

**Universidade do Minho**  
Escola de Engenharia

Ana Rita Teixeira Alves

**Metodologia para a acreditação da amostragem  
de águas de consumo e de métodos de ensaio  
de microbiologia**

Dissertação de Mestrado

Mestrado em Tecnologia e Ciência Alimentar

Trabalho efetuado sob a orientação de

Professor Doutor Engenheiro António Augusto Martins de  
Oliveira Soares Vicente

Doutora Engenheira Inês Alexandra Casaca Lage de Castro

Novembro de 2018

## DECLARAÇÃO

Nome: Ana Rita Teixeira Alves

Endereço eletrónico: ana-489@hotmail.com      Telefone: 914071864

Bilhete de Identidade/Cartão do Cidadão: 14821059

Título da dissertação: Metodologia para a acreditação da amostragem de águas de consumo e de métodos de ensaio de microbiologia

Orientador/a/es:

Professor Doutor Engenheiro António Augusto Martins de Oliveira Soares Vicente

Doutora Engenheira Inês Alexandra Casaca Lage de Castro

Ano de conclusão: 2018

Mestrado em Tecnologia e Ciência Alimentar

DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Universidade do Minho, 19/11/2018

Assinatura: Ana Rita Alves

## RESUMO

A acreditação de atividades de ensaio, segundo a norma ISO/IEC 17025, permite o reconhecimento formal perante o mercado da competência técnica e garantia de um serviço fidedigno, eficiente e objetivo. Implica a implementação de um sistema de gestão da qualidade (SGQ) apropriado ao contexto do laboratório e com a capacidade de atestar a produção de resultados tecnicamente válidos. O recurso à concessão da acreditação surge do aumento da concorrência, crescente exigência dos clientes e dos critérios legais que regulam a vigilância sanitária da água destinada ao consumo humano e dos produtos alimentares.

A presente dissertação teve como objetivo o processo de preparação do Laboratório CPC para candidatura ao IPAC para acreditação de colheita de águas de consumo e ensaios de microbiologia em produtos alimentares e em águas de consumo. Pretendeu-se tratar de parâmetros específicos para o correto desempenho do SGQ e cumprimento dos requisitos da norma portuguesa ISO/IEC 17025:2005. Neste sentido, foi feita a análise da regulamentação e guias associados a cada temática e revisão, atualização e elaboração de procedimentos, planos e documentos que agilizam a atuação do trabalho de rotina, melhoram o SGQ e evidenciam a competência e conformidade com os requisitos da norma.

O Laboratório CPC deverá, face às novas informações veiculadas pelo IPAC relativas à transição para a norma ISO/IEC 17025:2017, preparar um plano de ações para concretizar o cumprimento dos requisitos da nova norma e submissão posterior à acreditação.

Palavras-Chave: Acreditação; ISO/IEC 17025; Laboratório de ensaios; Qualidade



## **ABSTRACT**

Testing activities' accreditation, according to ISO/IEC 17025, allows a formal recognition towards the market of technical competence and guarantee of a reliable, efficient and objective service. It requires a quality management system (QMS) implementation appropriate to the laboratory scope and with the ability to attest the production of technically valid results. Recourse to accreditation is a result of growing competition, increased customer requirements and due to legal criteria governing sanitary surveillance of drinking water and food.

The present dissertation had as its objective the preparation process of Laboratório CPC to application to IPAC for drinking water sampling and food and drinking water microbiology tests accreditation. It was intended to address specific parameters for the QMS correct performance and compliance with the requirements of portuguese standard ISO/IEC 17025:2005. Therefore, it was made the analysis of the regulations and guides associated with each theme and review, update and create procedures, plans and documents that streamline routine work, improve the QMS and demonstrate competence and agreement with the standard requirements.

In light to the new information linked by IPAC regarding the transition to ISO/IEC 17025:2017, the Laboratório CPC should prepare an action plan to fulfill the requirements in the new standard and afterwards made the submission to accreditation.

Keywords: Accreditation; ISO/IEC 17025; Testing Laboratory, Quality



## ÍNDICE

Resumo.....	iii
Abstract.....	v
Lista de Figuras.....	ix
Lista de Tabelas.....	xi
Lista de Abreviaturas, Siglas e Acrónimos.....	XIII
Capítulo 1. Organização da dissertação e enquadramento.....	1
1.1. Estrutura da dissertação.....	1
1.2. Apresentação da empresa.....	1
1.3. Enquadramento do Tema.....	2
Capítulo 2. Qualidade e acreditação de atividades de avaliação da conformidade.....	5
2.1. Qualidade em Portugal.....	5
2.2. Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ).....	6
2.3. Acreditação.....	7
2.4. Norma ISO/IEC 17025.....	11
2.4.1. Requisitos de Gestão.....	13
2.4.2. Requisitos Técnicos da Norma.....	19
2.5. Laboratório de análise microbiológica a águas e alimentos.....	27
Capítulo 3. Caso de estudo: Acreditação de amostragem e métodos de ensaio.....	29
3.1. Atualização dos documentos normativos.....	30
3.2. Amostragem de águas de consumos.....	32
3.2.1. Identificação e análise dos requisitos para acreditação da amostragem de águas de consumo.....	32
3.3. Revisão dos procedimentos laboratoriais dos métodos de ensaio de microbiologia.....	36
3.3.1. Contagem de colónias a 30 °C.....	37
3.3.2. Pesquisa de <i>Salmonella spp.</i> .....	38
3.3.3. Contagem de <i>Escherichia coli</i> .....	40

3.3.4.	Contagem de microrganismos a 22 °C e a 36 °C .....	41
3.3.5.	Contagem de <i>Escherichia coli</i> e de coliformes .....	42
3.3.6.	Estado das alterações propostas .....	44
3.4.	Implementação e validação de métodos de ensaio .....	44
3.5.	Estimativa da incerteza da medição.....	48
3.5.1.	Análise dos documentos normativos associados à estimativa da incerteza .....	49
3.5.2.	Constatações e alterações efetuadas.....	53
3.5.3.	Estimativa da incerteza de medição referente ao ano de 2017 .....	55
3.6.	Controlo da Qualidade .....	58
3.6.1.	Controlo Interno da Qualidade .....	59
3.6.2.	Controlo Externo da Qualidade.....	64
3.7.	Equipamentos.....	71
3.7.1.	Verificação da codificação dos equipamentos .....	73
3.7.2.	Revisão do plano de calibração, verificação e manutenção dos equipamentos .....	74
3.8.	Processo de transição para a norma ISO/IEC 17025:2017 .....	82
Capítulo 4.	Conclusão.....	85
Bibliografia	.....	87
Anexo I.	Levantamento de Documentos Desatualizados na Base de Dados .....	93
Anexo II.	Requisitos para amostragem .....	95
Anexo III.	Controlo da Qualidade Laboratorial .....	101
Anexo IV.	Guia para a Calibração, Verificação e Manutenção de Equipamentos.....	107
Anexo V.	Dados da Verificação de Micropipetas .....	119
Anexo VI.	Correlação entre as Normas ISO/IEC 17025:2005 e ISO/IEC 17025:2017 .....	123

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Hierarquia da estrutura documental do SGQ com base na norma ISO/TR 10013:2001 e o Guia IPAC OGC001 de 2010 (adaptado de Alves, 2014). .....	14
<b>Figura 2.</b> Cadeia de rastreabilidade metrológica (adaptado de Barradas, 2012). .....	24
<b>Figura 3.</b> Fluxograma do procedimento para a contagem a 30 °C de microrganismos em produtos alimentares. ....	38
<b>Figura 4.</b> Fluxograma do procedimento para a pesquisa de Salmonella spp. ....	39
<b>Figura 5.</b> Fluxograma do procedimento para a contagem de Escherichia coli em produtos alimentares. ....	41
<b>Figura 6.</b> Fluxograma do procedimento para a contagem de microrganismos a 22 °C e 36 °C em águas. ....	42
<b>Figura 7.</b> Fluxograma do procedimento para a contagem de Escherichia coli e coliformes em águas..	43
<b>Figura 8.</b> Modelo de folha de cálculo para a estimativa da incerteza em ensaios microbiológicos quantitativos em águas de consumo (com etapa de confirmação parcial). ....	56
<b>Figura 9.</b> Modelo de folha de cálculo para a estimativa da incerteza em ensaios microbiológicos quantitativos em águas de consumos (sem etapa de confirmação ou com confirmação total). ....	56
<b>Figura 10.</b> Processo para o tratamento de documentos não controlados. ....	64
<b>Figura 11.</b> Folha de cálculo para o tratamento de dados de ensaios de aptidão em águas de consumo. ....	69
<b>Figura 12.</b> Folha de cálculo para a avaliação do desempenho do técnico em ensaios de aptidão. ....	69
<b>Figura 13.</b> Folha de cálculo para o tratamento de dados de ensaios de aptidão em alimentos. ....	70
<b>Figura 14.</b> Fluxograma o procedimento de gestão de equipamentos de monitorização e gestão. ....	71
<b>Figura 15.</b> Modelo de folha de cálculo para o registo de dados da verificação interna das balanças....	78
<b>Figura 16.</b> Modelo de folha de cálculo para o registo de dados da calibração interna dos termómetros. ....	81



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> Domínios de acreditação e respetivas atividades de avaliação da conformidade (IPAC, 2007).	8
<b>Tabela 2</b> Divisão dos documentos normativos na Company Web. ....	30
<b>Tabela 3</b> Normas que compõem as duas novas categorias Análise Sensorial (AS) e Produtos da Pesca e Aquicultura (PPA). ....	31
<b>Tabela 4</b> Documentos elaborados para a atividade de amostragem. ....	33
<b>Tabela 5</b> Métodos realizados pelo Laboratório CPC a acreditar. ....	37
<b>Tabela 6</b> Documentos associados à implementação e validação de métodos de ensaio. ....	45
<b>Tabela 7</b> Características de desempenho a avaliar na validação de métodos de ensaio. ....	47
<b>Tabela 8</b> Parâmetros de revalidação dos métodos de ensaio de microbiologia de Contagem de Escherichia coli e coliformes e Pesquisa de Salmonella spp. ....	48
<b>Tabela 9</b> Documentos associados à estimativa da incerteza. ....	49
<b>Tabela 10</b> Condições de realização dos ensaios para a estimativa da incerteza. ....	50
<b>Tabela 11</b> Fórmulas necessárias para a estimativa da incerteza de medição de ensaios de microbiologia de alimentos de acordo com a norma ISO/TS 19036:2006. ....	51
<b>Tabela 12</b> Norma de referência para a estimativa da incerteza dos resultados de ensaios em alimentos e águas. ....	54
<b>Tabela 13</b> Fontes de incerteza nos ensaios de microbiologia de águas e alimentos (adaptado de Sanas, 2014). ....	57
<b>Tabela 14</b> Valores da estimativa da incerteza dos ensaios de microbiologia a acreditar, referentes a 2017. ....	58
<b>Tabela 15</b> Documentos associados ao controlo interno da qualidade. ....	59
<b>Tabela 16</b> Definição das condições dos ensaios em duplicado, paralelo e réplica. ....	62
<b>Tabela 17</b> Esquema de ensaios interlaboratoriais para métodos de ensaios de microbiologia em águas (PHE, 2018). ....	67

<b>Tabela 18</b> Esquema de ensaios interlaboratoriais para métodos de ensaios de microbiologia em alimentos (PHE, 2018). .....	67
<b>Tabela 19</b> Critérios para a interpretação do valor Z-score. ....	68
<b>Tabela 20</b> Documentos e plataformas com informação sobre os equipamentos.....	72
<b>Tabela 21</b> Fichas técnicas dos equipamentos. ....	73
<b>Tabela 22</b> Nomenclatura utilizada no código de identificação de equipamentos. ....	74
<b>Tabela 23</b> Identificação das não conformidades na codificação dos equipamentos. ....	75
<b>Tabela 24</b> Resultados da verificação interna das balanças em maio de 2018. ....	79

