



Coordenação Geral de Acreditação

ORIENTAÇÕES PARA UTILIZAÇÃO DE MATERIAIS DE REFERÊNCIA EM ENSAIOS BIOLÓGICOS

Documento de caráter orientativo

DOQ-CGCRE-078

Revisão 03 – ABR/2020



SUMÁRIO

- 1 Objetivo
- 2 Campo de Aplicação
- 3 Responsabilidade
- 4 Histórico das revisões
- 5 Documentos Complementares
- 6 Siglas
- 7 Introdução
- 8 Aplicação do uso de Material de Referência Certificado ou Material de Referência
- 9 Documentação do Material de Referência
- 10 Agradecimentos

1 OBJETIVO

Este documento foi desenvolvido com o objetivo de fornecer aos laboratórios acreditados e postulantes à acreditação orientações básicas sobre utilização de materiais de referência (MR) e materiais de referência certificados (MRC) em ensaios biológicos.

2 CAMPO DE APLICAÇÃO

Este documento aplica-se à Dicla, aos laboratórios de ensaios biológicos acreditados e postulantes à acreditação e aos avaliadores e especialistas da Coordenação Geral de Acreditação (Cgcre).

3 RESPONSABILIDADE

A responsabilidade pela aprovação da revisão deste documento é da Dicla.

4 HISTÓRICO DAS REVISÕES

Revisão	Data	Itens revisados
2	MAI/2017	- Exclusão do quadro de aprovação. - Corrigido o item 7.1, atual 8.1, pois o item "Histórico das Revisões" passou a ficar no item 4.
3	ABR/2020	- Substituída referência ao ABNT ISO Guia 34 pela ABNT NBR ISO 17034.

5 DOCUMENTOS COMPLEMENTARES

Para referência, aplicam-se as últimas edições dos seguintes documentos:

ABNT NBR ISO 17034	Requisitos gerais para a competência de produtores de material de referência
DOQ-Cgcre-016	Orientação para seleção e uso de materiais de referência.
DOQ-Cgcre-033	Orientações sobre análise crítica da documentação associada aos materiais de referência adquiridos
ISO Guide 30	Reference materials -- Selected terms and definitions

(continua)



ISO Guide 33	Reference Materials — Good practice in using reference materials.
NIT-Dicla-30	Rastreabilidade metrológica na acreditação de organismos de avaliação da conformidade e no reconhecimento da conformidade aos princípios das BPL.
Tech Bulletin Nº 1	Useful terms for ATCC microbiology. 2010
Tech Bulletin Nº 6	Reference strains: How many passages are too many. 2011.
VIM 2012	Vocabulário Internacional de Metrologia: conceitos fundamentais e gerais e termos associados. 1a Edição Luso-Brasileira.

6 SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
ATCC	American Type Culture Collection
Cgcre	Coordenação Geral de Acreditação
CT	Comissão Técnica
Dicla	Divisão de Acreditação de Laboratórios
DOQ	Documento Orientativo
ISO	International Organization for Standardization (Organização Internacional para Normalização)
MR	Material de Referência
MRC	Material de Referência Certificado
NBR	Norma Brasileira
NIT	Norma Inmetro Técnica
SI	Sistema Internacional de Unidades
VIM	Vocabulário Internacional de Metrologia

7 INTRODUÇÃO

Os laboratórios acreditados devem assegurar de forma inequívoca a rastreabilidade de todas as atividades envolvidas, conforme a NIT-Dicla-030.

Os materiais de referência certificados (MRC) ou materiais de referência (MR) desempenham importante papel na obtenção de resultados de medições rastreáveis ao Sistema Internacional de Unidades (SI), por meio de uma cadeia contínua de comparações. Segundo o VIM, e de forma similar ao ISO Guide 30, material de referência certificado (MRC) é definido como “um material de referência acompanhado de uma documentação emitida por uma entidade reconhecida, que fornece um ou mais valores de propriedades especificadas com as incertezas e as rastreabilidades associadas, utilizando procedimentos válidos”. Ainda segundo o VIM, a documentação mencionada é emitida sob a forma de um certificado.

Material de referência (MR), conforme definição no VIM, é aquele material, suficientemente homogêneo e estável em relação a propriedades específicas, preparado para se adequar a uma utilização pretendida numa medição ou num exame de propriedades qualitativas. A definição no VIM traz ainda uma nota que esclarece que o exame de uma propriedade qualitativa de um material fornece um valor a essa propriedade e uma incerteza associada, porém, essa incerteza não é uma incerteza de medição.

A diferença entre ambos é que, enquanto um material de referência (MR) é compreendido como aquele que dá suporte a grandezas e a propriedades qualitativas e pode ser adequado para ser utilizado no controle da precisão de medição, na avaliação de um método de medição, um MRC pode ser utilizado como padrão numa calibração ou controle da veracidade de medição. Para mais detalhes, deve-se consultar os documentos ISO Guide 33 e o VIM.



O material de referência certificado deve ser fornecido por um produtor acreditado, segundo a norma ABNT NBR ISO 17034, sempre que disponível. Por outro lado, o material de referência (não certificado) atende apenas a alguns itens dessa norma (para mais informações, vide DOQ-Cgcre-033).

8 APLICAÇÃO DO USO DE MATERIAL DE REFERÊNCIA CERTIFICADO OU MATERIAL DE REFERÊNCIA

8.1 Ensaios Microbiológicos

Em microbiologia, o “material de referência” são os micro-organismos e são definidos como “culturas de referência”. Cultura de referência é definida, conforme Tech Bulletin, como cultura derivada diretamente de cultura de referência certificada obtida a partir de uma coleção de cultura, por exemplo, ATCC.

