

1. Metodologia Validada Coliformes totais e Escherichia coli – Determinação Quantitativa pela Técnica de Múltiplos Poços (Quantitativo/2000) – NMP (Substrato Enzimático)

Parâmetro: Coliformes totais e Escherichia coli

Faixa: <1 a >2419.6 NMP/100 mL

Nome do Método de Ensaio: SMWW 23a Edição, 2017, Método 9223B 4.c

2. Matriz

Água bruta, água tratada, água para consumo humano e efluente.

3. Equipamentos/ Instrumentos

Nome	Código	Certificado	Incerteza
Estufa Bacteriológica	AB-EQ-148	E43334A/19	± 0,2 °C
Micropipeta 1 à 10 mL	AB-EQ-163	EVV-12072-01/2019	± 0,014 mL
Micropipeta 100 à 1000 µL	AB-EQ-463	EVV-10287-08RV01/2018	± 0,82 µL
Micropipeta 10 à 100 µL	AB-EQ-553	E23289/19	± 0,050 µL


4. Padrões/Reagentes

Nome	Código	Validade	Certificado	Incerteza
K. pneumoniae ATCC13883 – Lot: 351-74-5	1322-37593/2022	31/05/2023	351-74-5	N/A
Escherichia coli ATCC25922 – Lot: 335-534-2	295-37593/2022	31/08/2023	335-534-2	N/A
P. aeruginosa ATCC27853 – Lot: 353-474-4	296-37593/2022	30/04/2023	353-474-4	N/A
QF-Coli Quimaflex Científica Lot: 220117073	3548-36497/2022	18/01/2023	220117073	N/A
Colilert Idexx Lot: HT52B	3548-36502/2022	12/11/2022	HT52B	N/A
Frasco Estéril com Tiosulfato de Sódio 1mg	4363-36497/2022	23/04/2023	20210423	N/A

5. Período de realização

21/03/2022 a 02/04/2022

6. Aprovação/ Parecer Técnico

 Visto do Analista Responsável:  Data: 02/04/2022

7. Aprovação da Gerência Técnica

(X) Aprovado () Reprovado

 Visto do Aprovador:  Data: 02/04/2022

8. Parâmetros analisados

- ☒ Seletividade
☐ Linearidade
☒ Limite de Detecção
☒ Limite de Quantificação
☐ Recuperação
☒ Precisão (repe e/ou repro)
☐ Robustez

Limite de detecção e Limite de quantificação

Legenda:

Resultados

Entrada de dados

Data da execução:

23/03/2022 a 24/03/2022

Concentração (NMP/100mℓ)	Resposta	Desv. padrão (s)	L.D. (NMP/100mℓ)	L.Q. (NMP/100mℓ)
<1 NMP/100mℓ	24,3	0,378	0,119	0,378
	24,3			
	24,3			
	24,3			
	24,3			
	23,3			
Desv. Padrão (s)	0,37796			
Média (X_m)	24,157			

 Se $s \neq 0$ $\hat{LD} = X_m + t.s$

 Se $s = 0$ $\hat{LD} = t.s$

 Valor de t unilateral para 99% de confiança: 3,14

Observação:

 O LD foi Calculado pelo branco da Amostra com Adição da menor Concentração aceitável do Analito $LD = 0 + t(n-1,1-a).S$ ou seja, 3,143 vezes o

 O LQ foi Calculado pelo branco da Amostra com Adição da menor Concentração aceitável do Analito $LQ = 0 + 10.s$ ou seja, desvio padrão amostral vezes 10.

