

Aplicação da ISO 16140-3:2021 no seu laboratório

Introdução

Laboratórios de contrato de microbiologia em alimentos são solicitados a testar diversos alimentos e bebidas. Os laboratórios precisam garantir que os métodos empregados para conduzir testes sejam validados e verificados quanto ao uso dos tipos de amostra específicos testados rotineiramente em laboratórios.

A Organização Internacional de Padronização (ISO) publicou este ano um novo padrão focado em demonstrar a competência do usuário para executar e implementar os métodos usados em laboratórios: ISO 16140-3:2021 Microbiologia da cadeia alimentar — Validação do método — Parte 3: Protocolo da verificação de métodos de referência e de métodos alternativos validados em um único laboratório.¹ A verificação dos métodos empregados rotineiramente em laboratórios é uma exigência em laboratórios credenciados para a ISO/IEC 17025:2017 Requisitos gerais da competência de laboratórios de teste e calibração.²

Este artigo contém uma visão geral de alto nível da ISO 16140-3:2021 sobre a verificação e ele visa orientá-lo com os conceitos-chave no

padrão. Dois métodos da 3M validados são usados como exemplos para aplicar esses conceitos: o 3M™ Ensaio de Detecção Molecular 2 *Salmonella* e a Placa 3M™ Petrifilm™ para Contagem de Enterobactérias. O primeiro é uma visão geral e não visa substituir o uso do padrão ISO para implementar corretamente esse padrão no seu laboratório.

Após analisar este artigo, a 3M recomenda revisar as seguintes fontes adicionais de treinamento disponível para aprofundar a compreensão e a aplicação do padrão:

- Webinar da 3M: [Aplicação da ISO 16140-3:2021 padrão no seu laboratório](#)³
- [Site da ISO TC34/SC9](#)⁴, em “Material de apoio”:
 - [Gravação](#) de um Webinar da ISO de 2 de março de 2020
 - Outros materiais de apoio disponíveis da ISO

Conceitos gerais no padrão

Métodos totalmente validados

O padrão ISO 16140-3:2021 sobre verificação de método pode ser aplicado a métodos “totalmente” validados, ou seja, a validação inclui um estudo comparativo e um estudo interlaboratorial comparado a um método de referência, conforme descrito abaixo:

- **Estudo comparativo** – um método comparado a um método de referência, em geral conduzido em um único laboratório
- **Estudo interlaboratorial** – um método comparado a um método de referência, conduzido entre vários laboratórios

Validação x verificação

Os termos **validação** e **verificação** muitas vezes são usados de forma incorreta indistintamente; por isso, é importante compreender sua distinção e definições. A verificação do método sempre vem após a validação. Primeiro, um método é **validado** – demonstrando que a execução do método equivale ao método de referência, baseado em critérios-chave de método definidos; depois, antes de empregar o método, o laboratório precisa **verificar** se pode usá-lo corretamente para atingir esses critérios-chave do método. Resumindo:

- **Validação** é a prova de que o **método** “funciona”
- **Verificação** é a prova de que **o usuário** pode executar esse método corretamente

Distinção entre escopos

Escopo especifica as diferentes categorias, tipos e itens aos quais um método pode ser aplicado. Há uma distinção entre o escopo de um método, o escopo da validação desse método e o escopo da aplicação desse método pelo laboratório.

O **escopo do método** são os produtos aos quais o método afirma poder ser aplicado. Presume-se que o escopo do método para um método de referência significa que ele é aplicável para uso com todos os produtos. Mas, nem todos os métodos de referência foram validados para uso com todos os produtos.

O **escopo da validação** se refere aos produtos para os quais o método afirma ter sido validado para uso, via um estudo de validação.

O **escopo da aplicação de laboratório** seriam os produtos que estão no escopo da validação do método, e são testados rotineiramente nesse laboratório.

