

PRECISIÓN DE LOS MÉTODOS CUANTITATIVOS EN MICROBIOLOGÍA. COMPARATIVA DE DISTINTAS SISTEMÁTICAS DE CÁLCULO

C. de la Cruz Remón¹ y J. Laso Sánchez¹

¹Gabinete de Servicios para la Calidad. C/Caridad, 32 - local. 28007 Madrid, España. E-mail: gscsal@gscsal.com

AREA TEMÁTICA. REQUISITOS TÉCNICOS

RESUMEN. La presente comunicación presenta una comparativa entre cuatro planteamientos para la estimación de la precisión de los resultados de los ensayos cuantitativos en microbiología recogidos en la normativa existente, publicados por entidades de acreditación o en la bibliografía. Los cuatro métodos valorados no presentan diferencias en cuanto a sus resultados aunque sí en su planteamiento inicial.

PALABRAS CLAVE. Validación, precisión, reproducibilidad, incertidumbre.

1.- Introducción

La estimación de la precisión en los métodos cuantitativos en microbiología basados en el recuento en placa puede ser abordada por diferentes vías. Algunas de estas vías han sido trasladadas a documentos normativos (ISO/TS 19036:2006, ISO/TS 19036:2006/Amd.1:2009, ISO 16140:2003, ISO/TR 13843:2000), otras han sido recogidas por entidades de acreditación como guías técnicas (International Accreditation New Zealand AS TG5, May 2004; Singapore Accreditation, Technical guide 2, March 2008, The American Association for Laboratory Accreditation. G108 11/05/2007) y otras son empleadas por organismos oficiales (Health Protection Agency, Uncertainty of measurement in testing, QSOP 4).

El presente artículo no pretende realizar un análisis exhaustivo de los distintos planteamientos, sino realizar una comparativa entre ellos y el procedimiento propuesto en una de las comunicaciones del congreso de IBEROLAB 2005 por uno de los autores del presente artículo. En este último planteamiento se incluye una estimación de la veracidad del método de ensayo que servirá como base en las actividades de evaluación de la calidad de los ensayos. En el presente artículo se compara la sistemática propuesta en:

-ISO/TS 19036:2006 Microbiology of food and animal feeding stuffs- Guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations.

-UNE-EN ISO 16140:2003 Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal – Protocolo para la validación de métodos alternativos.

-International Accreditation New Zealand (ANZ) AS TG 5, May 2004. “Uncertainty of Measurement, Precision and

Limits of Detection in Chemical and Microbiological Testing Laboratories”

-The American Association for Laboratory Accreditation. G108 11/05/2007 “Guidelines for Estimating Uncertainty for Microbiological Counting Methods”.

-IBEROLAB 2005: Situación de la validación de los ensayos microbiológicos en los laboratorios (J. Laso Sánchez).

2.- Sistemáticas de cálculo

En el presente artículo, para realizar la comparativa se van a emplear los resultados procedentes de diez muestras en las que se ha realizado una adición con material de referencia para obtener un recuento de 390 ufc/g (Valor de referencia VR). De cada muestra dos técnicos realizan un ensayo (VL1 y VL2). Dichos valores son transformados como su logaritmo decimal (tabla 1 y figura 1).

Tabla 1. Valores iniciales de ejemplo y transformación logarítmica

	VR	VL1	VL2	Log (VR)	Log(VL1)	Log(VL2)
1	3,9E+02	3,5E+02	4,0E+02	2,591	2,544	2,602
2	3,9E+02	3,5E+02	3,0E+02	2,591	2,544	2,477
3	3,9E+02	3,0E+02	4,0E+02	2,591	2,477	2,602
4	3,9E+02	4,8E+02	3,0E+02	2,591	2,681	2,477
5	3,9E+02	4,0E+02	3,8E+02	2,591	2,602	2,580
6	3,9E+02	4,5E+02	4,0E+02	2,591	2,653	2,602
7	3,9E+02	4,5E+02	3,5E+02	2,591	2,653	2,544
8	3,9E+02	2,9E+02	3,5E+02	2,591	2,462	2,544
9	3,9E+02	3,0E+02	2,5E+02	2,591	2,477	2,398
10	3,9E+02	3,0E+02	4,8E+02	2,591	2,477	2,681

