



Mikrobiyolojide Ölçüm Belirsizliği

Doç. Dr. Hilal B. HALKMAN
Türkiye Atom Enerjisi Kurumu

Türkiye 11. Gıda Kongresi
10-12 Ekim 2012, Antakya/ Hatay

Tanımı

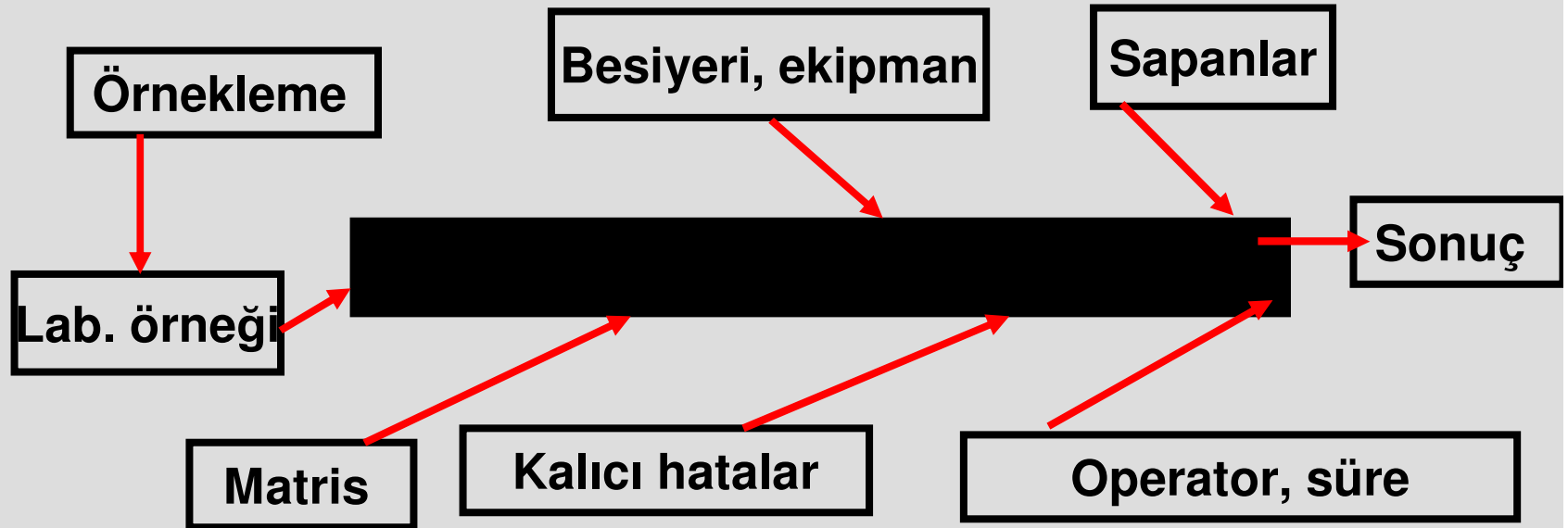
- Çok iyi bilindiği şekli ile hiçbir ölçüm mükemmel değildir.
- Ölçüm belirsizliği, ölçüm sonucu ile beraber yer alan ve ölçülen büyüklüğe makul bir şekilde karşılık gelebilecek değerlerin dağılımını ifade etmektedir.
- Kısa tanımlaması ile belirsizlik, ölçüm sonuçlarının dağılımının ifadesidir ve yok edilemez.

- Mikrobiyolojide uygulanan analizler ölçüm belirsizliğinin hesaplamasının imkânsız olduğu bir kategoridedir.
- ISO 19036 belirsizlik tahminini tekrarlanabilirlik veya yeniden üretilebilirliğin standart sapması temeline dayandırarak hesaplamayı kolaylaştırmış,
- Analize dayandırması ile laboratuvar iş yükünü artırmıştır.

ISO 19036

- ISO 19036 kaynağına bakmaksızın toplam varyasyonu ölçen bir kara kutu yaklaşımını önermektedir.

Kara Kutu Yaklaşımı



Örnekleme

- Örnekleme
- Alt örnekleme
- Laboratuvar örneği

Matris Grupları

- Sıvı ve toz halindeki gıdalar
- İyi karıştırılmış katı gıdalar
- Doğranmış katı gıdalar
- Diğer katı gıdalar

Matris Etkisi

- Metot için belirsizliğin tespiti yeterli değildir.
- Her bir matris için ayrı ayrı belirsizliğin hesaplanması gerekir

Analizi Yapan Bireylerden Gelen Belirsizlik Bileşenleri

- Alt- örnekleme
- Dilüsyon
- İşlem süresi
- Petri kutularına ekim
- Petri kutularının değerlendirilmesi
- Biyokimyasal doğrulama
- Sonuçların yorumlanması
- Sonuçların hesaplanması

Sapanlar

- Dilüsyon teknikleri
- Besiyeri hazırlığı ve kalitesi
- İnkübasyon koşulları
- Sayma teknikleri