Categorias alimentares e não alimentares

Um método pode afirmar ser válido para uso com todos os alimentos, como fazem muitos métodos de referência, mas não é possível validar um método para TODOS os tipos de alimentos encontrados globalmente, para fazer uma afirmação como essa. Por isso, a AOAC INTERNATIONAL e a ISO concordaram em usar a frase “ampla faixa de alimentos” x “todos os alimentos” em estudos de validação de método. Em apoio a essa terminologia, cada organização definiu em conjunto os grupo geral de todos os alimentos em quinze categorias (de alimentos) (além de três ‘outras’ categorias não alimentares), conforme ilustrado na Figura 1.

Figura 1. Categorias alimentares e não alimentares para validação de método AOAC e ISO

Categorias					
Leite não pasteurizado e laticínios	Leite termoprocessado e laticínios	Carne crua e produtos derivados de carne prontos para cozinhar (exceto aves)	Produtos derivados de carne prontos para consumo, prontos para reaquecimento	Carne crua de aves e produtos de aves prontos para cozinhar	Produtos derivados de carne bovina e aves prontos para consumo, prontos para reaquecimento
Ovos e derivados de ovos	Peixe e frutos do mar crus e prontos para cozinhar (não processados)	Produtos da pesca prontos para consumo, prontos para reaquecimento	Produtos e frutas frescas	Frutas e vegetais processados	Cereais, frutas, nozes, sementes e vegetais secos
Fórmulas e cereais para nutrição infantil	Chocolate, produtos de padaria e confeitaria	Alimentos multicomponentes ou componentes de refeições	Ração animal e alimentação animal	Amostras ambientais (produção de alimentos ou alimentação)	Amostras de produção principal (PPS)

- **Ampla gama de alimentos:** Para afirmar que um método é validado para o escopo que inclui “uma ampla faixa de alimentos”, um número definido de itens (alimentares) deve ser testado em pelo menos cinco dessas 15 categorias (de alimentos).
- **Número limitado de alimentos:** Para afirmar que um método é validado para menos de cinco categorias (de alimentos) (definidos como um “número limitado de alimentos”), apenas as categorias (de alimentos) selecionadas entre as 15 categorias (de alimentos) estão incluídas na validação de método.
- **Outros (não alimentícios):** Para afirmar a validação de uma ou das três categorias não alimentícias, também seria necessário validar itens adicionais de cada uma dessas categorias.
- **Para métodos qualitativos,** este item (alimentício) deve ser um item que foi testado durante o estudo de validação do método; o mesmo tamanho de amostra deve ser usado para esse item, assim como foi usado no estudo de validação
- **Para métodos quantitativos,** ele pode ser qualquer item (alimentício) no escopo da validação do método

2. **Verificação de item (alimentício)** demonstra que o laboratório do usuário pode conduzir o método com os tipos de itens (alimentos) que costumam ser testados no laboratório do usuário. O número de itens a serem testados dependerá do número de categorias em que o laboratório costuma usar esse método.

Como não muitos itens (alimentícios) são testados durante a verificação, o padrão prefere que o usuário escolha alimentos “desafiadores” que são **declarados** na validação do método, mas não foram testados no estudo de validação. Alimentos desafiadores são aqueles que podem ter baixo pH, baixa atividade de água, alto número de partículas etc. – algo que possa ser inibidor (um desafio) ao desempenho do método.

A verificação é conduzida em dois estágios:

1. **A verificação da implementação** é conduzida primeiro para demonstrar que o laboratório do usuário pode conduzir o método corretamente. Isso é realizado usando um item (alimentício).

Conduzir verificação de método - Exemplos

Verificação de um método QUALITATIVO: 3M™ Ensaio de Detecção Molecular 2 *Salmonella*

Etapa 1: Definir o escopo de aplicação do laboratório

Como exemplo, um laboratório que gostaria de conduzir a verificação do 3M Ensaio de Detecção Molecular 2 *Salmonella* para uso no laboratório começaria verificando os itens (alimentos) que são testados de forma rotineira no laboratório para verificar a presença de *Salmonella* e determinar

em quantas categorias (alimentos) esses itens se enquadram, com base nas categorias na Figura 1 acima. Este laboratório (como mostra a Figura 2 a seguir) testa itens (alimentos) que pertencem a uma categoria (alimentos) principal: “carne crua de aves e produtos de aves prontos para cozinhar”, bem como esponjas de teste coletadas do ambiente de manufatura, que pertencem a ‘outras’ categorias (não alimentícias): “Amostras ambientais”.