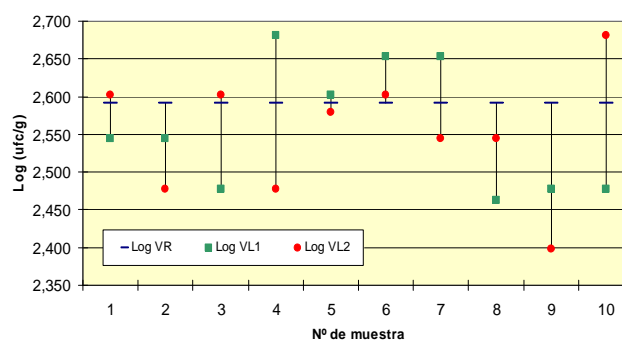


Fig. 1. Representación gráfica datos ejemplo Tabla 1

-ISO/TS 19036:2006. Microbiology of food and animal feeding stuffs- Guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations.

Esta norma plantea una sistemática bastante sencilla de realizar por los laboratorios en la que únicamente incluye como componente de incertidumbre la debida a la precisión no teniendo en cuenta el componente debido al sesgo del método de ensayo (exactitud o recuperación).

En el cálculo de la precisión se emplean los resultados obtenidos por técnicos a partir de dos submuestras de una misma muestra. En estas condiciones no entran en juego demasiadas variaciones en las condiciones de reproducibilidad salvo que se incluyan diferentes lotes de medios de cultivo y condiciones de incubación que tienen su influencia en el comportamiento del método de forma general. El laboratorio por tanto, realiza duplicados de muestras naturales o contaminadas artificialmente, variando entre las distintas matrices que tenga incluidas en el alcance del método de ensayo, y calcula para cada par de valores su varianza (1) (tabla 2):

$$S_{R_i}^2 = \frac{(\text{Log}_{10}(VL1_i) - \text{Log}_{10}(VL2_i))^2}{2} \quad (1)$$

Tabla 2. Cálculo de la varianza de reproducibilidad

Log (VL1)	Log (VL2)	$S_{R_i}^2$
2,544	2,602	0,00168
2,544	2,477	0,00224
2,477	2,602	0,00780
2,681	2,477	0,02083
,602	2,580	0,00025
2,653	2,602	0,00131
2,653	2,544	0,00596
2,462	2,544	0,00333
2,477	2,398	0,00313
2,477	2,681	0,02083

A partir de dichas varianzas, se calcula la varianza media como estimación de la precisión del método (2):

$$\left. \begin{aligned} S_R^2 &= \frac{\sum_{i=1}^n S_{R_i}^2}{n} = 0,00674 \\ S_R &= \sqrt{S_R^2} = 0,082 \text{ Log}_{10}(ufc / g) \end{aligned} \right\} \quad (2)$$

En Febrero de 2009, ISO publicó una enmienda a dicha norma para incluir en la estimación de la incertidumbre una componente debida a los recuentos bajos en placa. Dicha enmienda no se ha tenido en cuenta en el presente artículo ya que sólo afecta a la estimación de la incertidumbre y no a los cálculos en la precisión del método.

-UNE-EN ISO 16140:2003. “Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal – Protocolo para la validación de métodos alternativos”.

En el planteamiento seguido por esta norma se parte de la realización de un estudio interlaboratorio en el que cada

laboratorio realiza un replicado de la muestra. Los cálculos son realizados mediante estimadores robustos basados en la mediana para no ser sensibles a los valores extremos.

Aunque los cálculos planteados en esta norma son realizados con los datos procedentes de diferentes laboratorios, con el fin de poder comparar las distintas sistemáticas que se recogen en el presente artículo, se van a aplicar dichos cálculos a los mismos valores que se emplean en los otros planteamientos.