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÓNIMOS

BGA – Agar verde brilhante

CASCO – ISO's Committee on Conformity Assessment

CCA – Chromogenic Coliform Agar

CEE – Comissão Económica Europeia

*Company Web* – Intranet da Castro, Pinto & Costa

CPC – Castro, Pinto & Costa

DL – Decreto-Lei

EA – European Accreditation

EMA – Erro máximo admissível

EMM – Equipamentos de monitorização e medição

EN – European Norm

FEPTU – Food and Environment Proficiency Testing Unit

IAF – International Accreditation Forum

IE – Instruções de Equipamentos

ILAC – International Laboratory Accreditation Cooperation

INSA – Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge

IPAC – Instituto Português de Acreditação

IPQ – Instituto Português da Qualidade

ISO – Organização Internacional de Normalização, do inglês International Organization of Standardization

ISO/IEC – International Organization of Standardization/International Electrotechnical Commission

ISO/TR – International Organization of Standardization /Technical Reports

*LabGest* – Software de gestão do Laboratório CPC

MKTTn – Muller-Kauffmann tetrionato-novobiocina

MSRV – Modified Semi-Soli Rappaporty-Vassiliadis

NP EN – Norma Portuguesa European Norm

ONA – Organismo Nacional de Acreditação

PCA – Plate Count Agar

PHE – Public Health England

Relacre – Associação de Laboratórios Acreditados de Portugal

RSV – Rappaport-Vassiliadis com soja

SF – Fator de seletividade

SI – Sistema Internacional

SNGQ – Sistema Nacional de Gestão da Qualidade

SPQ – Sistema Português da Qualidade

TBX – Triptona Bile Gluconídeo

TTC – Cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazólio

VIM – Vocabulário Internacional de Metrologia

VP – Voges-Proskauer

XLD – Xilose lisina desoxicolato

YEA – Yeast Extract Agar

# CAPÍTULO 1. ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO E ENQUADRAMENTO

## 1.1. Estrutura da dissertação

A dissertação está organizada em quatro capítulos. No presente capítulo (Capítulo 1) é apresentado o local de estágio onde a dissertação foi desenvolvida e um enquadramento do tema estudado.

No segundo capítulo efetua-se uma revisão bibliográfica pela abordagem do tema da qualidade, acreditação e introdução aos requisitos da norma NP EN ISO/IEC 17025:2005. No final é retratado o papel e importância dos laboratórios de análises de águas e produtos alimentares.

No Capítulo 3 é apresentado o caso de estudo, iniciando-se com uma breve contextualização dos tópicos estudados e, de seguida, é feita a descrição e exposição das tarefas concretizadas.

Por fim, no Capítulo 4 são sintetizadas as conclusões gerais resultantes do trabalho realizado.

## 1.2. Apresentação da empresa

O presente trabalho foi desenvolvido na empresa Castro, Pinto & Costa, Lda. (CPC), localizada na Zona Industrial da Maia I. Fundada no ano de 2000, surgiu como *spin off* da Universidade do Minho.

A CPC atua em cinco áreas estratégicas de negócio, enumeradas de seguida:

- Consultoria e auditoria;
- Formação profissional;
- Investigação e Desenvolvimento;
- Laboratório de análises;
- Comercialização de produtos;

A empresa caracteriza-se pela forte aposta na qualidade e inovação, com uma forte ligação ao meio académico. As atividades da CPC são assentes na contínua satisfação dos clientes, adaptando continuamente os serviços prestados à realidade de cada cliente, bem como à satisfação de todos os

colaboradores e fornecedores. A CPC estabelece várias parcerias com entidades credíveis com vista à criação de valor acrescentado para o público alvo e meio de diferenciação da concorrência.

A CPC é certificada pela norma NP EN ISO 9001:2015 para as atividades de investigação, conceção e desenvolvimento, comercialização de produtos, produção e comercialização de OleoTest®, serviços de consultoria e formação profissional, serviços de análises laboratoriais para o setor alimentar e controlo analítico de águas.

### 1.3. Enquadramento do Tema

O contexto competitivo e a exigência crescente do consumidor, bem como a legislação vigente, obrigam a que os serviços prestados pelos laboratórios sejam cada vez mais eficientes e competentes. A qualidade dos laboratórios apresenta-se com um fator-chave para a credibilidade da entidade e confiança nos resultados produzidos. A implementação de um sistema de gestão da qualidade envolve um conjunto de processos e procedimentos específicos e interligados e também a participação de todos os colaboradores, com o objetivo de concretizar a melhor prestação de produtos e serviços, atendendo às necessidades e exigências dos clientes. Os referenciais normativos oferecem uma ajuda fundamental neste sentido, destacando-se a NP EN ISO/IEC 17025:2005, onde são definidos os requisitos gerais de competência para a realização de ensaios e calibrações. A atuação em conformidade com a norma através da implementação de um sistema de gestão da qualidade, que cumpre os seus requisitos técnicos e de gestão, permite a execução e controlo objetivo das atividades laboratoriais, produção de resultados rigorosos e fidedignos e ainda o reconhecimento formal da competência técnica junto do organismo de acreditação nacional (Instituto Português de Acreditação – IPAC).

Neste contexto, o Laboratório CPC entendeu que a acreditação de métodos de ensaios de microbiologia de águas e alimentos, bem como a amostragem de águas de consumo é um aspeto crucial para um melhorar o seu posicionamento no mercado. Deste modo, a implementação da norma NP EN ISO/IEC 17025:2005 tem como principais objetivos:

- Responder ao mercado cada vez mais exigente;
- Aumentar a credibilidade e reconhecimento;
- Aumentar a eficácia e eficiência do sistema de gestão da qualidade;

- Demonstrar a utilização de procedimentos que garantem a confiança e idoneidade dos resultados apresentados;

A realização do estágio na CPC, que resultou na elaboração da presente dissertação, teve como finalidade a aquisição de competências inerentes ao processo de acreditação e controlo da qualidade laboratorial através da realização de diversas tarefas, nomeadamente:

- Análise da literatura existente sobre o tema;
- Identificação de não conformidades nos procedimentos laboratoriais;
- Revisão e elaboração de documentos associados às atividades de ensaio e controlo da qualidade.

São abordados em particular os tópicos de atualização da documentação normativa, revisão dos protocolos dos métodos de ensaio, dos procedimentos de controlo da qualidade laboratorial e gestão de equipamentos, definidos previamente pela organização como sendo os pontos fundamentais a tratar para o bom desempenho do sistema de gestão da qualidade e cumprimento dos requisitos do referencial normativo NP EN ISO/IEC 17025:2005.



## **CAPÍTULO 2. QUALIDADE E ACREDITAÇÃO DE ATIVIDADES DE AVALIAÇÃO DA CONFORMIDADE**

A qualidade constitui a base do sucesso de uma organização. A maior exigência dos clientes e das demais partes interessadas e o contexto de uma sociedade economicamente global, onde a oferta excede progressivamente a procura, exigiu a mudança e adequação estrutural das organizações numa cultura baseada na qualidade.

A qualidade pode ser definida como o grau de satisfação de requisitos dado por um conjunto de características intrínsecas de um produto e/ou serviço. Contudo, o termo qualidade apresenta várias interpretações e abordagens por diferentes autores, variando consoante a forma e contexto em que é empregado. A qualidade, por outro lado, está relacionada com a perceção do cliente, consumando os seus requisitos para o produto ou serviço. Cabe a cada organização definir a melhor estratégia no sentido de atingir a satisfação das diferentes partes interessadas (Chibito, 2017; IPQ, 2015).

A qualidade deve ser entendida como uma imposição, condição obrigatória e não um meio de diferenciação. É esperado que os produtos e serviços possuam as características que satisfaçam os requisitos dos clientes e, inclusive, superem as suas expectativas. A aposta na qualidade visa um maior controlo das atividades da organização, garantindo a excelência das mesmas, assim como dos produtos e serviços fornecidos ao cliente. Traduz-se numa promoção da melhoria contínua, diminuição de erros, aumento da produtividade, fidelização do cliente e reconhecimento externo. Simultaneamente, a qualidade resulta num aumento da eficácia e eficiência organizacional, possibilitando um maior lucro com menos custos. A qualidade deve ser continuamente compreendida, assimilada e implementada no seio da organização (Barradas & Sampaio, 2011; Lopes, 2010; Vieira, 2008).

### **2.1. Qualidade em Portugal**

Em Portugal, os conceitos de qualidade começaram a ter um papel mais preponderante em 1977 com a criação da Direção Geral da Qualidade. Com entrada na Comissão Económica Europeia (CEE), em 1986, houve a necessidade de estruturar e dinamizar a economia, com vista a torná-la mais competitiva e integrada no espaço europeu. Nesta perspetiva, ocorreu a promoção e dinamização das políticas de gestão da qualidade, resultando na transformação da Direção Geral da Qualidade no Instituto Português

da Qualidade (IPQ), através do Decreto-Lei nº183/86, adotando uma estrutura homóloga à dos outros estados (Vieira, 2008). Ao IPQ foram atribuídas as atividades de normalização, certificação e metrologia e a unidade de doutrina do Sistema Nacional de Gestão da Qualidade (SNGQ). O SNGQ foi criado em 1983, pelo Decreto-Lei nº165/83 e substituído pelo Sistema Português da Qualidade (SPQ) em 1993, pelo Decreto-Lei nº234/93. Ao longo dos anos, várias revisões e reestruturações ocorreram nas entidades responsáveis pela qualidade no contexto nacional. Atualmente, nos termos da Lei Orgânica do Ministério da Economia e da Inovação, o IPQ tem como missão a promoção da qualidade em Portugal e gestão, coordenação e desenvolvimento do SPQ, integrando todas as componentes para a melhoria da qualidade de produtos, serviços e de sistemas da qualidade e da qualificação de pessoas. O SPQ consiste num conjunto de entidades e organizações interrelacionadas e interagentes que, seguindo princípios, regras e procedimentos aceites internacionalmente, dinamiza a qualidade em Portugal. Tem a cargo também a coordenação de três subsistemas (subsistema nacional da normalização, da metrologia e da qualificação) através dos quais garante e desenvolve a qualidade das entidades que intervêm nos vários setores da sociedade (IPQ, 2018; Lopes, 2010).

## 2.2. Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ)

A evolução das políticas de qualidade e a consciencialização do papel crítico da qualidade na progressão do negócio, conduziram ao desenvolvimento de sistemas e um maior fortalecimento das estruturas e ferramentas de gestão internas. A gestão da qualidade passa por estabelecer, implementar e manter formas de garantir a qualidade, visa a valorização e aproveitamento de todos os recursos, aumento do rendimento dos processos e controlo dos custos operacionais.

Os Sistemas de Gestão da Qualidade (SGQ), que consistem num conjunto de medidas para dirigir e controlar uma organização no que respeita à qualidade, são usados para atestar a conformidade, consistência e fiabilidade dos produtos ou serviços a um conjunto de pré-requisitos estabelecidos, satisfazendo as necessidades e expectativas dos clientes (IPQ, 2015). O SGQ assiste na constante identificação das necessidades e expectativas dos clientes e definição de processos fundamentais para gerar produtos ou serviços que correspondam a esses requisitos. Implica também que a organização mantenha estes processos sobre controlo e a participação e empenho da gestão de topo. (Barradas & Sampaio, 2011). Um SGQ capaz permite a redução de custos de funcionamento pela melhoria de sistemas operacionais, a otimização de objetivos pela coordenação de atribuição de recursos e

responsabilidades, orienta toda a organização para a melhoria contínua e, por conseguinte, aumenta a satisfação dos clientes. Resulta num crescimento viável, efetivo e competitivo da organização.