O laboratório precisará testar itens dessas duas categorias para concluir a verificação desse método para uso no laboratório.

Figura 2. Itens (alimentos) do laboratório do “usuário” – método qualitativo. Itens testados são destacados em laranja claro.

O laboratório do usuário			
Categoria (Alimentos)	Local 1 Cru	Local 2 Congelado	Local 3 Pronto para cozinhar
Carne crua de aves e produtos de aves prontos para cozinhar	Frango moído Peito de frango	Sem osso e sem pele Peitos, coxas, filés	Asas de frango Temperado 1, Temperado 2, Temperado 3
	Carne de peru moída 85% magro, 93% magro	Peito de frango em fatias finas Temperado 1, Temperado 2, Temperado 3	Filés de frango Empanado, Temperado 1, Temperado 2, Temperado 3
	Sem osso e sem pele Peito de frango, filés, coxas, pernas	Partes do peito temperadas Fajita, com ervas e alho, barbecue, limão e pimenta	Nuggets Empanado, Temperado 1, Temperado 2, Temperado 3
	Osso/pele Peito de frango, coxas, drumetes, asas, pernas		Tiras de frango Empanado, Temperado 1, Temperado 2, Temperado 3
Amostras ambientais (produção de alimentos e alimentação)			Esponjas de equipamento (EM) com caldo letheen

Etapa 2: Reveja dados de validação do método e escolha itens (alimentos) para o estudo de verificação

O laboratório precisará confirmar que os alimentos e itens não alimentícios testados com frequência foram totalmente validados por meio de [AOAC® Método de Análise Oficial^{SM5}](#) e/ou um corpo de certificação ([Validação NF por Certificação AFNOR](#) ou [MicroVal](#)) que siga o protocolo definido na ISO 16140-2:2016 Microbiologia da cadeia alimentar - Validação do método - Parte 2: Protocolo para a validação de métodos alternativos (proprietários) em relação ao método de referência.⁶ O laboratório deve determinar os itens que foram incluídos em estudo(s) de validação.

Dados de validação AOAC

Dados de validação AOAC para 3M Ensaio de Detecção Molecular 2 *Salmonella* são acessados em duas partes. Os dados de estudo comparativo se encontram no [AOAC® Performance Tested MethodSM Certificado 091501](#) para o método, disponível no site do AOAC. Esse certificado contém a lista de itens (alimentos) testados no estudo comparativo, além de um resumo dos dados. O [AOAC® Official Method of AnalysisSM 2016.01](#) é concedido após um estudo do método interlaboratorial, e se encontra no site da 3M Food Safety.

Dados de validação ISO 16140-2:2016

3M Ensaio de Detecção Molecular 2 *Salmonella* a validação de acordo com o protocolo ISO 16140-2:2016 foi conduzida via NF VALIDATION pela Certificação AFNOR. O [certificado AFNOR 3M 01/16-11/16](#) e o [relatório de estudo de validação](#) resumido se encontram no site da Certificação AFNOR.

Item (alimento) para verificação de implementação

– o laboratório precisará selecionar o item (alimento) testado durante o estudo de validação que também pertence ao escopo de aplicação laboratorial do laboratório do usuário. Para verificação deste método, o laboratório escolheu peito de frango cru moído.