La repetibilidad es estimada a partir de la mediana de las desviaciones estándar de las replicas de cada laboratorio (3) multiplicada por la constante $k_2=1,4826$ (Tabla 3):

$$\left. \begin{aligned} S_i &= \frac{|\text{Log}_{10}(VL1_i) - \text{Log}_{10}(VL2_i)|}{\sqrt{2}} \\ S_r &= k_2 * \text{MEDIANA}\{S_i\} = 1,4826 * 0,057 = 0,084 \text{ Log}_{10}(ufc / g) \end{aligned} \right\} \quad (3)$$

De cada par de valores (en logaritmo) se obtiene el valor medio que será empleado en la estimación de la reproducibilidad (4):

$$\overline{VL}_i = \frac{\text{Log}_{10}(VL1_i) + \text{Log}_{10}(VL2_i)}{2} \quad (4)$$

Tabla 3. Cálculo valor medio ensayos y S_i

Log (VL1)	Log (VL2)	S_i	\overline{VL}_i
2,544	2,602	0,041	2,573
2,544	2,477	0,047	2,511
2,477	2,602	0,088	2,540
2,681	2,477	0,144	2,579
2,602	2,580	0,016	2,591
2,653	2,602	0,036	2,628
2,653	2,544	0,077	2,599
2,462	2,544	0,058	2,503
2,477	2,398	0,056	2,438
2,477	2,681	0,144	2,579

Para el cálculo de la reproducibilidad se incluye la debida a la repetibilidad y a la variabilidad debida a los distintos laboratorios empleando para ello un estimador robusto basado en la mediana recursiva (S_n) de Rousseev. Su cálculo se basa en la mediana de las distintas medianas de las diferencias en valor absoluto de cada valor medio (\overline{VL}_i) frente al resto de los valores (5):

$$dif = |\overline{VL}_i - \overline{VL}_j| \quad (5)$$

Tabla 4. Cálculo estimador robusto de reproducibilidad

\overline{VL}_i	2,573	2,511	2,540	2,579	2,591	2,628	2,599	2,503	2,438	2,579
2,573		0,062	0,033	0,006	0,018	0,055	0,026	0,070	0,136	0,006
2,511	0,062		0,029	0,069	0,080	0,117	0,088	0,007	0,073	0,069
2,540	0,033	0,029		0,040	0,051	0,088	0,059	0,036	0,102	0,040
2,579	0,006	0,069	0,040		0,012	0,048	0,019	0,076	0,142	0,000
2,591	0,018	0,080	0,051	0,012		0,037	0,008	0,088	0,153	0,012
2,628	0,055	0,117	0,088	0,048	0,037		0,029	0,124	0,190	0,048
2,599	0,026	0,088	0,059	0,019	0,008	0,029		0,095	0,161	0,019
2,503	0,070	0,007	0,036	0,076	0,088	0,124	0,095		0,066	0,076
2,438	0,136	0,073	0,102	0,142	0,153	0,190	0,161	0,066		0,142
2,579	0,006	0,069	0,040	0,000	0,012	0,048	0,019	0,076	0,142	
	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
$MED\{dif\}$	0,033	0,069	0,040	0,040	0,037	0,055	0,029	0,076	0,142	0,040
	$S_n = MEDIANA\{MEDIANA\{dif\}\} = 0,040$									

Se calcula la mediana de las medianas de las diferencias ($S_n = MED\{MED\{dif\}\}$) y se multiplica por el factor k_1 .

$$S_b = k_1 * S_n = 1,1926 * 0,040 = 0,047$$

En el cálculo de la desviación estándar de reproducibilidad se tienen en cuenta ambas componentes (6):

$$S_R = \sqrt{S_b^2 + \frac{S_r^2}{2}} = \sqrt{0,047^2 + \frac{0,084^2}{2}} = 0,076 \text{ Log}_{10}(ufc / g) \quad (6)$$

-International Accreditation New Zeland (ANZ) AS TG 5, May 2004. "Uncertainty of Measurement, Precision and Limits of Detection in Chemical and Microbiological Testing Laboratories"

La guía técnica AS TG 5, May 2004 en su punto 5.6.3. indica que la reproducibilidad en un laboratorio se puede estimar a partir de una muestra analizada de forma repetida. Se indica que es aconsejable que se emplee un material de referencia con efecto matriz o una adición estandarizada en el laboratorio y analizada repetidamente. Con todos los valores obtenidos se calcula su desviación estándar, constituyendo la precisión intermedia (S_R intralaboratorio). Para calcular la desviación estándar, se obtiene el valor medio de las réplicas, y se calcula la diferencia de cada valor frente a dicho valor medio (tabla 5):