O reconhecimento da capacidade do SGQ assegura a conformidade das atividades segundo requisitos determinados. As normas de referência facilitam a harmonização das abordagens à elaboração e operação de um SGQ estruturado, completo e adequado ao seu contexto. Paralelamente, a utilização de referenciais normativos reconhecidos permite a avaliação interna e externa do sistema da qualidade e oferece orientação para o reconhecimento da conformidade do SGQ. A conformidade do SGQ pode ser confirmada, nomeadamente, pela certificação segundo a norma ISO 9001 ou acreditação de acordo com a norma ISO/IEC 17025, dependendo do objetivo pretendido (Chibito, 2017). No contexto de um laboratório de ensaios e/ou calibração, é de extrema relevância o foco na melhoria contínua e garantia da qualidade, mas também o reconhecimento da competência técnica na realização das suas atividades. A implementação de um SGQ num laboratório providencia resultados mais precisos e com elevado grau de rastreabilidade, assegura ao cliente a confiança dos mesmos e garante que as suas necessidades são atendidas. A certificação, que pode ser definida de acordo com a norma ISO/IEC 17000:2004, como a “atestação de terceira parte, relativa a produtos, processos, sistemas ou pessoas”, não garante, porém, a competência de laboratórios em produzir resultados tecnicamente válidos. Neste sentido, a acreditação pela norma ISO/IEC 17025 ergue-se como o procedimento de avaliação e reconhecimento da competência técnica de um laboratório para realizar determinadas atividades específicas, suportado por um sistema de qualidade conveniente e apto, de acordo com as normas internacionais, europeias e nacionais (Almeida & Pires, 2006; Barradas & Sampaio, 2011; ISO, 2004).

### **2.3. Acreditação**

A acreditação é definida, de acordo com o Regulamento (CE) n.º 765/2008, como a “declaração por um organismo nacional de acreditação de que um organismo de avaliação da conformidade cumpre, para executar as atividades específicas de avaliação da conformidade, os requisitos definidos em normas harmonizadas e, se for o caso, quaisquer requisitos adicionais, nomeadamente os estabelecidos em sistemas setoriais”. Trata-se da demonstração e reconhecimento formal da competência técnica para efetuar atividades específicas de avaliação da conformidade, evidenciado através da emissão de um certificado, onde consta a descrição do âmbito da acreditação. É a prova de que a entidade possui os recursos humanos, equipamentos, métodos, instalações e os procedimentos laboratoriais necessários

para produzir resultados fidedignos e que cumpre os requisitos dos clientes e as boas praticas aplicáveis. Uma atividade acreditada corresponde ao topo da hierarquia da qualidade (Reg. (CE) 765/2008, 2008). É importante referir que falar de entidades acreditados constitui um erro de linguagem: não existem organizações acreditadas, existem sim organizações com atividade acreditadas e sistemas da qualidade certificados. As atividades de avaliação da conformidade e o domínio de acreditação são discriminados na Tabela 1 (IPAC, 2007).

**Tabela 1** Domínios de acreditação e respetivas atividades de avaliação da conformidade (IPAC, 2007).

Domínio de Acreditação	Atividade de avaliação da conformidade
Laboratórios	Calibrações
	Ensaaios
	Exames Clínicos / Laboratoriais
Organismos de Certificação	Certificação de Produtos
	Certificação de Sistemas de Gestão
	Certificação de Pessoas
Organismos de Inspeção	Inspeção de Veículos
	Inspeção Setorial
Verificadores Ambientais	Verificação Ambiental

A acreditação é efetuada pelo Organismo Nacional de Acreditação (ONA), regido segundo os critérios definidos por normas, regulamentos e outros documentos relevantes, nomeadamente os descritos na norma ISO/IEC 17011:2017 “Avaliação de conformidade – Requisitos gerais para os organismos de acreditação que realização acreditação de organismos de avaliação de conformidade”. A entidade que regula a acreditação a nível nacional deve ser independente, isenta e imparcial (DL n°125/2004, 2004).

Em Portugal, o Instituto Português da Acreditação (IPAC) é o organismo de jurisdição nacional responsável pela acreditação, nos termos do Regulamento (CE) n°765/2008. A criação do IPAC teve origem no Decreto-Lei n°125/2004 com o objetivo de dar resposta à Resolução do Conselho n°90/CE, de 21 de dezembro de 1989, sucedendo ao Instituto Português da Qualidade (IPQ), que desde 1986 vinha desempenhando a função de acreditação. O IPAC é membro da European Accreditation (EA), do

International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) e do International Accreditation Forum (IAF), organizações que congregam os organismos de acreditação ao nível europeu e internacional, sendo signatário dos respetivos Acordos de Reconhecimento Mútuos (DL n.º125/2004, 2004; IPAC, 2007; Reg. (CE) 765/2008, 2008)

O IPAC está provido de comissões técnicas que interatuam com as partes interessadas e uma Comissão Consultiva que representa as várias partes interessadas na atividade de acreditação, supervisiona a imparcialidade da sua atuação e providencia orientação estratégica. Recorre ainda a uma bolsa de avaliadores e peritos externos para executar as atividades de acreditação. Os serviços de acreditação prestados e as regras, critérios e metodologias aplicáveis são descritos no Regulamento Geral de Acreditação (DRC001) e procedimentos conexos (IPAC, 2007).

O processo de concessão da acreditação envolve várias etapas:

- **Formalização da candidatura** pelo preenchimento e submissão da documentação de candidatura disponível na página eletrónica do IPAC (IPAC, 2007);
- **Fase de avaliação** onde há um processamento da candidatura que consiste na receção administrativa da candidatura e análise preliminar da mesma, conferindo se está completa, se foi efetuado o pagamento e se estão reunidas as condições necessárias e suficientes para estabelecer uma relação contratual entre o IPAC e o candidato. A equipa avaliadora nomeada procede à análise documental e auditoria da entidade candidata, podendo resultar na deteção de não conformidades e oportunidades de melhoria que são comunicadas à Entidade. Por sua vez, a Entidade deve elaborar um plano de correções e ações corretivas e enviar ao IPAC evidências da sua implementação (IPAC, 2007);
- **Fase de decisão** com base nos relatórios e pareceres da equipa avaliadora e plano de ações corretivas e respetivas evidências e transmitida à Entidade por escrito (IPAC, 2007).

Nos casos em que é concedida a acreditação, é emitido um Certificado de Acreditação e respetivos Anexos Técnicos, onde é descrito o âmbito da acreditação. O certificado contém a designação da entidade, a data de início da acreditação, o documento normativo de referência e as disposições relativas à respetiva vigência. A entidade acreditada tem autorização para utilizar os símbolos de acreditação, nos termos previstos do documento de regulação DRC002. Estes símbolos são de utilização obrigatória nos documentos resultantes de atividades acreditadas (IPAC, 2007).

Após a concessão, inicia-se a fase de manutenção da acreditação que inclui ações de acompanhamento e avaliações periódicas de modo a atestar o cumprimento das condições estabelecidas na acreditação. Quando a entidade acreditada demonstra falhas e falta de conformidade com as metodologias do IPAC e requisitos de acreditação é feita uma advertência ou desencadeadas sanções, como a suspensão ou anulação da acreditação (IPAC, 2007). A entidade acreditada pode proceder à renovação da acreditação e solicitar a extensão do seu âmbito durante o período vigente da acreditação ou ainda a redução, suspensão ou anulação da mesma (IPAC, 2007).

A importância da acreditação difere conforme o mercado em que cada laboratório exerce a sua atividade. Em certos casos, a avaliação da conformidade é legalmente exigida, nomeadamente em ensaios de análise de águas de consumo. Nos mercados mais exigentes, a acreditação assume-se como a condição mínima para se iniciar a negociação, enquanto que nos mercados mais flexíveis e de menor grau de exigência, a acreditação permite uma vantagem competitiva. A acreditação confere vantagens ao nível organizacional, já que impõe a melhoria contínua e a implementação de um sistema de qualidade, bem como a sua revisão constante o que torna todo o trabalho do laboratório mais sustentável, eficiente e competente. A acreditação implica uma forma de trabalhar organizada e estruturada, aplicando critérios de decisão que asseguram a imparcialidade no processo de obtenção de resultados e a garantia da confidencialidade dos mesmos, com vista à plena satisfação do cliente. Comporta ainda uma garantia para os clientes de que a entidade possui pessoal competente, instalações e equipamentos apropriados, métodos validados, constante revisão dos procedimentos operacionais e a capacidade de comprovar a qualidade dos resultados documentando todo o trabalho operacional. Como o IPAC é signatário do Acordo de Reconhecimento Mútuo, o certificado de ensaio e/ou calibração acreditado emitido é aceite em qualquer país signatário deste mesmo acordo, servindo como uma ferramenta de globalização e internacionalização da economia, promovendo boas práticas e as exportações nacionais. A aceitação de resultados entre países será mais fácil se os laboratórios operarem segundo os mesmos requisitos expressos numa mesma norma, reconhecida a nível internacional, e obtiverem o reconhecimento da sua competência por organismos de acreditação que atuam com base numa mesma norma internacional (Almeida & Pires, 2006).

De um modo global, a acreditação constitui uma mais valia na qualidade de vida de todos, pois atesta que os produtos e serviços adquiridos são avaliados por entidades competentes e, portanto, possuem os requisitos aplicáveis. Ao gerar infraestruturas tecnológicas de credibilidade reconhecida, auxilia num

melhor desempenho económico do país, propicia a captação de investimento de valor acrescentado e o acesso a organizações internacionais competitivas. A acreditação instiga uma cultura de exigência.

No entanto, a acreditação é um processo que acarreta algumas dificuldades desde logo do ponto de vista financeiro. A entidade tem de suportar os custos inerentes ao processo de acreditação e também os custos necessários ao cumprimento dos requisitos associados à acreditação como por exemplo, custos relacionados com a qualificação específica do pessoal, auditorias e controlo da qualidade. A acreditação de atividades do laboratório implica um certo grau de exigência no trabalho de rotina, tanto a nível organizacional como técnico. A implementação de um sistema de gestão da qualidade, requerido para a obtenção da acreditação, pressupõe um conjunto de operações que promovem a qualidade dos resultados, sem grandes flutuações e que comprovem que a ocorrência de não conformidades é prontamente detetada. A carga documental necessária para suportar e evidenciar as atividades laboratoriais constituem um outro problema para as organizações que pretendem acreditar as suas atividades (Almeida & Pires, 2006).

A implementação do SGQ e, conseqüente, acreditação das atividades do laboratório é um processo complexo, porém vantajoso, que implica esforço de todas as partes e uma reestruturação e mudança organizacional.

## 2.4. Norma ISO/IEC 17025

A acreditação de laboratórios de ensaio e calibração rege-se pelos requisitos emanados no referencial normativo ISO/IEC 17025 – Requisitos gerais de competência para laboratórios de ensaio e calibração. A norma constitui a referência internacional para a implementação de um sistema de qualidade que serve as necessidades do laboratório. A sua implementação e reconhecimento por parte de um organismo de acreditação permite que um laboratório demonstre que mantém um sistema de garantia da qualidade adequado às características específicas das suas atividades, opera competentemente e gera resultados tecnicamente válidos, isto é, consiste na demonstração da competência técnica, apoiada por um sistema de qualidade (CALA, 2007; IPQ, 2005)

Apesar de o tema acreditação ter vindo a ser discutido desde os anos 70, a primeira edição da norma ISO/IEC 17025 foi publicada apenas em 1999 e até então não existiam quaisquer normas internacionais sobre sistemas de qualidade em laboratórios que servissem de referência para a acreditação. Até à primeira edição da norma ISO/IEC 17025 foram desenvolvidos trabalhos no sentido de uniformização

da regulamentação técnica e normalização, de entre eles o Guia ISO/IEC 25 – Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração, elaborado em 1988 pelo Comité ISO sobre a Avaliação da Conformidade (CASCO, do inglês ISO's Committee on Conformity Assessment) e a norma europeia EN 45001 “Critérios gerais para de competência de laboratórios”, pulicada em setembro de 1989. O documento Guia ISO/IEC 25 incluía os requisitos técnicos que o laboratório deveria obedecer e era utilizado pelos organismos de acreditação como base na avaliação da competência dos laboratórios. Já os organismos de acreditação de laboratórios na Europa, baseavam-se na norma EN 45001, elaborada num curto período de tempo onde constavam tanto os requisitos para laboratórios, como os requisitos especificamente relacionados com a acreditação (Cuadros-Rodríguez, González-Casado, Ruiz-Samblás, & Bagur-González, 2017; UNIDO, 2009).