Normalmente, a principal informação associada ao valor atribuído em um material de referência é a incerteza expandida. Entretanto, em materiais de referência biológicos, nem todos os dados sobre incerteza expandida associada estão disponíveis, tornando-se necessário considerar outros critérios (faixa de concentração, compatibilidade com a matriz, procedimentos de atribuição de valores utilizados, entre outros), a fim de determinar a adequação do MR/MRC para o uso pretendido. Mas caso o laboratório tenha adquirido MRC, pode repicá-lo e usá-lo como culturas de trabalho na rotina da garantia da qualidade dos ensaios, respeitando as informações descritas no certificado que acompanha tal MRC.

O MRC deve ser adquirido de produtores acreditados no ABNT ISO Guia 34 e pode ser utilizado até a quinta passagem, sendo considerado ainda como MRC, caso tal informação esteja declarada no certificado emitido pelo produtor do MRC, até a data de validade definida também no certificado emitido pelo produtor.

A partir do momento que o MRC estiver com a data de validade expirada, ele pode ser utilizado como MR até a quinta passagem de origem, caso tal informação esteja declarada no certificado emitido pelo produtor do MRC, desde que atenda ao item 8.3.3.2 do documento NIT-Dicla-030.

Para evidenciar a autenticidade do MRC/MR, deve ser realizado o acompanhamento com base nos procedimentos específicos para cada ensaio/cepa, considerando as características morfológicas, bioquímicas e/ou sorológicas.

O documento DOQ-Cgcre-016 e o ISO Guide 33 fornecem informações de usos gerais dos materiais de referência. É imprescindível, portanto, que os usuários estejam atentos a atualizações, aplicabilidade e disponibilidade dos materiais de referência.

Os laboratórios devem utilizar materiais de referência produzidos por organizações/entidades reconhecidas nacional e internacionalmente (informações de bancos de dados para identificação de fornecedor são dadas no documento DOQ-Cgcre-016 – Anexo).

Para a realização das validações e verificação de desempenho em ensaios microbiológicos, devem ser utilizados obrigatoriamente materiais de referência certificados, sempre que disponíveis.

Na ausência de materiais de referência certificados, o laboratório deve adquirir materiais de referência de produtores que disponibilizem informações relevantes sobre rastreabilidade metrológica (VIM). Para demonstrar a rastreabilidade, os laboratórios devem usar cepas de micro-organismo de referência obtidas diretamente de uma coleção nacional ou internacional reconhecida, quando esta existir. Como alternativa, podem ser usadas culturas comerciais que o laboratório tenha comprovado ter propriedades equivalentes.



Caso os materiais de referência, certificados ou não, não estejam disponíveis (como exemplo, *Clostridium botulinum*), mas seu uso seja requerido, o laboratório pode preparar "in house" ou buscar alternativas confiáveis para sua obtenção. É imprescindível que esse material seja avaliado quanto ao uso pretendido e que todos os registros de sua caracterização sejam mantidos.

8.2 Ensaios de Identificação Macroscópica e Microscópica

Com relação à determinação macroscópica e microscópica, como exemplo, fragmentos de insetos, sujidades leves entre outros, atualmente não se encontra disponível material de referência certificado, cabendo ao laboratório elaborar seu próprio material de referência por meio de banco de dados, desenhos, amostras e/ou coleção fotográfica com base na literatura técnico-científica.

8.3 Ensaios hidrobiológicos

Para os ensaios que envolvem variáveis hidrobiológicas como fitoplâncton, cianobactérias, zooplâncton, macrófitas, macroinvertebrados e invertebrados bentônicos, entre outros, atualmente não se encontra disponível material de referência certificado, cabendo ao laboratório o uso da bibliografia e chaves taxonômicas específicas. É importante que estas referências sejam atualizadas, principalmente pelo fato das constantes revisões nesta área. O laboratório poderá dispor de coleção de organismos de ocorrência regional em forma de museu/herbário e/ou de acervos fotográficos e, quando necessário, analisados por especialista.

8.4 Ensaios toxicológicos e ecotoxicológicos

Nos ensaios toxicológicos e ecotoxicológicos, os materiais de referência são químicos e não biológicos, uma vez que os organismos são utilizados como indicadores de efeito ou exposição, e estes compostos servem para verificar se o bioindicador se comporta dentro do estabelecido/esperado. Nenhum composto químico de referência pode, no entanto, simular a toxicidade de compostos desconhecidos dentro de misturas complexas, que caracterizam as matrizes ambientais. Desta forma, não há necessidade da utilização de materiais de referência certificados, mas deve-se demonstrar que os organismos-teste apresentem resposta adequada à exposição a compostos químicos conhecidos. Outras características fenotípicas/genotípicas dos organismos devem ser avaliadas, caso sejam de importância para a sua resposta durante o ensaio.

Para casos específicos, onde o uso do material de referência químico não é aplicável, como exemplo, irritação cutânea/ocular, seguir as recomendações do método analítico e/ou norma de referência.

9 DOCUMENTAÇÃO DO MATERIAL DE REFERÊNCIA

É primordial que seja realizada uma avaliação criteriosa dos documentos que acompanham o Material de Referência Certificado ou Material de Referência, podendo ser utilizado como referência o documento DOQ-Cgcre-033 e esta avaliação deve ser registrada e mantida pelo laboratório.

10 AGRADECIMENTOS

Aos membros da Dicla e a todos aqueles da CT 06 que assessoraram a Cgcre na elaboração do documento.