Tabla 5. Diferencias frente al valor medio

Log (VL1)	Log (VL2)	$d(VL_i) = \text{Log}(VL_i) - \overline{\text{Log}(VL)}$	
2,544	2,602	-0,010	0,048
2,544	2,477	-0,010	-0,077
2,477	2,602	-0,077	0,048
2,681	2,477	0,127	-0,077
2,602	2,580	0,048	0,026
2,653	2,602	0,099	0,048
2,653	2,544	0,099	-0,010
2,462	2,544	-0,092	-0,010
2,477	2,398	-0,077	-0,156
2,477	2,681	-0,077	0,127
$\overline{\text{Log}(VL)} = 2,554$			

Se calcula la precisión intermedia como desviación estándar de las diferencias frente al valor medio (7):

$$S_{d(VL)} = \sqrt{\frac{\sum (d(VL) - \overline{d(VL)})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{\sum (d(VL) - 0)^2}{20-1}} = 0,081 \text{ Log}_{10}(ufc / g) \quad (7)$$

-The American Association for Laboratory Accreditation. G108. "Guidelines for estimating uncertainty for microbiological counting methods".

En esta guía se recogen tres protocolos para la estimación de la incertidumbre, el primero de ellos tiene el mismo fundamento que el de la ISO 19036, el tercero se basa en la realización de un ejercicio de intercomparación según la ISO 21748, y el segundo protocolo tiene un fundamento similar al recogido en el artículo de Iberolab de 2005 analizado en la presente comunicación. Este protocolo será el que recojamos en la comparativa que estamos realizando.

De cada muestra adicionada calculamos la recuperación obtenida de forma logarítmica como (8) (tabla 6):

$$\% \text{Rec}_{\text{Log}} = \frac{\text{Log}(V_{\text{método}})}{\text{Log}(V_{\text{referencia}})} * 100 \quad (8)$$

Tabla 6. Recuperación logarítmica de cada ensayo

Log (VR)	Log (VL1)	Log (VL2)	Rec% _{Log} VL1	Rec% _{Log} VL2
2,591	2,544	2,602	98,2%	100,4%
2,591	2,544	2,477	98,2%	95,6%
2,591	2,477	2,602	95,6%	100,4%
2,591	2,681	2,477	103,5%	95,6%
2,591	2,602	2,580	100,4%	99,6%
2,591	2,653	2,602	102,4%	100,4%
2,591	2,653	2,544	102,4%	98,2%
2,591	2,462	2,544	95,0%	98,2%
2,591	2,477	2,398	95,6%	92,5%
2,591	2,477	2,681	95,6%	103,5%

Aunque esta forma de cálculo de la recuperación puede ser objeto de discusión debido a que la recuperación en un ensayo debería ser independiente de la dilución en la que se realice el recuento, en esta guía se realiza una valoración de la incertidumbre a través de la desviación estándar de las recuperaciones, considerando la incertidumbre como dos veces la desviación estándar aplicada sobre el valor de recuento en logaritmos.

Para nuestra comparativa entre las distintas sistemáticas, reconvertimos dicha desviación estándar relativa a su correspondiente valor logarítmico del recuento obtenido (9):

$$S_{\text{Rec}_{\text{Log}}} = \sqrt{\frac{\sum (\text{Rec}_{\text{Log}} VL_i - \overline{\text{Rec}_{\text{Log}} VL})^2}{n-1}} = 3,13\% \quad (9)$$

Para un valor de referencia de 2,591 log, la desviación estándar, se traduce en 0,081 (10):

$$S = 2,591 * 3,13 / 100 = 0,081 \text{ Log}_{10}(ufc / g) \quad (10)$$

Esta estimación de la precisión, como ya señala la guía, permite su cálculo a lo largo del tiempo, sin necesidad de realizar el ensayo por duplicado de forma simultánea, y permitiendo tener en cuenta muchas más fuentes de incertidumbre (analistas, equipos, medios de cultivo, condiciones de incubación, etc. incrementando así, las condiciones de reproducibilidad.

-IBEROLAB 2005: Situación de la validación de los ensayos microbiológicos en los laboratorios (J. Laso Sánchez).

En 2005 se publicó en el congreso IBEROLAB una comunicación que plantea una sistemática de validación que permite estimar la reproducibilidad del método en el laboratorio mediante la realización de ensayos en diferentes días y/o técnicos al relativizar cada resultado con el valor obtenido debido a la adición del inóculo o el material de referencia.

