las colonias pueden no desarrollarse. Como consecuencia, el número de colonias observadas después de la incubación puede diferir del número (desconocido) de partículas viables formadoras de colonias depositadas originalmente en la placa. Cuando las condiciones de incubación están cerca de los límites de tolerancia de algunos miembros de la población objetivo, ligeras diferencias en las condiciones (temperatura, humedad, atmósfera) pueden afectar el recuento de manera diferente en diferentes partes del espacio de incubación.

Incluso si el número de partículas formadoras de colonias en una serie de placas de una suspensión probablemente sigue originalmente la ley de Poisson, el efecto de las influencias durante la incubación es causar una "sobredispersión" de los recuentos paralelos.

El diseño experimental se basa en suspensiones bien mezcladas. El único requisito es que las suspensiones de prueba representen poblaciones objetivo-típicas en una concentración adecuada para el cultivo directo. Es preferible emplear muestras de rutina naturales o sus diluciones. Para minimizar otros efectos diferentes a aquellos de incubación, las condiciones de repetibilidad deben prevalecer durante la preparación.

<b>aoxlab</b>	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	Identificación: <b>PROC-TC-002</b>
		Revisión: <b>4</b>
		Inicio de vigencia: <b>2023-09-06</b>

De cada suspensión se forma un conjunto de, por ejemplo, de 6 a 10 placas paralelas. El volumen combinado de las porciones de prueba sembradas no debe exceder el 10 % del volumen de la suspensión para evitar el inconveniente de la corrección de muestras finitas (ver Anexo C).

Las placas deben colocarse en posiciones seleccionadas al azar en la incubadora. Después de la incubación, todas las placas deben ser leídas por el mismo operador. Se calcula la varianza total entre las placas paralelas y se resta el componente de varianza intrínseca (Poisson). Si hay motivos para creer que la incertidumbre del recuento y/o la incertidumbre del volumen de la porción de prueba son significativas, también se deben restar. El resto se interpreta como incertidumbre adicional debido a la incubación.

#### 4.5.2.2.1.5 Repetibilidad y reproducibilidad intralaboratorio del conteo. ( $u_{rel,L}^2$ )

La incertidumbre de leer el número de colonias de una placa es a menudo uno de los componentes importantes de la incertidumbre en microbiología cuantitativa.

Los valores del parámetro se estudian obteniendo lecturas de las mismas placas por diferentes operadores o lecturas repetidas por el mismo operador. Esto se realiza como parte del aseguramiento de calidad de un laboratorio. Se deben estudiar muestras de rutina normales. Las placas deben escogerse al azar para un segundo conteo después de que se haya realizado el conteo inicial. Los casos problemáticos deben incluirse sólo en la medida en que se elijan al aza

Una estimación de la incertidumbre personal del conteo tiene cierto valor intrínseco, pero esta información también es necesaria cuando los componentes de la incertidumbre, como los efectos de la incubación, se estiman mediante experimentos de cultivo. Se debe realizar una evaluación con cada método y organismo objetivo por separado.


Los datos se pueden acumular a lo largo de días y semanas hasta que se haya leído un número adecuado (al menos 30, preferiblemente muchas más) de placas. El único problema práctico es cómo evitar que el primer conteo influya en el segundo. La varianza relativa de cada par de resultados se calcula utilizando la ecuación

$$u_{rel,L}^2 = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \left(\frac{s_i}{\bar{x}_i}\right)^2}{n}}$$

Donde  $n$  es el número de muestras que fueron incluidos en el ensayo  $s_i$  es la desviación estándar de los recuentos replicados de la muestra  $i$  y  $\bar{x}_i$  es el promedio de los recuentos replicados para la muestra  $i$

Cada estimación se aplica estrictamente sólo a situaciones similares a las del experimento (mismo tipo de muestra, mismo método, mismo grupo de operadores).

#### 4.6 Cálculo de la incertidumbre expandida.

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión:</b> 4
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

#### 4.6.1 Ensayos fisicoquímicos

Aunque  $u_c(y)$  puede usarse universalmente para expresar la incertidumbre de un resultado de medición, en algunas aplicaciones comerciales, industriales y regulatorias, y cuando se trata de salud y seguridad, a menudo es necesario dar una medida de incertidumbre que defina un intervalo sobre el resultado de la medición que se puede esperar que supere una gran fracción de la distribución de valores que razonablemente podría atribuirse al mensurando. La existencia de este requisito se refleja en la recomendación 1 (CI-1986) del CIPM.

Siendo esto así, la etapa final es obtener la incertidumbre expandida  $U$ , al multiplicarla por un factor  $k$  que proporcione el intervalo mencionado anteriormente.

Matemáticamente esto se puede escribir como

$$U = k u_c(y)$$

$U$  indica entonces un intervalo que representa una fracción  $p$  de los valores que puede tomar el mensurando el valor  $p$  es llamado nivel de confianza y puede ser elegido a conveniencia.

Para la elección del factor  $k$ , deben tenerse en cuenta algunos aspectos como:

- El nivel de confianza  $p$  requerido
- El conocimiento de las funciones de distribución de probabilidad de las variables de entrada y el mensurando
- Cualquier conocimiento del número de mediciones para estimar los efectos aleatorios.