Ekipmandan Gelen Belirsizlik Bileşenleri

- Teraziler
- Termometreler
- Seyretiliciler
- Karıştırıcılar
- Termostatlar
- Hacim ölçen ekipmanlar
- Otoklavlar

Diğer Belirsizlik Bileşenleri

- Besiye kalitesi
- Cam aparatların temizliği
- Su kalitesi
- Kullanımdan evvel ve kullanım esnasında besiyerinin saklanması

Belirsizlikteki konseptler

Elde edilen sonuç gerçek değer midir



Standart sapma

S_r Tekrarlanabilirliğin Standart Sapması

- S_r Tekrarlanabilirliğin standart sapması
- Aynı örneğin tekrarlanmış analizinden elde edilmektedir
- Araştırmacı ve ekipmanların istikrarını kontrol etmektedir

Tekrarlanabilirlik

Aynı koşullar altında yapılan analizler arasındaki farklılığın ölçümü;

- Aynı metot
- Aynı örnek
- Aynı kişi
- Aynı ekipman
- Aynı koşullar
- Aynı zamanda

Tekrarlanabilirliğin standart sapması

$$S_r = \sqrt{\frac{\sum [x - x_{\text{ort}}]^2}{n-1}}$$

Operator A

cfu/g
20
26
28
24
27
28
36
22
36
34

Sr =

Log
cfu/g

1,30

1,41

1,45

1,38

1,43

1,45

1,56

1,34

1,56

1,53

0,09

Operator B

cfu/g
48
22
38
40
28
19
26
35
27
10

Sr=

Log
cfu/g

1,68

1,34

1,58

1,60

1,45

1,28

1,41

1,54

1,43

1,00

0,20

Kabul edilebilir S_r ne olmalıdır?

- S_r değeri 0.10-0.15 arasında olmalıdır.
- S_r yalnızca işlemi yapan kişi ve kullanılan ekipman için geçerlidir.
- S_r analizin genel belirsizliğinin ölçümü değildir.

Mikrobiyolojik Analizlerde Belirsizliğin Tahmini

- ISO/TS 19036
- Tekrar üretilebilirlik-standart sapma
- Tekrar üretilebilirlik

S_R Tekrar Üretilebilirliğin Standart Sapması

- S_R Tekrar üretilebilirliğin standart sapması analizin farklı şartlarda tekrarlanması sonucu elde edilir ve laboratuvarın analitik belirsizliğini ölçmeye yarar

Ölçüm Belirsizliği

Bir metot için her tip/grup matrisin tekrar üretilebilirliğinde;

1. Laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik
2. Laboratuvarlararası tekrar üretilebilirlik
3. Yeterlilik testinden elde edilen S_R değeri

Uygulamada Tekrar Üretilebilirlik

- Laboratuvar içi çalışmadan elde edilen S_R değeri
- En az 10 örnek

Tekrar Üretebilirliğin Standart Sapması

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

Tekrar Üretilirlik

- Güven aralığı %95
- Kapsama Faktörü 2

$$U=2u_c(y)=2S_R$$
$$\text{Sonuç} \pm 2S_R$$

Belirsizliğin Rapor Haline Getirilmesi

- $y \pm 2S_R$ (log)
- $y \log [y - 2S_R, y + 2S_R]$
- $x \text{ cfu/g-mL} [10^{y-2S_R} \ 10^{y+2S_R}]$

Örneğin yaptığımız hesaplamada
 $S_R = 0.15 \log \text{ cfu/g}$
 $U = \pm 0.3 \log \text{ cfu/g}$

5.0 log cfu/g'lık sonuç aşağıdaki gibi rapor edilebilir

- $5.0 \log \pm 0.3 \log$
- $5.0 \log [4.7, 5.3]$
- $10^5 \text{ cfu/g} [5 \times 10^4, 2 \times 10^5]$

Yeterlilik Testlerinden Elde Edilen Standart Sapma

- Üçüncü tercih
- Mikroorganizma sayısı belli örneklerin analizi

Belirsizliğin İzlenmesi

- Laboratuvardaki değişiklikler belirsizliği etkileyebilir
- Belirsizlik tahminlerini iyileştirebilir
- Belirsizlik izlenmelidir
- Belirsizlik tahminleri daha fazla veri eklenerek iyileştirilir

İzleme

- Ekipman
- Metodoloji
- Personel

S_R Limitleri

- Seçici olmayan bir agar için S_R limitleri 0.20-0.25 log cfu/g olarak verilmiştir.
- Seçici bir agar'da 0.30 log cfu/g'a kadar kabul edilmektedir

Yüksek Değerler, Ne Yapmamız Gerekli

- Belirsizliği etkileyen faktörler belirlenmeli ve incelenmeli
- Tüm belirsizlik bileşenleri belirlenip sonucu etkileyip etkilemedikleri tartışılmalı

Sonuç

- ISO 19036 gıdalardaki mikrobiyolojik analizlerde belirsizliğin hesaplanması için kolay iş yükü fazla bir yol sunmaktadır.

TEŞEKKÜRLER

hilal.dogan@taek.gov.tr