Em meados dos anos 90, aquando da revisão do Guia ISO/IEC 25, o grupo de trabalho deparou-se com a necessidade de criar um documento normativo sem ambiguidades e com o conteúdo fundamental, reunindo toda a experiência adquirida da implementação do Guia ISO/IEC 25 e da norma europeia EN 45001. Deste modo, surge a norma ISO/IEC 17025:1999, desenvolvida especificamente para estruturar e normalizar a acreditação de laboratórios de ensaio e calibração, onde são estabelecidos requisitos técnicos que asseveram a competência técnica de laboratórios de ensaio e calibração e os requisitos gerais que permitem a continuidade da mesma, reconhecida a nível internacional (Cuadros-Rodríguez et al., 2017; UNIDO, 2009).

Na formulação da nova norma houve a preocupação de incluir os requisitos de gestão de sistemas da qualidade em concordância com as normas da série ISO 9001, relativas à garantia da qualidade. As entidades que cumprem os requisitos do referencial normativo ISO/IEC 17025 operam também em conformidade com os requisitos da norma ISO 9001 relevantes para as atividades de ensaio. Porém, de realçar que um laboratório com atividades acreditadas segundo a norma ISO/IEC 17025 não garante o cumprimento de todos os requisitos incluídos na norma ISO 9001, particularmente os requisitos relativos à realização de produtos e os de monitorização e avaliação de produtos (Barradas & Sampaio, 2011; UNIDO, 2009)

Embora seja utilizada pelos organismos avaliadores como base para a apreciação da competência das entidades, a norma é dirigida aos laboratórios e não aos organismos de acreditação. A norma está redigida de tal modo que são descritos os objetivos a alcançar e não o percurso para os atingir, cabendo ao laboratório definir qual a melhor forma e estratégia para cumprir tais objetivos. A aplicação da norma deve ser adequada a cada caso específico. A interpretação dos requisitos deve ter em conta o âmbito do

laboratório, bem como a influência que um dado requisito tem sobre o resultado final, partindo desta avaliação a definição do grau de exigência de controlo que o laboratório tem de exercer sobre o mesmo (Almeida & Pires, 2006).

Após a sua primeira publicação, a norma foi revista em virtude da revisão da norma ISO 9001, em 2000, sendo publicado uma nova edição em 2005 que se mantém em vigor até à data. A nova edição não contém alterações de grande importância nos requisitos técnicos. As mudanças registam-se principalmente ao nível dos requisitos de gestão, atendendo aos princípios da norma de sistemas de gestão da qualidade, dando ênfase à gestão de topo, importância de demonstrar o compromisso com a melhoria contínua do sistema de gestão e foco na satisfação do cliente (Cuadros-Rodríguez et al., 2017).

Em 2017, foi publicada uma revisão da ISO/IEC 17025 com o objetivo de assegurar que os requisitos refletem as exigências do mercado atual. O período de transição para a nova versão tem a duração de três anos, isto é, até 2020. Não obstante, durante o período de transição, tanto a versão ISO/IEC 17025:2005 e ISO/IEC 17025:2017 são válidas e aplicáveis (ISO, 2017b).

Ainda vigorando a edição de 2005 e no sentido de dar continuidade às tarefas já iniciadas, este trabalho será desenvolvido tendo por base a norma ISO/IEC 17025:2005. A norma NP EN ISO/IEC 17025:2005 corresponde à versão portuguesa da norma europeia EN ISO/IEC 17025:2005, cuja tradução é da responsabilidade do Instituto Português da Qualidade.

A NP EN ISO/IEC 17025:2005 contém cinco capítulos e dois anexos de carácter informativo. O Anexo A faz a correspondências entre os requisitos análogos da norma ISO 9001:2000 e a ISO/IEC 17025:2005 e o Anexo B apresenta diretrizes para o estabelecimento de aplicação em campos específicos. Os três primeiros capítulos dizem respeito ao Âmbito, Referências Normativas e Termos e Definições, nesta ordem. Os capítulos 4 e 5 dizem respeito aos requisitos de gestão e requisitos técnicos, respetivamente.

#### 2.4.1. Requisitos de Gestão

Os requisitos de gestão relacionam-se com o funcionamento do Sistema de Gestão da Qualidade dentro do laboratório, permitindo a continuidade da competência técnica. São 15 os requisitos que compõem o Capítulo 4, descritos de seguida.

##### *2.4.1.1. Organização (4.1)*

O laboratório ou a organização que este integra tem de ser uma entidade legalmente responsável, comprovada por um documento legal apropriado. É necessária a correta identificação do laboratório

desde o nome, morada, tipo de organização, descrição das instalações, definição da organização e estrutura de gestão (IPQ, 2005).

O laboratório deve evidenciar capacidade de cumprir os requisitos normativos, dos clientes e de outras entidades regulamentares e de gerir as suas atividades com imparcialidade, independência e confidencialidade. A identificação e documentação de potenciais conflitos de interesse e modo de os resolver é também requerida (CALA, 2007; IPAC, 2010; IPQ, 2005).

O laboratório deve especificar as responsabilidades de todos os colaboradores que intervêm nas atividades de ensaio/calibração e nomear um membro responsável pela gestão da qualidade, com autoridade bem definida, bem como um substituto dos principais postos, nomeadamente responsável da qualidade e técnico (CALA, 2007).

Assegurar ainda a comunicação adequada dentro do laboratório, com vista a eficácia do Sistema de Gestão, recomendando-se tipos de comunicação registadas (IPAC, 2010).

#### 2.4.1.2. Sistema de Gestão (4.2)

Os laboratórios devem estabelecer, implementar e manter um Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ) no âmbito das atividades que desenvolvem, para a manutenção e controlo das mesmas. O SGQ deve estar suportado por uma estrutura documental da qual podem fazer parte o Manual da Qualidade, procedimentos organizacionais, procedimentos técnicos e registos redigidos numa linguagem acessível, disponível ao pessoal e compreendida por quem os utiliza e rastreável (CALA, 2007; IPAC, 2010; IPQ, 2005). Na Figura 1 é representada a hierarquia usual da estrutura documental do SGQ.



**Figura 1.** Hierarquia da estrutura documental do SGQ com base na norma ISO/TR 10013:2001 e o Guia IPAC OGC001 de 2010 (adaptado de Alves, 2014).

O Manual da Qualidade deve estar organizado de forma clara e perceptível a terceiros, ilustrando que o laboratório funciona e está organizado de modo a cumprir os requisitos da norma. Caso o laboratório seja parte de uma organização com um sistema de qualidade já implementado, por exemplo, pela norma ISO 9001, pode adaptar o manual da qualidade às características do laboratório e exigências da norma NP EN ISO/IEC 17025:2005. A norma ISO/TR 10013 “Linhas de orientação para documentação do sistema de gestão da qualidade” auxilia na elaboração do manual da qualidade e estruturação da documentação. Os objetivos do sistema de gestão devem ser suportados por indicadores mensuráveis ou quantificáveis. Todo o pessoal, incluindo a gestão de topo, deve estar envolvido e comprometido com o SGQ, zelando pela melhoria contínua (CALA, 2007; IPAC, 2010; IPQ, 2005).

#### *2.4.1.3. Controlo de documentos (4.3)*

O laboratório deve dispor de procedimentos documentados para a elaboração e controlo de todos os documentos que integram o SGQ. Estes procedimentos devem prever a revisão, aprovação e emissão dos documentos por pessoal autorizado, identificação do texto modificado ou novo, identificação única e codificação que facilmente permita o seu reconhecimento, remoção dos documentos inválidos e/ou obsoletos, registo do histórico de alterações. É igualmente fundamental criação de uma lista com a identificação da situação atual de revisão e distribuição dos documentos do SGQ (CALA, 2007; IPAC, 2010; IPQ, 2005).

#### *2.4.1.4. Análise de consultas, propostas e contratos (4.4)*

O cumprimento deste requisito demanda a existência de procedimentos para a análise crítica e eficiente de pedidos, propostas e contratos e seus respetivos registos, onde seja garantida a compreensão e interpretação dos requisitos, necessidades e expectativas do cliente e avaliação da capacidade para atender o exigido. Para tal, o laboratório deve analisar se detém os recursos humanos, materiais, métodos de ensaio/calibração e possível subcontratação de trabalhos para satisfazer as condições do cliente, resolver todas as questões pertinentes antes de iniciar o trabalho e registar todo o procedimento antes, durante e após prestação de serviço, incluindo análise de consulta/propostas, contrato, modificações necessárias e quaisquer outras discussões relevantes com o cliente. O contrato deve ser aceite pelo laboratório, como também pelo cliente. Eventuais alterações necessárias devem ser comunicadas ao cliente e a todo o pessoal relacionado com o processo, validadas pelo cliente e laboratório (CALA, 2007; IPAC, 2010; IPQ, 2005).

#### *2.4.1.5. Subcontratação de ensaios e calibrações (4.5)*

A subcontratação de serviços a outra entidade está prevista na norma. São necessários procedimentos documentados que prevejam a subcontratação de trabalho, assegurem o correto recurso a este serviço e a satisfaçam os requisitos dos clientes. Sempre que o laboratório recorre a subcontratação de ensaios/calibrações deve atestar a aprovação do cliente. O laboratório é responsável, perante o cliente, dos resultados das atividades subcontratadas e deve manter registos de todos os subcontratados a que recorre e da sua conformidade com a norma ISO/IEC 17025. Porém, de acordo com elucidação do documento OGC001 do IPAC, não é aceite a acreditação de ensaio/calibrações que sejam permanente ou sistematicamente subcontratadas por falta de instalações, equipamentos ou pessoal. Considera-se a subcontratação permanente a subcontratação de ensaios/calibrações por um período superior a 6 meses (IPAC, 2010; IPQ, 2005).

#### *2.4.1.6. Aquisição de Produtos e Serviços (4.6)*

A aquisição de produtos e serviços com influência na qualidade dos ensaios/calibrações implica a aplicação de uma política de avaliação e qualificação dos fornecedores e dos produtos. É importante garantir a correta aquisição, receção, armazenamento e, quando aplicável, verificação e inspeção antes do uso. Entende-se por produtos relevantes os consumíveis, padrões, material de referência certificado, equipamentos de medição e ensaio e por serviços relevantes a subcontratação, calibração, manutenção, formação, auditorias internas, ensaios interlaboratoriais. É igualmente necessário conservar um registo das avaliações feitas e estabelecer uma lista de fornecedores aprovados (IPAC, 2010; IPQ, 2005).

#### *2.4.1.7. Serviço ao cliente (4.7)*

O laboratório deve ter uma política de cooperação com os clientes mostrando disponibilidade para esclarecer dúvidas e pedidos destes. Deve ainda procurar obter informações juntos dos clientes acerca dos serviços prestados e tratá-la tem em vista a melhoria do SGQ, atividades do laboratório e atendimento ao cliente (IPAC, 2010; IPQ, 2005).