Este esquema de validación aporta el valor añadido de permitir calcular la recuperación del método y servir así de referencia en las actividades de evaluación de la calidad de los ensayos, requerimiento que se solicita tanto en la ISO 17025:2005 como expresamente en la NT-32 de ENAC. Si el laboratorio durante la validación del método no calcula qué recuperación presenta el método, como se planteaba en la primera revisión de la NT-32, y que variabilidad asociada tiene (reproducibilidad), en el control de calidad deberá marcarse una referencia no obtenida de forma experimental.

Con este esquema de validación es necesario realizar un control de la muestra para comprobar la ausencia del microorganismo que puede realizarse de forma simultánea al ensayo o previo al mismo. El sistema se basa en obtener un conjunto de pares de valores en el que uno constituye el valor de referencia y el segundo el valor obtenido con el método a validar. Se obtiene la diferencia (en logaritmos) entre el valor de referencia y el obtenido con el método (tabla 7).

Tabla 7. Diferencias logarítmicas frente al valor de referencia

Log (VR)	Log (VL1)	Log (VL2)	$d_i = \text{Log}(VR_i) - \text{Log}(VL_i)$	
2,591	2,544	2,602	0,047	-0,011
2,591	2,544	2,477	0,047	0,114
2,591	2,477	2,602	0,114	-0,011
2,591	2,681	2,477	-0,090	0,114
2,591	2,602	2,580	-0,011	0,011
2,591	2,653	2,602	-0,062	-0,011
2,591	2,653	2,544	-0,062	0,047
2,591	2,462	2,544	0,129	0,047
2,591	2,477	2,398	0,114	0,193
2,591	2,477	2,681	0,114	-0,090

$$\bar{d} = \frac{\sum_{i=1}^n d_i}{n} = 0,037$$

Para emplear los mismos valores utilizados con los otros esquemas se ha calculado la diferencia con el valor de referencia con ambos valores obtenidos por el laboratorio. En la práctica no sería necesaria la realización de un duplicado pudiendo realizarse en días diferentes.

A partir de las diferencias frente al valor de referencia se calcula su desviación estándar que constituye la reproducibilidad del método (11):

$$S_d = \sqrt{\frac{\sum (d - \bar{d})^2}{n-1}} = 0,081 \text{ Log}_{10}(ufc / g) \quad (11)$$

Dado que la recuperación de un método se calcula como el cociente entre el valor obtenido por el laboratorio frente al valor de referencia (12):

$$\text{Rec}(\%) = \frac{VL}{VR} * 100 \quad (12)$$

Entonces, si, $d = \text{Log}_{10}(VL) - \text{Log}_{10}(VR)$

$$\text{Rec}(\%) = VL / VR * 100 = 10^{VR - VL} * 100 = 10^{-d} * 100,$$

o si lo aplicamos sobre el valor medio de las recuperaciones, lo que es lo mismo, la recuperación del método, $\text{Recuperación}(\%) = 10^{-\bar{d}} * 100 = 10^{-0,037} * 100 = 91,8\%$ en base a este esquema, los ensayos no necesariamente deben ser realizados ni en el mismo día, ni necesariamente con un mismo material de referencia, ya que pueden ser adicionadas las muestras con niveles de contaminación diferentes y obtener de cada ensayo la diferencia frente al valor de referencia.

De acuerdo a todo lo anterior, con una probabilidad del 95% los resultados de ensayos de evaluación de la calidad de los ensayos deberían estar incluidos en el intervalo de $\bar{d} \pm 2 * S_d$. Y en el caso de muestras duplicadas la diferencia entre ambos resultados (en logaritmo) no debe ser superior al límite de reproducibilidad calculado como $R = 2 * \sqrt{2} * S_d$.