En la mayoría de los casos se recomienda que  $k$  sea 2. Sin embargo, este valor de  $k$  podría ser insuficiente cuando la incertidumbre combinada esté basada en observaciones estadísticas con relativamente pocos grados de libertad (menos de 6). Cuando la incertidumbre estándar combinada está dominada por una sola contribución con menos de 6 grados de libertad, se recomienda que  $k$  sea fijado igual al valor de la  $t$  de Student para dos colas, para el número de grados de libertad asociado con esa contribución, y para el nivel de confianza requerido (normalmente 95%).


#### 4.6.2 Ensayos microbiológicos

Para los métodos de ensayo microbiológico, la incertidumbre expandida se obtiene mediante la siguiente ecuación:

$$U = 2 \sqrt{s_R + \frac{0.18861}{\sum C}}$$

Donde  $s_R$  es la desviación estándar de la reproducibilidad, la constante 0.18861 corresponde al componente de varianza debido a la distribución de Poisson y  $C$  es la suma de todas las colonias contadas en todos los platos.

La incertidumbre expandida para las metodologías de Número Más Probable se obtiene de las tablas publicadas o software suministrados por los fabricantes del kit de ensayo.

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

## 4.7 Reporte de la incertidumbre

### 4.7.1 Ensayos fisicoquímicos

Los principios que rigen para informar del resultado de una medida son:

- presentar información suficiente para permitir que el resultado sea re-evaluado si hubiera disponibles nuevos datos o nueva información.
- Brindar toda la información disponible respecto de la estimación de la incertidumbre, aun cuando se considere que es demasiada.

Cuando los detalles de una medida, incluido el enfoque o estrategia en que se determinó su incertidumbre, dependen de referencias de documentación publicada, es imperioso que dicha documentación esté actualizada y sea consistente con los métodos vigentes. Si no se indica lo contrario, el resultado debe ser establecido junto con la incertidumbre expandida  $U$  calculada usando un factor de cobertura  $k=2$ . Se recomienda hacerlo del modo siguiente:

*(Resultado):  $(x \pm U)$  (unidades)*

También es posible reportar la incertidumbre en forma relativa de la siguiente forma:

*(Resultado):  $x$  (unidades)  $\pm U_r$  (%)*

Donde  $U_r$  corresponde a la incertidumbre expandida expresada en forma relativa o porcentual. La incertidumbre informada está calculada usando un factor de cobertura de 2, (lo que da un nivel de confianza de aproximadamente 95 %)


Para resultados cercanos al límite de cuantificación, la incertidumbre a menudo se encuentra constante y, por lo tanto, puede expresarse como un valor absoluto. Cuando los resultados están muy por encima del límite de cuantificación, la incertidumbre suele ser proporcional a la concentración del analito y, por tanto, puede expresarse como un valor relativo.

Por lo general, la incertidumbre de la medición se determina para una determinada matriz y rango de concentración. En algunas situaciones, se puede aplicar una función de interpolación entre diferentes rangos de concentración.

Los valores numéricos del resultado y su incertidumbre deben ser proporcionados con un número apropiado de dígitos. Cuando se dan la incertidumbre expandida  $U$  o una incertidumbre estándar  $u$ , rara vez es necesario dar más de dos cifras significativas para la incertidumbre. Los resultados deben ser redondeados para ser consistentes con una incertidumbre dada.

En ciertas circunstancias, en particular las relacionadas con incertidumbres de, resultados cercanos a cero o siguiendo la estimación de Monte Carlo, la distribución asociada con el resultado podría ser fuertemente asimétrica. Entonces, es inapropiado citar sólo un valor para la incertidumbre. En su lugar, deben darse los límites del intervalo de cobertura estimado. La incertidumbre estándar debe proporcionarse si es probable que el resultado y su incertidumbre vayan a ser usados para futuros cálculos.

### 4.7.2 Ensayos microbiológicos

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b> <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

Los resultados de ensayos microbiológicos en los cuales se proporciona la incertidumbre deben reportarse de estas formas:

- Un intervalo del resultado:

$$y \pm U [\log_{10}(UFC/g)]$$

- Logaritmo decimal con límites estimados

$$y \log_{10}(UFC/g) [y - U, y + U]$$


- Resultado con límites absolutos

$$y \text{ UFC/g } [10^{y-U}, 10^{y+U}]$$

- Resultado con límites relativos

$$y \text{ UFC/g } [-(1 - 10^{-U}) \times 100\%, +(1 - 10^{-U}) \times 100\%]$$

Los cálculos relacionados con la estimación de la incertidumbre se encuentran en los respectivos cuadros de mando de los métodos de ensayo. El reporte de la incertidumbre se realiza en los informes de ensayo, siguiendo los lineamientos establecidos en el procedimiento PROC-TC-085 Procedimiento para el control de los resultados, la generación y aprobación de los informes.

	<b>Procedimiento de estimación de incertidumbres</b>  <b>AOXLAB S.A.S</b>	<b>Identificación:</b> <b>PROC-TC-002</b>
		<b>Revisión: 4</b>
		<b>Inicio de vigencia:</b> <b>2023-09-06</b>

## 5 RESPONSABILIDADES.

### 5.1 Director Técnico.

Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.

### 5.2 Líder de Laboratorio.

Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.

### 5.3 Analistas.

Aplicar el presente documento.

## 6 FORMATOS RELACIONADOS.

No aplica

## 7 ANEXOS.

No aplica