Itens (alimentos) para verificação de item (alimento)

– apenas uma categoria (alimento) é testada na aplicação laboratorial; então, o laboratório só precisa escolher um item (alimento) para o estudo de verificação de item (alimento), e também testar esponjas ambientais com caldo Lethen para verificar “outra” categoria não alimentícia na aplicação laboratorial. Entretanto, como existem diferentes tipos de itens (alimentos) em uma categoria (alimento) de “Carne crua de aves e produtos de aves prontos para cozinhar” que podem apresentar desafios para recuperação de nível baixo de *Salmonella*, o laboratório pode optar por incluir testes de itens (alimentos) adicionais no estudo de verificação de item (alimento), como os itens (alimentos) destacados na Figura 2 acima.

Etapa 3: Verificação de implementação usando eLOD₅₀ (Exemplo: Protocolo 1)

Para métodos qualitativos, o LOD₅₀ estimado é determinado para *ambas* a implementação e a verificação de item (alimento). LOD₅₀ estimado (eLOD₅₀) é uma definição exclusiva da ISO 16140-3:2021. O termo LOD, nível de detecção, é usado para métodos qualitativos em microbiologia baseada em análises de *réplicas* em três níveis de inoculação diferentes do analito de destino em uma matriz. O estudo realizado para verificação é denominado eLOD₅₀ porque, embora o estudo avalie réplicas em diferentes níveis de inoculação, o estudo não testará amostras suficientes para atender aos requisitos para determinação de um LOD₅₀ real, conforme utilizado para validação do método.

O padrão fornece três opções de protocolos para determinar o eLOD₅₀. Para cada protocolo, as porções de teste são preparadas e inoculadas. Os protocolos um e dois exigem o uso de uma cultura que cresceu em laboratório para inoculação de porções de teste em três níveis: níveis alto, intermediário e baixo. O protocolo três permite o uso de material de referência padronizado, inoculando com concentração conhecida do microorganismo de destino, e exige a inoculação de réplicas apenas em nível baixo de inoculação.

Como exemplo, se o laboratório optar por seguir o protocolo um, it would first review primeiro ele analisará o estudo de validação para ver qual era o LOD₅₀ de peito de frango cru moído e determinar como iniciar a inoculação de itens (alimentos). Uma cultura de *Salmonella* cresce durante a noite, diluída serialmente e plaqueada para determinar a concentração do inóculo antes do preparo para diluir nas concentrações de inoculação exigidas para cada nível (de acordo com o padrão).

O padrão estipula que a meta é a inoculação de 9x o LOD₅₀ no estudo de validação para o nível alto de inoculação, 3x o LOD₅₀ para o nível intermediário de inoculação e 1x o LOD₅₀ para o nível baixo de inoculação. Se o estudo de validação não contiver um LOD₅₀, o padrão indicará que devemos presumir um LOD₅₀ de 1 para o nível baixo de inoculação, para ajudar a determinar os três níveis de inoculação.

Após a inoculação, as porções de teste devem ser analisadas de acordo com as instruções para o método a ser verificado, no caso, o 3M Ensaio de Detecção Molecular 2 *Salmonella*. O laboratório deve registrar o número de resultados positivos em cada nível de inoculação e usa as tabelas de número mais provável (MPN) fornecidas com o padrão para determinar multiplicador a ser usado para o nível baixo de inoculação para determinar o eLOD₅₀ e avaliar se ele atende aos Limites de Aceitabilidade, conforme definido no padrão.

Como não havia LOD₅₀ listado no relatório de validação do 3M Ensaio de Detecção Molecular 2 *Salmonella*, o laboratório presumia um LOD₅₀ de 1, de acordo com o padrão. Para determinar se as porções de teste atendem ao Limite de Aceitabilidade para verificação de métodos qualitativos, o laboratório deve procurar na tabela no padrão (Tabela 16: Os limites de aceitabilidade para a verificação de métodos validados) que determina que o eLOD₅₀ deve ser $\leq 4x$ LOD₅₀.

A ISO forneceu um programa baseado em Excel® (manual) disponível no site da ISO TC34/SC9 para fazer cálculos e determinações e saber se os resultados atendem aos Limites de Aceitabilidade.