Conclusão:

LD = 0,153

LQ = 0,488

Observações: LD e LQ foi cálculo pela adição de uma cepa padrão de Escherichia coli em um branco de amostra (água estéril) e analisado quantitativamente pela técnica de inoculação em poços múltiplos (Quanti-Tray 2000)



Aprovador

Repetitividade

Legenda:

Resultados

Entrada de dados

Data da execução: 25/03/2022 a 26/03/2022

Nível 1		Nível 2		Nível 3	
Amanda K. P. Zago					
25/03/2022 a 26/03/2022					
Klebsiela. pneumoniae ATCC13883 + QF-Coli	Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.	C.V.
	1	30,50000	29,64	0,802	2,71%
	2	29,00000			
	3	30,50000			
	4	29,00000			
	5	29,00000			
	6	30,50000			
7	29,00000	54,67	1,336	2,44%	
Escherichia coli ATCC25922 + QF-Coli	1				56,10000
	2				53,60000
	3				56,10000
	4				56,10000
	5				53,60000
	6				53,60000
	7	53,60000			
Pseudomonas aeruginosas ATCC27853 + QF-Coli	1	0,00000	0,00	0,000	#DIV/0!
	2	0,00000			
	3	0,00000			
	4	0,00000			
	5	0,00000			
	6	0,00000			
	7	0,00000			

Limite de repetitividade Nível 1		Limite de repetitividade Nível 2		Limite de repetitividade Nível 3	
$t_{\text{tab}} (95\%)$	1,94	$t_{\text{tab}} (95\%)$	1,94	$t_{\text{tab}} (95\%)$	1,94
n	7	n	7	n	7
s	0,80200	s	1,33600	s	0,00000
r	2,20035	r	3,66542	r	0,00000

Conclusão:

 Critério de aceitação para $CV \leq 20\%$ para medidas de propriedade.



Aprovador

Reprodutibilidade

Legenda:

Resultados

Entrada de dados

Nível 1							
1,00			Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.	Variância
1,00							
Operator:	Maria Julia Mieli	Klebsiela. pneumoniae ATCC13883 + Collet - Idexx	1	29,0000	29,36	1,046	1,093406593
			2	27,5000			
			3	27,5000			
			4	29,0000			
			5	30,5000			
			6	29,5000			
			7	30,5000			
Operator:	Amanda K. P. Zago	25/03/2022 a 26/03/2022	1	30,5000			
			2	29,0000			
			3	30,5000			
			4	29,0000			
			5	29,0000			
			6	30,5000			
			7	29,0000			

Limite de reprodutibilidade	
Nível 1	
$t_{\text{tab}} (95\%)$	1,94
n	7
S_R	1,046
R	2,86978
$DPRr = C.V.$	3,56%

$DPRr_{\text{(teórico)}}$	2,000
HORRAT	0,017813

$$DPRr = 2^{(1-0,5 \log C)}$$

Conclusão:

 Critério de aceitação para $CV \leq 20\%$.

 Valor de HORRAT ≤ 2 , os valores da reprodutibilidade do método são satisfatórios.

Reprodutibilidade

Legenda:

Resultados

Entrada de dados

Nível 2		1,00		Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.	Variância
1,00								
Operator:	Maria Julia Mieli	Escherichia coli ATCC25922 + Colilet - Idexx	1	51,2000	53,98	1,892	3,578736264	
			2	51,2000				
			3	53,6000				
			4	56,1000				
			5	56,1000				
			6	53,6000				
			7	51,2000				
Operator:	Amanda K. P. Zago	25/03/2022 a 26/03/2022	1	56,1000				
			2	53,6000				
			3	56,1000				
			4	56,1000				
			5	53,6000				
			6	53,6000				
			7	53,6000				

Limite de reprodutibilidade	
Nível 2	
$t_{\text{tab}} (95\%)$	1,94
n	7
S_R	1,892
R	5,19084
$DPRr = C.V.$	3,51%

$DPRr_{\text{(teórico)}}$	2,000
HORRAT	0,017525

$$DPRr = 2^{(1-0,5 \log C)}$$

Conclusão:

 Critério de aceitação para $CV \leq 20\%$.

 Valor de HORRAT ≤ 2 , os valores da reprodutibilidade do método são satisfatórios.

Reprodutibilidade

Legenda:

Resultados

Entrada de dados

Nível 3							
1,00			Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.	Variância
1,00							
Operator:	Maria Julia Mieli	Pseudomonas aeruginosas ATCC27853 + Colliert - Idexx	1	0,0000	0,00	0,000	0,000000000
			2	0,0000			
			3	0,0000			
			4	0,0000			
			5	0,0000			
			6	0,0000			
			7	0,0000			
Operator:	Amanda K. P. Zago	25/03/2022 a 26/03/2022	1	0,0000			
			2	0,0000			
			3	0,0000			
			4	0,0000			
			5	0,0000			
			6	0,0000			
			7	0,0000			

Limite de reprodutibilidade	
Nível 3	
$t_{\text{tab}} (95\%)$	1,94
n	7
S_R	0,000
R	0,00000
$DPR_r = C.V.$	#DIV/0!