Por ejemplo, si recopilamos datos procedentes de adiciones sobre muestras dentro del plan de evaluación de la calidad de los ensayos o recopilados de la participación en ensayos de aptitud difiriendo o no en el nivel logarítmico (tabla 8 y figura 2):

Tabla 8. Ejemplo en distintos niveles microbianos

	VR	VL1	VL2	Log (VR)	Log (VL1)	Log (VL2)
1	8,9E+02	8,0E+02	9,1E+02	2,949	2,902	2,960
2	1,4E+03	1,2E+03		3,143	3,096	
3	3,4E+02	2,6E+02	3,5E+02	2,531	2,418	2,542
4	6,4E+03	7,9E+03	4,9E+03	3,806	3,896	3,692
5	8,9E+02	9,1E+02	8,7E+02	2,949	2,960	2,938
6	8,4E+03	9,7E+03		3,924	3,986	
7	1,6E+03	1,8E+03		3,201	3,264	
8	1,3E+03	9,6E+02		3,111	2,982	
9	8,9E+02	6,8E+02		2,949	2,835	
10	1,4E+03	1,1E+03	1,7E+03	3,143	3,029	3,233

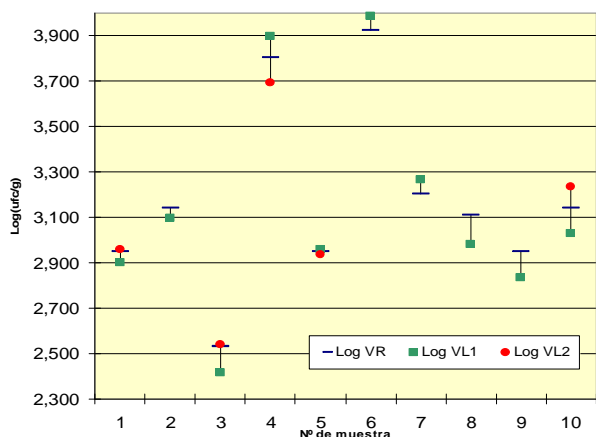


Fig. 2. Representación gráfica de los valores de la tabla 8

Si calculamos la diferencia de cada valor obtenido frente al valor de referencia $d = \text{Log}(VR) - \text{Log}(VL)$ o lo que es lo mismo si gráficamente trasladamos dichos valores a un mismo eje en base a sus diferencias frente al valor de referencia (tabla 9 y figura 3):

Tabla 9. Diferencias logarítmicas frente al valor de referencia

Log (VR)	Log (VL1)	Log (VL2)	$d_i = \text{Log}(VR_i) - \text{Log}(VL_i)$	
2,949	2,902	2,960	0,047	-0,011
3,143	3,096		0,047	
2,531	2,418	2,542	0,114	-0,011
3,806	3,896	3,692	-0,090	0,114
2,949	2,960	2,938	-0,011	0,011
3,924	3,986		-0,062	
3,201	3,264		-0,062	
3,111	2,982		0,129	
2,949	2,835		0,114	
3,143	3,029	3,233	0,114	-0,090

$$S_d = \sqrt{\frac{\sum (d - \bar{d})^2}{n-1}} = 0,080 \text{ Log}_{10}(\text{ufc} / \text{g})$$

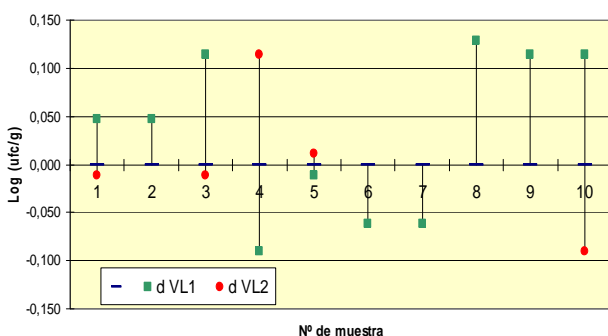


Fig. 3. Representación gráfica de los valores de la tabla 9

Esta transformación es equivalente a haber realizado todos los ensayos con un mismo material de referencia con la ventaja de permitir su realización en distintos días y en distintos niveles de adición y no necesariamente por duplicado cada día.