Etapa 4: Verificação de item (alimento) usando eLOD₅₀ (Exemplo: Protocolo 1)

Como o LOD₅₀ estimado é usado para *ambas* a implementação e a verificação de item (alimento), esse mesmo protocolo é repetido para cada item (alimento) necessário para concluir a verificação de itens (alimentos). Neste laboratório, seriam necessários um item (alimento) e um 'outro' item não alimentício para concluir a verificação de cada categoria que o laboratório alega testar no Escopo da Aplicação.

Verificação de um Método Quantitativo: Placa 3M™ Petrifilm™ para Contagem de Enterobactérias

Etapa 1: Definir o escopo de aplicação do laboratório

Neste exemplo, uma fábrica que faz produtos com sorvete, fórmulas infantis, pizzas congeladas e macarrão refrigerado pronto para cozinhar, coleta amostras ambientais como parte do programa de monitoramento ambiental. A classificação desses itens nas 15 categorias de alimentos + três “outras” categorias usando a Figura 1 acima ajuda a determinar esses itens (alimentos) de testes de laboratório de três categorias (alimentos) diferentes: “Leite termoprocessado e laticínios”, “Fórmulas e cereais para nutrição infantil”, “Alimentos multicomponentes ou componentes de refeições”, e uma categoria não alimentícia, “Amostras ambientais.”

O laboratório nesta fábrica precisará testar itens das quatro categorias para concluir a verificação desse método para uso.

Etapa 2: Rever dados de validação do método e escolher itens (alimentos) para o estudo de verificação

O laboratório primeiro precisará confirmar que os alimentos e itens não alimentícios testados com frequência foram totalmente validados por meio de [AOAC® Official Method of AnalysisSM](#) e/ou um corpo de certificação ([Validação NF por Certificação AFNOR](#) ou [MicroVal](#)) que siga o protocolo definido na ISO 16140-2:2016.

Dados de validação AOAC

O [AOAC® Official Method of AnalysisSM 2003.01](#) para a Placa 3M Petrifilm para

Contagem de Enterobactérias se encontra no site do AOAC. (Este método não tem dados Performance Tested Method (PTM) porque ele foi totalmente validado antes da criação do programa AOAC PTM).

Dados de validação ISO 16140-2:2016

A Placa 3M Petrifilm para Contagem de Enterobactérias de acordo com o protocolo ISO 16140-2:2016 foi validada via NF VALIDATION pela Certificação AFNOR. O [Certificado AFNOR 3M 01/06-09/97](#) e o [relatório de estudo de validação](#) resumido se encontram no site da Certificação AFNOR.

Item alimentício para verificação de implementação

– o laboratório selecionará o item (alimento) no escopo da validação de método que também pertence ao escopo da aplicação do laboratório. Para verificação deste método, o laboratório escolherá sorvete de baunilha porque é fácil homogeneizá-lo dividindo em porções de teste.

Itens alimentícios para verificação de item (alimento)

– o laboratório selecionará um item (alimento) desafiador de cada uma das três categorias (alimentos) identificadas, além de uma categoria de item não alimentício para concluir a verificação desse método. Neste exemplo, o laboratório escolherá sorvete de baunilha com pedaços de chocolate e amêndoas, leite em pó desidratado e tortellini de espinafre com queijo pronto para cozinhar, para verificar cada uma das três categorias (alimentos) declaradas como validadas para o método, e swabs com caldo Letheen para verificação da categoria não alimentícia.

Itens (alimentos) escolhidos para a implementação e a verificação (de alimentos) são destacados na Figura 3 abaixo.

Figura 3. Itens (alimentos) do laboratório do “usuário” – método quantitativo. Itens testados são destacados nas caixas laranja claro.