$DPR_r (\text{teórico})$	2,000
HORRAT	#DIV/0!

$$DPR_r = 2^{(1-0,5 \log C)}$$

Conclusão:

 Critério de aceitação para $CV \leq 20\%$.

 Valor de HORRAT ≤ 2 , os valores da reprodutibilidade do método são satisfatórios.



Aprovador

Seletividade

Legenda:

Resultados

Entrada de dados

Tipo de Teste: Quantitativo - QF-Coli

Matriz: Água Tratada		Controle: Cepa: E.coli	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	30,50000	29,75	0,866
2	29,00000		
3	29,00000		
4	30,50000		
		Variância	0,75000

F_{calc}	2,954
$F_{tab (95\%)}$	9,277
n_1	4
n_2	4
n_1-1	3
n_2-1	3
Sagrupo	1,832

Matriz: Água Bruta		Controle: Cepa: E.coli	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	32,10000	30,93	1,489
2	30,50000		
3	32,10000		
4	29,00000		
		Variância	2,21583

média variância	1,483
t_{calc}	0,45
$t_{tab (95\%)}$	2,35

Matriz: Água Tratada		Controle: Cepa: K. pneumoniae	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	53,60000	55,27	1,443
2	56,10000		
3	56,10000		
4	53,60000		
		Variância	2,08333

F_{calc}	2,910
$F_{tab (95\%)}$	9,277
n_1	4
n_2	4
n_1-1	3
n_2-1	3
Sagrupo	3,047

Matriz: Água Bruta		Controle: Cepa: K. pneumoniae	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	58,80000	56,33	2,462
2	56,60000		
3	58,80000		
4	53,60000		
		Variância	6,06333

média variância 4,073
 t_{calc} 0,25
 $t_{tab} (95\%)$ 2,35

Matriz: Água Tratada		Controle: Cepa: P. aeruginosa	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	0,000	0,00	0,000
2	0,000		
3	0,000		
4	0,000		
		Variância	0,00000

F_{calc} #DIV/0!
 $F_{tab} (95\%)$ 9,277
 n_1 4
 n_2 4
 n_1-1 3
 n_2-1 3
 $S_{agrupado}$ 0,000

Matriz: Água Bruta		Controle: Cepa: P. aeruginosa	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	0,000	0,00	0,000
2	0,000		
3	0,000		
4	0,000		
		Variância	0,00000

média variância 0,000
 t_{calc} #DIV/0!
 $t_{tab} (95\%)$ 2,35

Obs: Caso sejam testadas mais de uma matriz, criar nova aba de seletividade.

A Matriz não tem efeito importante sobre os resultados ($F_{calc} < F_{tab}$) ou se os testes nas matrizes forem iguais aos testes em água estéril

O Método é seletivo, sendo $t_{calc} < t_{tab}$ ou se os resultados dos testes qualitativos forem satisfatórios.



Aprovador

Seletividade

Legenda:

Resultados

Entrada de dados

Tipo de Teste: Quantitativo - Colilert

Matriz: Água Tratada		Controle: Cepa: E.coli	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	29,0000	28,25	0,866
2	27,5000		
3	27,5000		
4	29,0000		
		Variância	0,75000

F_{calc}	6,271
$F_{tab (95\%)}$	9,277
n_1	4
n_2	4
n_1-1	3
n_2-1	3
Sagrupo	2,145

Matriz: Água Bruta		Controle: Cepa: E.coli	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	30,5000	30,55	2,169
2	32,1000		
3	27,5000		
4	32,1000		
		Variância	4,70333

média variância	2,727
t_{calc}	0,76
$t_{tab (95\%)}$	2,35

Matriz: Água Bruta		Controle: Cepa: K. pneumoniae	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	51,2000	53,63	2,341
2	51,2000		
3	53,6000		
4	56,1000		
		Variância	5,48250