#### *2.4.1.8. Reclamações (4.8)*

As reclamações devem ser encaradas como uma oportunidade de melhoria, já que fornecem informações acerca do funcionamento do sistema de gestão, a satisfação do cliente e necessidade de proceder a ações corretivas. O laboratório deve estar provido de políticas e procedimentos para solucionar reclamações de clientes e de outras partes, bem como manter registos de todas as reclamações e ações corretivas implementadas. É importante informar o reclamante sobre a metodologia aplicada no tratamento da reclamação e sobre o resultado do tratamento da mesma (IPAC, 2010; IPQ, 2005).

#### *2.4.1.9. Controlo de trabalho de ensaio e/ou de calibração não conforme (4.9)*

O trabalho não conforme relativo aos métodos de ensaio/calibração ou requisitos acordados com o cliente deve ser gerido e monitorizado por um membro nomeado responsável, que deve aplicar os procedimentos existentes para a ocorrência destes. Por não conformidade, de acordo com a norma ISO 9000:2015, entende-se o não cumprimento de um requisito (IPQ, 2015). Os procedimentos de controlo do trabalho não conforme devem definir as ações a tomar quando detetada uma não conformidade, a avaliação da importância desse mesmo trabalho e a sua correção. Sempre que necessário, o cliente deve ser informado sobre o impacto do trabalho não conforme. A análise das causas, conclusões, correções e medidas preventivas devem ser registadas (IPAC, 2010; IPQ, 2005).

#### *2.4.1.10. Melhoria (4.10)*

Este requisito visa a melhoria contínua do desempenho e eficácia do SGQ através de políticas e objetivos da qualidade, auditorias, comunicação, análise de dados, ações preventivas e corretivas e trabalho técnico e procedimentos organizacionais. A aplicação de planos de melhoria com indicadores mensuráveis, metas a atingir, ações a implementar, pessoas envolvidas e prazos, e, conseqüente, acompanhamento e avaliação do seu efeito possibilita um aprimoramento contínuo do SGQ (IPAC, 2010; IPQ, 2005).

#### *2.4.1.11. Ação corretiva (4.11)*

De modo a resolver o trabalho não conforme ou desvios das políticas e procedimentos no SGQ ou nas operações técnicas, um responsável autorizado deve ser nomeado para desencadear as medidas necessárias definidas em políticas e procedimentos adequados. O laboratório deve identificar e registar o trabalho não conforme, analisar as causas prováveis, selecionar correções e/ou ações corretivas e ainda monitorizar as ações aplicadas, registar os resultados e, se aplicável, realizar auditorias adicionais. De notar que, segundo a norma ISO 9000:2015, correção define-se como a ação tomada para eliminar uma não conformidade e ação corretiva refere-se à ação tomada para eliminar a causa de uma conformidade detetada e impedir que ocorra novamente (IPAC, 2010; IPQ, 2005).

#### *2.4.1.12. Ação preventiva (4.12)*

Ação preventiva diz respeito à ação tomada para eliminar a causa de uma potencial não conformidade ou outra situação potencialmente indesejável e destinam-se, por isso, a evitar o aparecimento de não conformidades e promover melhorias. O laboratório deve proceder à identificação de melhorias necessárias e fontes de potenciais não conformidades, relativas tanto ao nível técnico como ao Sistema

de Gestão, definição e implementação de ações preventivas apropriadas, acompanhamento da sua implementação e avaliação da sua eficácia (IPAC, 2010; IPQ, 2005).

Não constituem ações preventivas as ações que tenham como objetivo o cumprimento dos requisitos da norma como a manutenção, verificação e calibração de equipamentos, no entanto, melhorias na forma como tais requisitos são cumpridos podem ser consideradas ações preventivas (IPAC, 2010).

#### *2.4.1.13. Controlo de registos (4.13)*

O controlo de registo deve estar previsto em procedimentos onde é estabelecida a identificação dos registos, recolha, indexação, acesso, arquivo, armazenamento, manutenção, conservação, períodos de retenção e a eliminação de registos técnicos e da qualidade. Estes registos devem ser legíveis, armazenados e preservados de modo a serem prontamente recuperáveis, mantidos num local seguro e que garante a sua confidencialidade. Os registos podem ser em suporte físico (papel) ou informático. No caso dos registos armazenados eletronicamente, é essencial ter procedimentos para a sua proteção, cópias de segurança e níveis de acesso, prevenindo acesso ou alterações não autorizadas (CALA, 2007; IPAC, 2010; IPQ, 2005).

Os registos técnicos devem possibilitar o rastreamento de todas as ações, desde a receção das amostras até a emissão do certificado e documentar todas os responsáveis envolvidos no processo. Devem ser preservados por um período definido. Os possíveis erros que possam ocorrer nos registos devem ser riscados e não apagado, nem tornados elegíveis ou eliminados e em caso de armazenamento em suporte eletrónico, devem ser igualmente tomadas medidas que evitem a perda ou alteração do dado original (IPAC, 2010).

#### *2.4.1.14. Auditorias internas (4.14)*

As auditorias são uma ferramenta de verificação dos elementos do SGQ, incluindo os ensaios/calibrações. As auditorias permitem averiguar se todos os requisitos continuam a ser cumpridos e identificar falhas e oportunidades de melhoria. É fundamental a elaboração de um programa de auditoria bem definido e estabelecimento da sua periodicidade, que não deve ser superior a 12 meses. As auditorias deveram ser planificadas e organizadas pelo responsável da qualidade e efetuadas por pessoal treinado e qualificado. Da auditoria interna resulta um relatório com as constatações que, por sua vez, devem ser empregues na conceção de um plano de ações corretivas e, se aplicável, a notificação dos clientes caso as investigações demonstrem que os resultados podem ter sido afetados. Este plano deve ser acompanhado e registadas as avaliações de eficácias das ações tomadas (CALA, 2007; IPQ, 2005).

#### *2.4.1.15. Revisões pela Gestão (4.15)*

A gestão de topo deve proceder, no mínimo anualmente, a uma análise crítica de todo o SGQ, englobando todas as áreas de gestão e técnicas. Esta revisão tem como propósito apurar o estado da implementação e eficácia do sistema de gestão e das atividades laboratoriais e determinar possíveis mudanças para a sua melhoria (CALA, 2007).

Devem ser analisados os seguintes pontos:

- Adequação das políticas e procedimentos;
- Relatórios do pessoal dirigente e supervisor;
- Ações corretivas e preventivas;
- Avaliações efetuadas internamente e por organismos externos;
- Resultados de comparações interlaboratoriais e de ensaios de aptidão;
- Mudanças no volume e tipo de trabalho
- Alterações de informação dos clientes;
- Reclamações
- Recomendações para melhoria;
- Outros fatores relevantes, nomeadamente atividades de controlo da qualidade, recursos e treino do pessoal;

As constatações desta revisão devem resultar em planos de ações, políticas, objetivos e metas para o ano seguinte. Os resultados devem ser registados (IPAC, 2010; IPQ, 2005).

#### *2.4.2. Requisitos Técnicos da Norma*

No capítulo 5 da norma são apresentados dez requisitos relativos à competência técnica, descritos de seguida.

##### *2.4.2.1. Generalidades (5.1)*

Este primeiro ponto do capítulo 5 da norma não constitui exatamente um requisito do ponto de vista técnico, já que é apenas feita uma breve introdução aos requisitos subsequentes através da enumeração

dos vários fatores que podem interferir com a exatidão e fiabilidade dos resultados produzidos durante uma atividade de ensaio/calibração. Estes fatores podem ser:

- Fatores humanos (requisito 5.2)
- Instalações e Condições ambientais (requisito 5.3)
- Métodos de ensaio e calibração e validação de métodos (requisito 5.4)
- Equipamentos (requisito 5.5)
- Rastreabilidade das medições (requisito 5.6)
- Amostragem (5.7)
- Manuseamento de itens de ensaio e calibração (5.8)

Os fatores mencionados contribuem para a incerteza total da medição de e, por isso, o laboratório deve tê-los em consideração de modo a minimizar a sua influência no resultado final, considerando o peso que cada um destes fatores tem em cada caso específico (IPAC, 2010; IPQ, 2005).

#### *2.4.2.2. Pessoal (5.2)*

Para cada cargo devem ser definidas e documentadas as habilitações, responsabilidades e competências, garantindo que todo o pessoal que trabalha com equipamentos específicos, realiza ensaios/calibrações, avalia resultados e assina relatórios de ensaio e/ou certificados de calibração tem as qualificações adequadas e que todo o trabalho é realizado de acordo com o sistema de gestão do laboratório. De entre os vários postos de trabalho, destacam-se os de Responsável Técnico, que deve possuir experiência profissional adequada na respetiva área de trabalho, e o Gestor da Qualidade, que deve ter experiência profissional em sistemas de gestão e conhecimentos no referencial normativo NP EN ISO/IEC 17025. Os responsáveis por estes dois cargos devem ter um vínculo efetivo ou contratual, de pelo menos 1 ano, assegurando a disponibilidade para desempenhar as suas funções e para estabelecer uma relação de confiança entre o organismo de acreditação e o laboratório (CALA, 2007; IPAC, 2010; IPQ, 2005).

As competências técnicas dos colaboradores devem ser evidenciadas, periodicamente (de preferência, anualmente) através de testes práticos e/ou teóricos de desempenho, comparações com pessoal qualificado e experiente ou ainda pela participação em comparações interlaboratoriais. Com o objetivo de contribuir para o correto desempenho das atividades e bom funcionamento do laboratório, a entidade

deve avaliar a necessidade de formação do pessoal, proporciona-la, estabelecer metas relativas à formação e avaliar a sua eficácia (CALA, 2007; IPAC, 2010; IPQ, 2005)

#### *2.4.2.3. Instalações e Condições ambientais (5.3)*

As instalações devem ser apropriadas à correta realização das atividades laboratoriais e evidenciado que não invalidam ou afetam negativamente os resultados. O laboratório pode realizar as suas atividades em diferentes tipos de instalações, desde as suas instalações permanentes, temporárias (período inferior a 3 anos), móveis e no local do ensaio/calibração, devendo em qualquer uma delas ser monitorizadas, controladas e registadas as condições ambientais requeridas pelas especificações dos métodos e procedimentos pertinentes ou quando estas influenciam a qualidade dos resultados (CALA, 2007; IPAC, 2010; IPQ, 2005).

É necessária a separação efetiva de áreas de trabalho incompatíveis e controlados e assinalados os acessos às áreas de ensaio/calibrações. A manutenção, higiene, limpeza e arrumação do laboratório deve ser assegurada e criados procedimentos e instruções a fornecer a pessoal externo, quando aplicável (IPAC, 2010).

#### *2.4.2.4. Métodos de ensaio e calibração e validação de métodos (5.4)*

O laboratório deve evidenciar experiência prática na realização das atividades laboratoriais e operar de acordo com métodos e procedimentos adequados. Os protocolos referidos devem contemplar as várias etapas do processo, como amostragem, manuseamento, transporte, armazenamento e preparação dos itens a ensaiar e/ou calibrar e, quando aplicável, a determinação da estimativa da incerteza da medição e técnicas estatísticas para análise dos dados de ensaios/calibrações. Todas as instruções, normas, manuais e dados de referência pertinentes à execução do trabalho laboratorial devem estar disponíveis para consulta. Os desvios ao método só podem ocorrer se devidamente documentados, tecnicamente justificados, autorizados e aceites pelo cliente (CALA, 2007; IPAC, 2010; IPQ, 2005).