O laboratório do usuário				
Categorias (Alimentos)				
Laticínios termoprocessados	Fórmula infantil	Alimentos multicomponentes/ componentes de refeições		Amostras ambientais
Sorvete de baunilha	Cereal infantil com trigo, aveia, açúcar, arroz	Pizza de queijo congelada	Macarrão pronto para cozinhar	Esponjas com caldo Letheen
Sorvete de creme com rasas de chocolate	Leite em pó desidratado	Pizza suprema congelada	Tortellini de espinafre com queijo pronto para cozinhar	Swabs com caldo Letheen
Sorvete de baunilha com pedaços de chocolate e amêndoas	Fórmula infantil de laticínios com soro de leite	Salsicha e pizza de anchova congeladas	Tortellini de queijo pronto para cozinhar	

Etapa 3: Verificação de implementação - Desvio padrão de reprodutibilidade interlaboratorial (S_{IR})

A verificação de implementação para métodos quantitativos é obtida ao determinar o desvio padrão de reprodutibilidade intralaboratorial, expresso como S_{IR} (Intra significa dentro de um laboratório x Inter – significa entre vários laboratórios, como é conduzido durante a validação do método).

Neste estudo, o laboratório escolherá o item (alimento) no escopo da validação de método que também pertence ao escopo da aplicação do laboratório. O laboratório primeiro precisará coletar um mínimo de dez diferentes tipos de amostras de sorvete de baunilha para fornecer uma variedade de sorvetes de baunilha, como esperaria encontrar rotineiramente no laboratório. As amostras podem ser sorvetes de baunilha de diferentes lotes, fabricantes, dias de produção etc. Pode-se coletar mais de dez amostras para garantir um número suficiente de amostras/variedade.

Uma cultura de *Enterobactérias* cresce durante a noite e, depois, diluições seriadas são feitas e plaqueadas para determinar níveis de inoculação. Cada uma das amostras de sorvete de baunilha é totalmente homogeneizada e dividida em duas porções de teste: A e B. Cada conjunto de porções de testes é inoculado com um intervalo de contaminação, como costuma ser encontrado nas

amostras analisadas rotineiramente no laboratório (entre 30 cfu/g – 30.000 cfu/g). Como este estudo está sendo conduzido em um laboratório, o laboratório precisa diferenciar ao máximo a análise das porções A e B do teste: usando técnicos, incubadoras, lotes de meios de cultura diferentes (preparos diferentes do mesmo lote do pó do meio) etc.

Cada porção do teste de amostra é analisada por meio do método Placa 3M Petrifilm para Contagem de Enterobactérias. Resultados são registrados e usados para calcular o desvio padrão de reprodutibilidade intralaboratorial S_{IR} usando a fórmula fornecida no padrão ou usando o programa (manual) baseado em Excel® disponível no site da ISO TC34/SC9.

No relatório de estudo de validação para o método Placa 3M Petrifilm para Contagem de Enterobactérias, o laboratório localizará o menor valor médio de desvio padrão de reprodutibilidade interlaboratorial (S_R) dos itens (alimentos) usados no estudo de validação e comparará isso ao S_{IR} calculado obtido. Na Figura 4 abaixo, o menor valor médio de S_R no estudo de validação para este método foi considerado 0,125 (0,126 + 0,122 + 0,126 = 0,125).

O S_{IR} deve ser ≤ 2 x o menor S_R para atender aos Limites de Aceitabilidade de verificação de implementação.

Figura 4. Perfil de relatório AFNOR de método alternativo da Placa 3M Petrifilm para Contagem de Enterobactérias

Método alternativo			
Níveis	Baixo	Médio	Alto
Valor alvo	2,274	3,238	4,191
Número de participantes (K)	14	14	14
Média do método alternativo	2,224	3,244	4,223
Desvio padrão de repetibilidade (sr)	0,122	0,110	0,104
Desvio padrão entre laboratórios (sL)	0,031	0,052	0,071
Desvio padrão de reprodutibilidade (sR)	0,126	0,122	0,126

Etapa 4: Verificação de item (alimento) usando eBias

A verificação de item (alimento) para métodos quantitativos é obtida ao determinar a propensão estimada (eBias), que é outra definição exclusiva da ISO 16140-3:2021. Uma determinação precisa da propensão (como ocorre em estudos de validação) não é possível porque poucas amostras serão testadas no estudo de verificação. Então, o termo **eBias** é usado no estudo de verificação.