Si al mismo ejemplo anterior le aplicamos la sistemática de cálculo de la Guía G108 de la A2LA (tabla 10):

Tabla 10. Recuperación logarítmica de cada ensayo

Log (VR)	Log (VL1)	Log (VL2)	Rec% _{Log VL1}	Rec% _{Log VL2}
2,949	2,902	2,960	98,4%	100,4%
3,143	3,096		98,5%	
2,531	2,418	2,542	95,5%	100,4%
3,806	3,896	3,692	102,4%	97,0%
2,949	2,960	2,938	100,4%	99,6%
3,924	3,986		101,6%	
3,201	3,264		101,9%	
3,111	2,982		95,9%	
2,949	2,835		96,1%	
3,143	3,029	3,233	96,4%	102,9%
$\overline{\text{Log}(VR)} = 3,171$			$S_{\text{Rec } c_{\text{Log}}} = 2,52\%$	

Tomando el valor medio de los valores de referencia en logaritmos para poderlo comparar con la sistemática anterior (12) comprobándose que se obtiene un resultado similar:

$$S = 3,171 * \frac{2,52}{100} = 0,080 \text{ Log}_{10}(\text{ufc} / \text{g}) \tag{12}$$

3.- Conclusiones

1. Las diferentes alternativas que se han descrito en el presente artículo no presentan diferencias en sus resultados incluso teniendo planteamientos diferentes (tabla 11):

Tabla 11. Resumen datos diferentes planteamientos

1	$S_R = 0,082$
2	$S_R = 0,076$
3	$S_{d(VL)} = 0,081$
4	$S = 0,081$
5	$S_d = 0,081$

Resultados expresados en $\text{Log}_{10}(\text{ufc} / \text{g})$

-ISO/TS 19036:2006 Microbiology of food and animal feeding stuffs- Guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations..

-UNE-EN ISO 16140:2003 Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal – Protocolo para la validación de métodos alternativos.

-International Accreditation New Zeland (ANZ) AS TG 5, May 2004. “Uncertainty of Measurement, Precision and Limits of Detection in Chemical and Microbiological Testing Laboratories”

-The American Association for Laboratory Accreditation. G108: “Guidelines for Estimating Uncertainty for Microbiological Counting Methods”.

-IBEROLAB 2005: Situación de la validación de los ensayos microbiológicos en los laboratorios (J. Laso Sánchez).

2. Dado que la validación de los métodos debería sentar las bases para las actividades de evaluación de la calidad de los ensayos, si en dicha validación no se aborda la estimación de la recuperación del método, el laboratorio no dispone de un criterio experimental sobre el cual realizar la evaluación de dichos ensayos.

3. Aunque la sistemática planteada en la ISO 19036:2006 es indicada como una referencia adecuada para el estudio de la precisión por la Entidad Nacional de Acreditación (ENAC) en su nota técnica NT-32 rev. 2 (“Análisis microbiológicos - documento aclaratorio”), no es la única vía en la estimación de la precisión en los métodos cuantitativos microbiológicos.

Bibliografía

- International Organization for Standardization.- ISO/TS 19036:2006 *Microbiology of food and animal feeding stuffs- Guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations.*
- International Organization for Standardization.- ISO 13843:2000 *“Water quality- Guidance on validation of microbiological methods*
- Comité Europeo de Normalización.- UNE-EN ISO 16140:2003 *Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal – Protocolo para la validación de métodos alternativos.*
- International Accreditation New Zeland (ANZ).- AS TG 5, May 2004. *“Uncertainty of Measurement, Precision and Limits of Detection in Chemical and Microbiological Testing Laboratories”.*
www.ianz.govt.nz/publications2/pdfs/AS_TG5_uncert_of_measure.pdf
- Laso Sánchez, J.- IBEROLAB 2005: *Situación de la validación de los ensayos microbiológicos en los laboratorios.*
www.iberolab.org/opencms/opencms/congreso/IberolabIII2005/index
- Health Protection Agency.- *QSOP 4. Uncertainty of measurement in testing.*
www.hpa-standardmethods.org.uk/documents/qsop/pdf/qsop4.pdf
- Singapore Accreditation.- Technical guide 2, March 2008. *“A guide of measurement Uncertainty in Chemical & Microbiological analysis”*
www.sac-accreditation.gov.sg/DOCs/SAC-SINGLAS/Technical%20Guide%202,%20Mar%2008.pdf
- ENAC.- NT-32. Rev 2- *Análisis microbiológico: Documento aclaratorio (Julio 2010)*
www.enac.es/web/enac/inicio
- The American Association for Laboratory Accreditation. G108: *“Guidelines for Estimating Uncertainty for Microbiological Counting Methods” (11/05/2007).*
http://www.a2la.org/guidance/MU_for_Micro_Labs.pdf