F_{calc}	1,171
$F_{tab (95\%)}$	9,277
n_1	4
n_2	4
n_1-1	3
n_2-1	3
Sagrupo	4,335

Matriz: Água Tratada		Controle: Cepa: K. pneumoniae	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	56,1000	58,47	2,164
2	60,5000		
3	58,8000		
4	56,1000		
		Variância	4,68250

média variância 5,083
 t_{calc} 0,79
 $t_{tab (95\%)}$ 2,35

Matriz: Água Bruta		Controle: Cepa: P. aeruginosa	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	0,000	0,00	0,000
2	0,000		
3	0,000		
4	0,000		
		Variância	0,00000

F_{calc} #DIV/0!
 $F_{tab (95\%)}$ 9,277
 n_1 4
 n_2 4
 n_1-1 3
 n_2-1 3
 $S_{agrupado}$ 0,000

Matriz: Água Bruta		Controle: Cepa: P. aeruginosa	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	0,000	0,00	0,000
2	0,000		
3	0,000		
4	0,000		
		Variância	0,00000

média variância 0,000
 t_{calc} #DIV/0!
 $t_{tab (95\%)}$ 2,35

A Matriz não tem efeito importante sobre os resultados ($F_{calc} < F_{tab}$) ou se os testes nas matrizes forem iguais aos testes em água estéril
 O Método é seletivo, sendo $t_{calc} < t_{tab}$ ou se os resultados dos testes qualitativos forem satisfatórios.



Aprovador

Seletividade

Legenda:

Resultados

Entrada de dados

Tipo de Teste: Quantitativo - Colilert

Matriz: EFB - QF-Coli		Controle: Cepa: E.coli	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	436,0000	426,00	11,547
2	416,0000		
3	436,0000		
4	416,0000		
		Variância	133,33333

F_{calc}	1,333
$F_{tab (95\%)}$	9,277
n_1	4
n_2	4
n_1-1	3
n_2-1	3
Sagrupo	21,213

Matriz: EFB - Colilert		Controle: Cepa: E.coli	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	416,0000	421,00	10,000
2	416,0000		
3	436,0000		
4	416,0000		
		Variância	100,00000

média variância	116,667
t_{calc}	0,17
$t_{tab (95\%)}$	2,35

Matriz: EFT - QF-Coli		Controle: Cepa: K. pneumoniae	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	168,9000	166,17	2,367
2	164,8000		
3	164,8000		
4	168,9000		
		Variância	5,60333

F_{calc}	1,115
$F_{tab (95\%)}$	9,277
n_1	4
n_2	4
n_1-1	3
n_2-1	3
Sagrupo	4,465

Matriz: EFT - Colilert		Controle: Cepa: K. pneumoniae	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	164,8000	166,47	2,500
2	164,8000		
3	169,8000		
4	164,8000		
		Variância	6,25000

média variância 5,927
 t_{calc} 0,05
 $t_{tab} (95\%)$ 2,35

Matriz: EFB - QF-Coli		Controle: Cepa: P. aeruginosa	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	0,000	0,00	0,000
2	0,000		
3	0,000		
4	0,000		
		Variância	0,00000

F_{calc} #DIV/0!
 $F_{tab} (95\%)$ 9,277
 n_1 4
 n_2 4
 n_1-1 3
 n_2-1 3
 $S_{agrupado}$ 0,000

Matriz: EFB - Colilert		Controle: Cepa: P. aeruginosa	
Nº Replicatas	Resultado	Média	Desv. Pad.
1	0,000	0,00	0,000
2	0,000		
3	0,000		
4	0,000		
		Variância	0,00000

média variância 0,000
 t_{calc} #DIV/0!
 $t_{tab} (95\%)$ 2,35

A Matriz não tem efeito importante sobre os resultados ($F_{calc} < F_{tab}$) ou se os testes nas matrizes forem iguais aos testes em água estéril
 O Método é seletivo, sendo $t_{calc} < t_{tab}$ ou se os resultados dos testes qualitativos forem satisfatórios.



Aprovador