Para conduzir a verificação de item (alimento), o laboratório usará os três itens (alimentos) desafiadores e um item não alimentício (swabs com caldo Lethen) escolhidos na análise de categorias no escopo da aplicação do laboratório.

Cada item (alimento) será contaminado artificialmente em três níveis de inoculação que abrangem o intervalo de uso do método, conforme utilizado rotineiramente pelo laboratório (por exemplo: 30-300, 300-3.000 e 3.000-30.000 cfu/g). Cada um desses três níveis será executado na *duplicata*.

Uma cultura de *Enterobactérias* cresce durante a noite e, depois, diluições seriadas são feitas e plaqueadas para determinar os níveis de inoculação corretos. Ao diluir a suspensão de inoculação em preparo para a inoculação em duplicatas de itens (alimentos), considere diluições adicionais que serão necessárias para atingir contagens no intervalo contável do método para cada um dos três níveis. Conforme ilustrado na Figura 5 abaixo, o inóculo

exige mais diluição para atingir os níveis corretos de diluição/contagem para os níveis alto, intermediário e baixo; o inóculo, quando misturado ao volume do item (alimento), exige menos diluição.

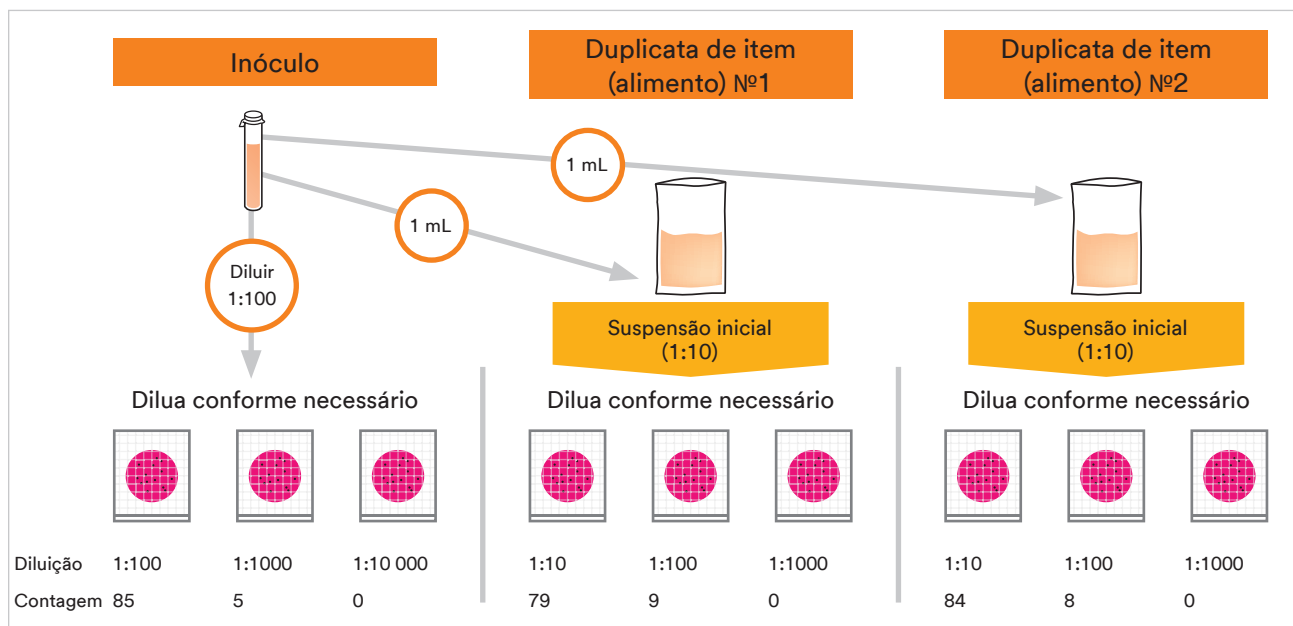
Para calcular o eBias, a enumeração é conduzida e registrada para:

- O **inóculo** nos três níveis
- O **item (alimento) com** inóculo nos três níveis
- O **item (alimento) sem** inóculo na duplicata (como um controle negativo) para determinar o nível de microbiota de fundo (caso exista) no item (alimento).