A seleção do método deve recair sobre métodos adequados e que satisfaçam os requisitos do cliente, sendo a preferência por métodos normalizados recomendada. Um método diz-se normalizado quando “segue o indicado numa norma, ou documento normativo equivalente elaborado por um organismo de normalização ou por um organismo sectorial integrando representantes do sector técnico”. Por outro lado, um método não normalizado é aquele que não está incluído na definição anterior, nomeadamente, métodos provenientes de adaptações ou modificações de métodos normalizados e métodos

integralmente desenvolvidos pelo laboratório. O desenvolvimento de métodos pelo laboratório deve ser planejado e concedido a pessoal qualificado (IPAC, 2010; IPQ, 2005)

De forma a evidenciar a adequação dos métodos utilizados e a competência na sua execução, o laboratório deve proceder à validação dos mesmos. A validação consiste na confirmação, através de exame e apresentação de evidência objetiva, de que o método cumpre os requisitos para uma dada aplicação ou uso específico. A extensão da validação depende do método de ensaio e da sua aplicação. É recomendado que a validação seja progressivamente mais exigente e exaustiva para os métodos que sofreram modificações em relação à norma, bem como para métodos não normalizados. Os métodos normalizados, utilizados dentro do âmbito previsto, são validados e, portanto, não é necessário realizar um processo validação exaustivo. Porém, não dispensam a evidência de registos que demonstrem que a sua implementação está de acordo com as características específicas do método normalizado. Os resultados da validação devem ser evidenciados em registos (CALA, 2007; IPAC, 2010; IPQ, 2005).

O laboratório deve elaborar e aplicar procedimentos para a estimativa da incerteza da medição das suas atividades, cujos princípios e metodologias devem estar em conformidade com os documentos regulamentares, nomeadamente o documento EA-4/02 para as atividades de calibração e o EA-4/16 para as atividades de ensaio. De acordo com o Vocabulário Internacional de Metrologia (VIM), a incerteza da medição é o “parâmetro associado ao resultado de uma medição que caracteriza a dispersão dos valores que podem ser fundamentadamente atribuídos a um mensurando”. Considera-se que a estimativa da incerteza não é necessária no caso de ensaios qualitativos, ensaios semi-quantitativos e nos métodos de ensaio normalizados que especificam limites para os valores das principais fontes de incerteza de medição e a forma de apresentar os resultados (IPAC, 2010; IPQ, 2005; IPQ & Inmetro, 2012).

É solicitada ao laboratório a existência de um sistema de controlo de dados que garanta a integridade e confidencialidade da informação. No caso de este sistema de controlo fazer uso de computadores ou outros equipamentos automatizados, o laboratório deve assegurar que o *software* está suficientemente documentado e validado ao uso, e também implementar procedimentos de proteção de dados (IPAC, 2010).

#### 2.4.2.5. Equipamento (5.5)

O laboratório deve estar munido com os equipamentos devidos e com as especificações pertinentes para a correta execução das atividades de ensaio/calibração. Os equipamentos devem ser manuseados

apenas por pessoal autorizado e habilitado para tal, devendo existir instruções internas e/ou manuais de utilização, de modo a asseverar o seu correto funcionamento, prevenir contaminações e o desgaste prematuro (IPAC, 2010).

É necessária a criação de um programa de calibração, verificação e manutenção apropriado, tanto ao equipamento, como ao seu uso e com critérios de aceitação de acordo com os requisitos dos métodos de ensaio/calibrações. A calibração pode ser feita interna ou externamente tendo em atenção que, no caso de calibração externa, o laboratório que a executa tem de ser acreditado para o âmbito em questão. As calibrações internas devem cumprir requisitos idênticos aos de um laboratório de calibração acreditado. A periodicidade das intervenções é determinada por experiência documentada, baseada na necessidade, tipo e desempenho anterior do aparelho. A verificação consiste no conjunto de operações realizadas com o objetivo de avaliar o desempenho de um equipamento face ao uso pretendido, como um controlo intermédio dos erros face ao critério de aceitação no intervalo entre calibrações. A manutenção refere-se ao conjunto de operações destinadas a manter (manutenção preventiva) ou a repor (manutenção corretiva) o equipamento no seu correto estado de funcionamento. Em termos gerais, o laboratório deve apresentar procedimentos que confirmem que os equipamentos estão a funcionar corretamente e são mantidos limpos e em segurança (EURACHEM, 2013; FDA, 2014; IPQ, 2005; ISO, 2013b; Relacre, 2007).

Para os equipamentos fora do controlo permanente do laboratório devem ser definidas metodologias para a sua utilização em relação a condições de cedência e utilização, condições de acesso às instalações onde este está localizado e o registo de uso nestas condições.

A gestão dos equipamentos implica o registo dos mesmos num inventário onde conste o código de identificação, nome do fabricante, modelo e número de série, departamento a que está associado, instruções do fabricante, planos de calibração, verificação e manutenção e respetivos registos e certificados de calibração, registo de danos e reparações, assim como outras informações relevantes do equipamento. O equipamento deve estar identificado com o seu código e estado de calibração, nomeadamente a data da última calibração e da próxima e, se necessário, indicação das restrições de uso ou indicação de “fora de serviço” (IPAC, 2010; IPQ, 2005).

#### *2.4.2.6. Rastreabilidade das medições (5.6)*

A rastreabilidade, de acordo com VIM (2012), diz respeito à propriedade de um resultado de uma medição ou o valor de um padrão, através do qual o resultado pode ser relacionado a uma referência

estabelecida, geralmente a padrões nacionais ou internacionais, por intermédio de uma cadeia e documentada de calibrações, cada uma contribuindo para a incerteza de medição (IPQ & Inmetro, 2012). Ainda segundo o mesmo documento, a cadeia de rastreabilidade é definida como a “sequência de padrões e calibrações que é usada para relacionar um resultado de medição a uma referência”. A rastreabilidade obedece a uma hierarquia metrológica de padrões (Figura 2).



**Figura 2.** Cadeia de rastreabilidade metrológica (adaptado de Barradas, 2012).

Os equipamentos utilizados em atividades sobre o âmbito da acreditação, que possam ter influência significativa na qualidade do resultado ou cuja calibração seja requerida em normas ou especificações de ensaio/calibração, devem ser calibrados antes da sua entrada a serviço. O laboratório deve comprovar a existência de um plano de calibração atualizado contendo a informação relevante (como a identificação do equipamento, entidade responsável pela calibração e periodicidade) e gerado a fim de garantir que as calibrações e medições realizadas pelo laboratório são rastreáveis ao Sistema Internacional (SI) de unidades. A calibrações externas devem ser efetuadas por laboratórios de calibração acreditadas segundo a norma ISO/IEC 17025 e as calibrações internas devem cumprir requisitos idênticos aos de um laboratório acreditado bem como estar disponíveis para serem auditadas (CALA, 2007; IPQ, 2005). Nos casos em que não é possível uma calibração nas unidades SI, devem ser utilizados matérias de referência certificados ou métodos especificados e/ou padrões consensuais claramente descritos e acordados por todas as partes interessadas. O laboratório deve ter um programa para calibração e

procedimentos de manutenção, verificação, manuseamento, transporte armazenamento dos padrões e materiais de referência, evitando a sua contaminação e protegendo a sua integrada. Os padrões de referência devem ser utilizados apenas para calibrações e os materiais de referência, sempre que possível, devem ser rastreáveis às unidades SI ou a material de referência certificado (IPAC, 2010).

#### *2.4.2.7. Amostragem (5.7)*

A amostragem refere-se à recolha representativa de itens para posterior ensaio/calibração, podendo englobar a preservação, conservação e transporte até ao laboratório. O laboratório deve elaborar um plano e procedimentos de amostragem de itens para ensaios/calibração subsequentes, onde devem constar fatores a serem controlados, com o objetivo de atestar a validade dos resultados do ensaio e calibração. Devem existir ainda procedimentos para registos de informações relativas à amostragem, como o local, o pessoal envolvido e as condições ambientais. Estes documentos devem estar acessíveis no local onde se realiza a atividade. Recomenda-se também o registo estatístico, sempre que sejam usados (IPAC, 2010; IPQ, 2005).

#### *2.4.2.8. Manuseamento dos Itens a Ensaiar ou Calibrar (5.8)*

As condições para o transporte, receção, identificação, manuseamento, armazenamento e conservação, retenção e remoção dos itens a analisar deve estar bem estabelecida em planos e procedimentos, a fim de garantir a sua integridade. Estes procedimentos devem estar disponíveis ao acesso pelos colaboradores que efetuam as atividades. Os procedimentos, instalações e condições ambientais devem estar preparados para evitar a deterioração e alteração das suas características no decorrer de todo o processo (IPAC, 2010; IPQ, 2005).

Deve ser definido um sistema de identificação dos itens a ensaios ou calibrar que ateste a sua gestão desde a entrada até à saída do laboratório e o anonimato do cliente. Quaisquer anomalias ou desvio relativos às condições de receção especificadas devem ser registadas e, se os itens não cumprirem os requisitos, o cliente deve ser informado e registada a sua decisão em prosseguir com o ensaio/calibração (IPAC, 2010; IPQ, 2005).

#### *2.4.2.9. Garantia da qualidade dos resultados de ensaio e de calibração (5.9)*

O laboratório deve planear, estabelecer e rever metodologias de controlo da qualidade, com o objetivo de monitorizar a validades das suas atividades. A monitorização e validação pode ser feita de vários modos, entre os quais:

- Utilização de material de referência certificado e/ou controlo da qualidade interna com recurso a materiais de referência secundários;
- Realização de ensaios/calibrações em replicado, utilizando os mesmos métodos ou métodos diferentes;
- Participação em ensaios interlaboratoriais;
- Novo ensaio/calibração de itens retidos;
- Correlação dos resultados e características diferentes de um mesmo item;

Os dados obtidos das ações de controlo devem ser registados e utilizados em técnicas estatísticas de análise e tendências, sempre que possível, e, quando necessário, aplicar medidas pré-definidas para correção do problema (IPAC, 2010; IPQ, 2005).

#### *2.4.2.10. Apresentação dos resultados (5.10)*

Os resultados dos ensaios/calibrações devem ser apresentados do ponto de vista técnico, de forma clara, objetiva e inequívoca para minimizar a possibilidade de incorreta interpretação e utilização dos mesmos. Os relatórios/certificados devem conter a seguinte informação:

- Título, como “Relatório de ensaio” ou “Certificado de calibração”;
- Nome e morada do laboratório, e o local onde se realizaram os ensaios/calibrações;
- Identificação do relatório de ensaio ou certificado de calibração, paginação e clara identificação do final do mesmo;
- Nome e morada do cliente;
- Identificação do método utilizado;
- Descrição, estado e identificação inequívoca d(s) item(ns) ensaiado(s) ou calibrado(s);
- Data de receção do(s) item(ns) para ensaio/calibração, sempre que tal seja essencial para a validade e utilização dos resultados;
- Data da realização do ensaio/calibração;
- Referência ao plano e aos procedimentos de amostragem utilizados pelo laboratório ou por outros organismos, quando relevante;
- Os resultados do ensaio/calibração incluindo as unidades de medição, quando aplicável;

- O(s) nome(s), função(ões) e assinatura(s) ou identificação equivalente da(s) pessoa(s) que autoriza(m) o relatório de ensaio ou certificado de calibração;
- Quando pertinente, uma declaração de que os resultados se referem apenas aos itens ensaiados/calibrados;

Os relatórios de ensaio e certificados de calibração podem ainda incluir a incerteza de medição, corretamente estimada e justificada. As opiniões e interpretações dadas pelo laboratório devem estar identificadas como tal, realçando que não constam no âmbito da acreditação. As atividades subcontratadas, assim como as fora do âmbito de acreditação devem estar devidamente assinaladas. Quando os resultados são transmitidos por via eletrónica é necessário assegurar que os requisitos da norma são atendidos. Qualquer emenda realizada no relatório/certificado obriga a emissão de um novo documento, referenciando o original que complementa ou substitui (IPAC, 2010; IPQ, 2005).

## 2.5. Laboratório de análise microbiológica a águas e alimentos

Os laboratórios de análise a águas e alimentos têm um papel importante na garantia da qualidade e segurança de águas e alimentos que chegam aos consumidores e assistem no cumprimento de regulamentação vigente.