Para cada um dos três níveis, as contagens de duplicatas do item (alimento) são classificadas e uma transformação de \log_{10} é realizada para determinar o \log_{10} cfu/g para cada nível. Esses resultados são expressos no \log_{10} cfu/**porção de teste** para cada nível e comparados à transformação de log na contagem desse *mesmo* nível de inóculo determinado para cada nível *sem* o item (alimento). O eBias é a diferença absoluta em resultados entre o item (alimento) inoculado e o inóculo.

Para atender aos Limites de Aceitabilidade para eBias de acordo com o padrão, a diferença absoluta de cada nível deve ser $\log \leq 0,5_{10}/\text{ml}$. O programa (manual) baseado em Excel[®] está disponível no site da ISO TC34/SC9 para você inserir seus dados e ajudar a preencher todos os cálculos para determinar se você atende aos Limites de Aceitabilidade.

Figura 5. Protocolo de verificação quantitativa de item (alimento) com 3 níveis de inóculo



Ajuda adicional:

Para obter ajuda para aplicar o novo padrão ao seu laboratório, entre em contato com a 3M e acesse o material de apoio disponível no [site da ISO TC34/SC9](#).

Conecte-se ao especialista em soluções 3M para saber mais sobre o suporte a laboratórios contratados

Saiba mais sobre soluções 3M para laboratórios contratados

Referências

1. International Organization for Standardization. 2021. ISO 16140-3:2021. Microbiologia da cadeia alimentar — Validação do método — Parte 3: Protocolo para a verificação de métodos de referência e métodos alternativos validados em um único laboratório [ISO - normas](#)
2. International Organization for Standardization. 2017. ISO/IEC 17025:2017. Requisitos gerais para a competência de laboratórios de testes e calibração [ISO - normas](#)
3. Webinar da 3M Food Safety. 2021. Aplicação da ISO 16140-3:2021 padrão no seu laboratório
4. Site da ISO TC34/SC9 (acessado em 24 de junho de 2021): [Site da ISO TC34/SC9 em 'Material de apoio'](#)
5. AOAC INTERNATIONAL. 2012. Apêndice J: Diretrizes do Comitê de Métodos do AOAC INTERNATIONAL para validação de métodos microbiológicos para superfícies alimentares e ambientais
6. International Organization for Standardization. 2016. ISO 16140-2:2016. Microbiologia da cadeia alimentar - Validação do método - Parte 2: Protocolo para a validação de métodos alternativos (proprietários) em relação a um método de referência [ISO - normas](#)
7. Site da ISO TC34/SC9 (acessado em 24 de junho de 2021): Programa (manual) baseado em Excel® no site da [ISO TC34/SC9 em 'Material de apoio'](#)

Este relatório é destinado a fornecer somente orientação geral. As informações técnicas, recomendações e outras declarações contidas neste documento são baseadas na experiência e nas informações que a 3M acredita serem confiáveis, mas a precisão ou integridade de tais informações não é garantida. Essas informações destinam-se a pessoas com conhecimento e habilidades técnicas suficientes para avaliar e aplicar seu próprio julgamento alinhado às informações, levando em consideração a natureza de seus negócios, as políticas existentes e as leis e regulamentos específicos que possam ser aplicáveis.



3M Food Safety
3M Center, Building 275-5W-05
St. Paul, MN 55144-1000 EUA
Telefone 1-800-328-6553
Site 3M.com/foodsafety

3M, Petrifilm e MDS são marcas comerciais da 3M.
Usadas sob licença no Canadá. © 3M 2021. Todos os direitos reservados.
Recicle. Impresso no Brasil
70-2011-5266-0