A água é utilizada para vários fins como abastecimento doméstico e público, produção de energia elétrica e usos agrícolas e industrial. A água destinada ao consumo humano, segundo o Decreto-Lei nº306-2007, diz respeito a “toda a água no seu estado original, ou após tratamento, destinada a ser bebida, a cozinhar, à preparação de alimentos, à higiene pessoal ou a outros fins domésticos, independentemente da sua origem e de ser fornecida a partir de uma rede de distribuição, de um camião ou navio-cisterna, em garrafas ou outros recipientes, com ou sem fins comerciais;” e “toda a água utilizada numa empresa da indústria alimentar para fabrico, transformação, conservação ou comercialização de produtos ou substâncias destinados ao consumo humano, assim como a utilizada na limpeza de superfícies, objetos e materiais que podem estar em contacto com os alimentos, exceto quando a utilização dessa água não afeta a salubridade do género alimentício na sua forma acabada” (DL nº306/2007, 2007).

O controlo e monitorização da qualidade da água para consumo humano garante a sua potabilidade e o atendimento de requisitos estabelecidos e, por conseguinte, contribui para um elevado nível de proteção da saúde pública. A realização de ensaios microbiológicos na determinação da qualidade da água e no apoio ao cumprimento de regulamentação por laboratórios de ensaio com métodos de análise

acreditados para esse fim constitui uma mais valia e garantia de confiança e validade nos resultados obtidos. Além disso, o Decreto-Lei nº306/2007, de 27 de agosto, que define as características mínimas que a água destinada ao consumo humano deve deter e as competências das entidades interveniente, estabelece que os laboratórios de ensaio responsáveis pelo controlo da qualidade da água para consumo humano relativos ao cumprimento do diploma mencionado devem ter os respetivos métodos de análise acreditados. Um resultado de qualidade da análise de água requer igualmente uma amostragem eficaz. Assim, segundo do Decreto-Lei nº306/2007, a amostragem de águas de consumo humano e respetivas determinações de campo devem ser efetuadas por entidades acreditados para esse efeito. (Cadete, 2009; DL nº306/2007, 2007).

No caso dos géneros alimentícios, a análise microbiológica possibilita o controlo da qualidade, deteção de presença de microrganismos patogénicos ou de toxinas capazes de alterar ou deteriorar as características gerais do produto e causar problemas na saúde dos consumidores. Na indústria alimentar, os laboratórios de ensaio são fundamentais para a identificação de problemas em matérias-primas e nos produtos após o processo de produção e antes de serem colocados no mercado com base científica. Paralelamente, a determinação da conformidade com os regulamentos para a importação e exportação de produtos alimentares representa um outro benefício dos laboratórios de ensaio para a indústria alimentar. Sendo impraticável a análise de todos os produtos e lotes completos, tanto por razões de custo como pelo carácter destrutivo das análises, são elaborados planos de amostragem onde são definidas metodologias de recolha, frequência e designados critérios de aceitação. O regulamento (CE) nº 2073/2005 define os critérios microbiológicos aplicáveis a géneros alimentícios e, em Portugal, o Guia do INSA – Valores Guia para Avaliação da Qualidade Microbiológica de Alimentos Prontos a Comer Preparados em Estabelecimentos de Restauração, complementa os regulamentos existentes relativos a este tópico (GTOMCA - Grupo de Trabalho Ocorrência Microbiológica na Cadeia Alimentar, 2017; Reg. (CE) N°2073/2005, 2005)

Os laboratórios de ensaios são, portanto, importantes organismos de avaliação da conformidade de produtos e serviços de outros setores. É fundamental que os resultados produzidos para as análises de águas e alimentos sejam produzidos por laboratórios competentes e sejam fidedignos e creíveis. O recurso a laboratórios com métodos de ensaio acreditados garante que os resultados são obtidos com competência, imparcialidade e que o laboratório que os produz opera de acordo com práticas e normas internacionalmente aceites.

## **CAPÍTULO 3. CASO DE ESTUDO: ACREDITAÇÃO DE AMOSTRAGEM E MÉTODOS DE ENSAIO**

O processo de acreditação compreende três grandes fases, como já referido: candidatura, avaliação e decisão. Porém, antes de submissão da candidatura à concessão da acreditação, a organização deve-se preparar através da análise do referencial normativo e proceder ao diagnóstico do SGQ face ao cumprimento dos requisitos da norma NP EN ISO/IEC 17025:2005. Da fase de preparação deve resultar a identificação das necessidades do SGQ e criação de um plano de ações que respondam às necessidades constatadas.

Previamente à realização deste trabalho, a organização procedeu a uma análise do ponto de situação do laboratório em relação aos requisitos da norma NP EN ISO/IEC 17025:2005. O Laboratório CPC é certificado segundo a norma NP EN ISO 9001:2015 e apresenta um sistema de gestão de acordo com os requisitos de gestão da norma NP EN ISO/IEC 17025:2005. Apresenta também um sistema de documentação bem construído e descrito no Manual do Sistema Integrado de Gestão, onde é feita a apresentação do laboratório e estabelecida a política de qualidade e os requisitos do laboratório. As responsabilidades e autoridades, funções e requisitos mínimos estão também definidas. Deste modo, da avaliação conduzida resultou a identificação os seguintes pontos cruciais a tratar para agir em conformidade com a norma de referência:

- Atualização da documentação externa (documentos normativos);
- Estruturação, definição e documentação da atividade de amostragem de águas de consumo humano;
- Revisão dos protocolos laboratoriais dos métodos de microbiologia propostos para acreditação;
- Revisão dos critérios de incerteza;
- Revisão dos procedimentos de controlo interno da qualidade;
- Definição do programa de avaliação externa da qualidade;
- Verificação da codificação dos equipamentos;
- Revisão do plano de calibração, verificação e manutenção dos equipamentos;

Os pontos chave mencionados são, então, objeto de estudo deste trabalho. Para o tratamento destas questões procedeu-se à análise da literatura existente sobre a temática para aprofundar os conhecimentos sobre a mesma e posteriormente detetar as exigências e correções a concretizar. Sempre que necessário, foram elaborados e revistos documentos e implementadas novos procedimentos. O desenvolvimento destas atividades é descrito de seguida.

### 3.1. Atualização dos documentos normativos

O laboratório dispõe de uma base de dados onde armazena os documentos normativos e regulamentos fundamentais ao seu bom funcionamento. As normas, documentos regulamentares e guias presentes nesta base são importantes ferramentas para a realização de atividades e tarefas conforme os requisitos regulamentares em vigor, orientam na implementação de sistemas e métodos, permitem diminuir a possibilidade de erros, atender a regras técnicas e, deste modo, aumentar a credibilidade e rentabilização do laboratório. Estes são considerados documentos externos, isto é, documentos cuja emissão, revisão e alteração são realizados por uma organização externa ao laboratório, mas contém informação relevante para o SGQ e para o desempenho das atividades do laboratório.

Estes documentos estão organizados na intranet *Company Web*, acessível a todos os colaboradores. A base de dados está organizada em 7 grupos de acordo com a temática dos documentos (Tabela 2).

**Tabela 2** Divisão dos documentos normativos na *Company Web*.

Grupo	Nome
AV	Animal and vegetable fats and oils
CL	Cleanrooms and associated controlled environments
LM	Laboratory Management
MD	Milk and dairy products
ME	Meat and meat products
MF	Microbiology of food and animal feeding stuffs
WA	Water

Periodicamente, deve-se efetuar uma revisão e atualização, quando necessário, de toda a documentação existente no laboratório, assegurando a sua permanente adequação e relevância, tal como requerido no ponto 4.3 da norma NP EN ISO/IEC 17025:2005. Procedeu-se, deste modo, a um levantamento dos documentos desatualizados e obsoletos, seguindo-se a aquisição e introdução das respetivas normas vigentes. Os documentos ultrapassados foram anulados e transferidos para uma nova pasta designada de “Obsoletos”. Os dados desta tarefa são apresentados no Anexo I – Levantamento de Documentos Desatualizados na Base de Dados.

Após a atualização dos documentos normativos, foram criadas adicionalmente duas novas categorias – Análise Sensorial (AS) e Produtos da Pesca e da Aquicultura (PPA) – de modo a facilitar a pesquisa de informação. Na Tabela 3 constam as normas introduzidas nas duas novas categorias.

**Tabela 3** Normas que compõem as duas novas categorias Análise Sensorial (AS) e Produtos da Pesca e Aquicultura (PPA).

Grupo	Norma	Nome
	ISO 11035:1994	Descritores
	ISO 11036:1994	Textura
	ISO 13303:2003	<i>Flavour</i>
	ISO 22308:2005	Rolhas de cortiça
<b>AS</b>	ISO 13299:2016	Perfil sensorial
	ISO 3972:2011	Sabor
	ISO 4121:2003	Escala quantitativa
	ISO 45492:2008 / Amd 1:2006	Vocabulário
	ISO 5496:2006	Odores
<b>PPA</b>	NP 2930:2009	Teor de azoto básico volátil total – Método de Conway
	NP 4344:2002	Peso líquido e teor de água

O sistema documental atualizado, acessível e bem organizado contribui para o correto desenvolvimento das atividades laboratoriais e desempenho do SGQ.

## 3.2. Amostragem de águas de consumos

A qualidade dos resultados finais de análise de águas de consumo depende do modo de execução de todas as etapas do processo, incluindo da amostragem. O planeamento, colheita de águas, transporte para o laboratório e condições até ao início do ensaio são de extrema importância, já que condicionam o resultado e a sua interpretação.

A amostragem de águas de consumo deve ser adequada ao objetivo dos ensaios, baseando-se em planos e procedimentos que atendam os requisitos do cliente e órgãos regulamentares.

O Laboratório CPC efetua a colheita das amostras de águas de consumo em torneira, superfície e profundidade para análise de parâmetros microbiológicos, para análise de parâmetros de chumbo, cobre e níquel, para análise de parâmetros físico-químicos e radioativos e determinações em campo, como temperatura, cloro residual disponível e pH.

Relativamente à atividade de amostragem, o Laboratório CPC tem um “Boletim de Registo de Recolha de Amostras de Águas de Consumo”, que acompanha o técnico aquando da recolha. O procedimento laboratorial sobre a análise de *Legionella* engloba também as condições específicas da recolha de água para este fim. É ainda feito um controlo dos recipientes para recolha de água para análise microbiológica a nível da esterilidade e da presença do inibidor de cloro, o tiosulfato de sódio, de acordo com o procedimento laboratorial “Controlo de Recipientes de Microbiologia”. Não existem quaisquer outros documentos que regulamentam internamente a atividade de colheita de águas de consumo.

Nesta tarefa procurou-se, principalmente, estabelecer procedimentos para a uniformização e controlo da atividade de amostragem, bem como evidências da mesma.

Foram analisadas as várias normas, regulamentos e guias relacionados com a colheita de amostras de águas destinadas ao consumo humano de forma a perceber quais os requisitos a cumprir para a correta execução desta atividade e, subseqüente, possível candidatura à acreditação.

### 3.2.1. Identificação e análise dos requisitos para acreditação da amostragem de águas de consumo

Da análise dos documentos relacionados com a amostragem, foi organizada a informação principal numa tabela, incluída em anexos (Anexo II – Requisitos para amostragem), onde constam os requisitos da amostragem e breve descrição dos mesmos, os respetivos documentos normativos que identificam a necessidade de tais requisitos, os documentos de suporte e evidências, e observações, quando

aplicáveis. A tabela consiste numa análise final e global, após a elaboração das tarefas possíveis para o cumprimento de tais exigências e, por isso, é também incluída uma avaliação da conformidade do laboratório com os requisitos.

Face à identificação das exigências relativas à amostragem, foram elaborados os seguintes procedimentos de forma a as cumprir (Tabela 4).

**Tabela 4** Documentos elaborados para a atividade de amostragem.

Tipo de documento	Nome
Manual	Manual de Amostragem de Água para Consumo Humano
Procedimento da Qualidade	Controlo da Qualidade da Amostragem de Água para Consumo Humano
Folha de Cálculo	Estimativa da Incerteza de Amostragem de Água para Consumo Humano

O Manual de Amostragem de Água para Consumo Humano estabelece os procedimentos de planeamento e colheita de amostras de diferentes tipos de água para análise de parâmetros físico-químicos, radioativos e microbiológicos. O manual está organizado em 14 capítulos e 3 anexos. Após a descrição do âmbito e enumeração das referências bibliográficas utilizadas, é dada uma breve explicação sobre a atividade de amostragem. O documento inclui uma listagem dos equipamentos e reagentes necessários para a colheita de amostras de águas, bem como as especificações dos recipientes para cada caso específicos (recipientes para colheita de amostras de água para posterior análise de parâmetros microbiológicos e para posterior análise de parâmetros físico-químicos).

No capítulo relativo aos procedimentos de amostragem são descritos os procedimentos de colheita de amostras de água em pontos de amostragem localizados na ETA, reservatórios, rede de adução ou rede de distribuição, colheita de amostras de água na torneira do consumidor, colheita de águas subterrâneas com bomba à superfície e em profundidade com dispositivo de mergulho. A descrição dos ensaios de campo compreende a determinação de cloro residual e cloro total, oxigénio dissolvido, pH, temperatura, condutividade e turvação. Estes parâmetros devem ser preferencialmente realizados no próprio local de colheita devido aos prazos de conservação da amostra. O manual estabelece medidas de boas práticas para a correta execução da operação e fiabilidade dos resultados finais e retrata ainda as condições de manuseamento e preservação de amostras, transporte, armazenamento e receção das mesmas. O caso

de subcontratação de ensaios a um outro laboratório está definido no manual, onde são especificadas a forma como tanto o laboratório contratante como o subcontrato devem proceder.

Em anexo, no manual, é apresentada a folha de registo da amostragem onde devem ser preenchidas as informações relativas à identificação da amostra e cliente, local, data e hora de recolha, origem da água, tratamento, quando aplicável, discriminação dos parâmetros a analisar e dados dos ensaios de campos. O boletim tem uma secção para o técnico preencher com observações relevantes à colheita, quando necessário. O Anexo II do manual apresenta os reagentes de conservação e o Anexo III inclui o tipo de recipiente, método de conservação, se aplicável, o tempo e temperatura máximo e aceitável de armazenamento, incluindo o transporte para cada parâmetro físico-químico e microbiológico efetuado pelo laboratório. Tal como todos os documentos internos do Laboratório CPC, está armazenado na intranet *Company Web* e acessível aos colaboradores.

Como o manual de amostragem acompanha o técnico na colheita, servindo de instrumento de apoio à execução da atividade, as informações relativas ao controlo da qualidade foram agrupadas num outro documento designado de “Controlo da Qualidade da Amostragem de Água para Consumo Humano”. Tal como requerido na norma NP EN ISO/IEC 17025:2005, o laboratório deve estabelecer medidas de garantia da qualidade. No que diz respeito ao controlo da qualidade, são já aplicados os controlos de teste de esterilidade e teste da presença de tiosulfato. Os controlos internos e externos necessários estão explicados e definidos no documento elaborado “Controlo da Qualidade da Amostragem”, a fim de serem implementados pelo laboratório. As técnicas de controlo interno da qualidade incluem:

- Brancos de amostragem;
- Replicados;
- *Spike* de amostragem;
- Teste de esterilidade de frascos de colheita (apenas para parâmetros microbiológicos);
- Controlo de resíduos inibidores (apenas para parâmetros microbiológicos);
- Estimativa da incerteza (apenas para parâmetros microbiológicos);

A estimativa da incerteza da amostragem tem por base uma metodologia bastante simplista, através de uma abordagem empírica, descrita no Guia Relacre 28 – Amostragem de Águas (Relacre, 2017). A estimativa da incerteza da amostragem tem como objetivo inferir sobre o desempenho do processo de amostragem e o seu contributo para a incerteza global da medição. A incerteza total é o resultado da incerteza associada às etapas de amostragem e incerteza de todas as etapas da análise realizado à

amostra. O Laboratório CPC estima incerteza dos ensaios microbiológicos em águas aplicando uma abordagem global, abrangendo todas as variantes dos métodos, porém esta abordagem não tem em conta a variância pré-analítica da amostragem.

A incerteza deve-se à componente da precisão e componente de erros sistemáticos, tanto da amostragem como da análise. Os erros sistemáticos, que advêm da heterogeneidade dos pontos de amostragem, são difíceis de quantificar, mas podem ser minimizados e corrigidos pela:

- Seleção de métodos de amostragem apropriados às características do ponto de amostragem;
- Aumento do tamanho da amostra;
- Boa homogeneização;
- Condições de conservação e transporte que minimizem as alterações da amostra.

Os erros aleatórios não podem ser corrigidos, pois são causados por variações na composição da amostra em termos espaciais e/ou temporais, pelos equipamentos, métodos de colheita e manipulação da amostra, mas podem ser minimizados. Algumas das medidas utilizadas para diminuir os erros sistemáticos, como o aumento do tamanho da amostra, servem igualmente para minimizar os erros aleatórios. Os erros aleatórios podem, ao contrário dos erros sistemáticos, ser quantificados.

O cálculo da incerteza da amostragem, em particular a componente dos erros aleatórios, consiste em recolher, no mesmo ponto de colheita, duas amostras e efetuar a análise em duplicado para cada amostra. A estimativa da incerteza deve ser efetuada com os dados de, pelo menos, 10 pontos de amostragem, inseridos na folha de cálculo elaborada para o efeito.

Relativamente ao controlo externo da qualidade pela participação em ensaios interlaboratoriais, conforme o requisito 5.9 da NP EN ISO/IEC 17025:2005, este está dependente da existência de esquemas adequados (IPAC, 2009; IPQ, 2005).

Os requisitos identificados para a atividade de amostragem são abrangidos e definidos nos documentos mencionados e/ou no software *LabGest*, com exceção do treino do técnico de colheita. Para a correta execução da recolha de águas, os técnicos devem receber treino formal e determinada a sua competência. O treino, seleção e monitorização da competência dos técnicos de colheita de água deve ser registada e bem documentada. Os técnicos do Laboratório CPC têm conhecimentos sobre ao processo de colheita, contudo não existem evidências de treino formal específico fornecido aos técnicos

nem metodologias definidas para avaliação da sua competência. O cumprimento deste parâmetro fica à responsabilidade da gestão, que deve procurar:

- Fornecer o treino apropriado aos técnicos de recolha;
- Registrar ação de formação;
- Definir uma matriz de competências a avaliar;
- Avaliar a eficácia da formação;
- Avaliar a satisfação dos técnicos;
- Estabelecer um programa de formação, avaliação e monitorização da capacidade para a colheita de águas de consumo.

Em suma, a implementação dos documentos elaborados, assim como dos procedimentos já existentes e cumprimento dos requisitos em falta, especialmente, os relativos à formação dos técnicos de colheita, contribuem para a eficácia da amostragem, eliminação de falhas e subjetividades e, conseqüentemente, permitem a obtenção de um resultado analítico fidedigno.

### **3.3. Revisão dos procedimentos laboratoriais dos métodos de ensaio de microbiologia**

De acordo com o requisito 5.4 do referencial normativo NP EN ISO/IEC 17025:2005, o laboratório deve utilizar métodos de ensaio que atendam às necessidades do cliente e apropriados aos respetivos ensaios, podendo estes ser métodos normalizados ou não normalizados.

Os métodos de ensaio que o Laboratório CPC pretende acreditar são baseados em normas de referência internacionais (normas ISO), tal como ilustrado na Tabela 5.

Os métodos de ensaio estão descritos pormenorizadamente em Procedimentos Laboratoriais, armazenados na intranet *Company Web* e acessíveis aos colaboradores. Todos os procedimentos laboratoriais elaborados apresentam a mesma estrutura, definida no modelo Mod.002 Ed.1 e contemplam todas as etapas do processo, desde a preparação dos meios e reagentes necessários, execução dos ensaios e determinação dos resultados. Os documentos são aprovados eletronicamente e válidos somente no momento da impressão. São identificados com o nome, número e data de emissão e incluem ainda paginação e resumo das alterações ocorridas.

Tabela 5 Métodos realizados pelo Laboratório CPC a acreditar.

Matriz	Parâmetro	Método
Alimentos	Contagem de colónias a 30 °C	ISO 4833-1:2013
	Pesquisa de <i>Salmonella spp.</i>	ISO 6579-1:2017
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	ISO 16649-2:2001
Águas	Contagem de microrganismos a 22 °C	ISO 6222:1999
	Contagem de microrganismos a 36 °C	ISO 6222:1999
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	ISO 9308-1:2014/Amd 1:2016
	Contagem de coliformes	ISO 9308-1:2014/Amd-1:2016

De modo a garantir que os métodos aplicados estão em conformidade com as respetivas normas de referência, procedeu-se à revisão dos mesmos. As principais constatações obtidas da revisão dos protocolos laboratoriais e correções efetuadas são descritas nos tópicos seguintes.

### 3.3.1. Contagem de colónias a 30 °C

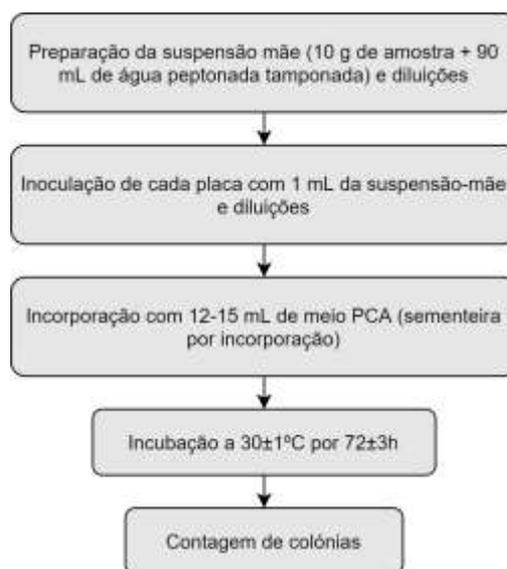
O laboratório aplica o método normalizado descrito na norma ISO 4833-1:2013 para a contagem de colónias a 30 °C em produtos alimentares por incorporação do produto inicial ou da suspensão-mãe e das respetivas diluições num meio de cultura *Plate Count Agar* (PCA). Este parâmetro estima a população microbiana total do alimento, sem identificar os tipos de microrganismos presentes. O esquema geral do procedimento é ilustrado na Figura 3.

Da revisão do procedimento laboratorial desta atividade, verificou-se a necessidade de corrigir pequenos aspetos do procedimento de forma a ser executado em conformidade com o documento de referência. As principais alterações, mencionadas de seguida, são especialmente relativas ao intervalo de temperatura e período de tempo a que o meio deve ser armazenado:

- Indicação de que a quantidade do ingrediente agar a adicionar na preparação de meio PCA depende da força do gel (deverá ser entre 9 a 18 g de agar);
- Clarificação do procedimento de preparação do meio de cultura PCA – para dissolução dos componentes ou meio completo desidrato em água destilada, deve-se agitar vigorosamente e,

se necessário, aquecer, deixando em repouso alguns minutos, antes do ajuste do pH e esterilização em autoclave;

- Adição das condições de armazenamento do meio PCA e validade máxima – no escuro, a 5 °C ± 3 °C até 3 meses;
- Indicação do período máximo de tempo que os meios fundidos podem ser mantidos no banho de água à temperatura indicada antes de serem rejeitados – até 4 h de 44 °C a 47 °C;



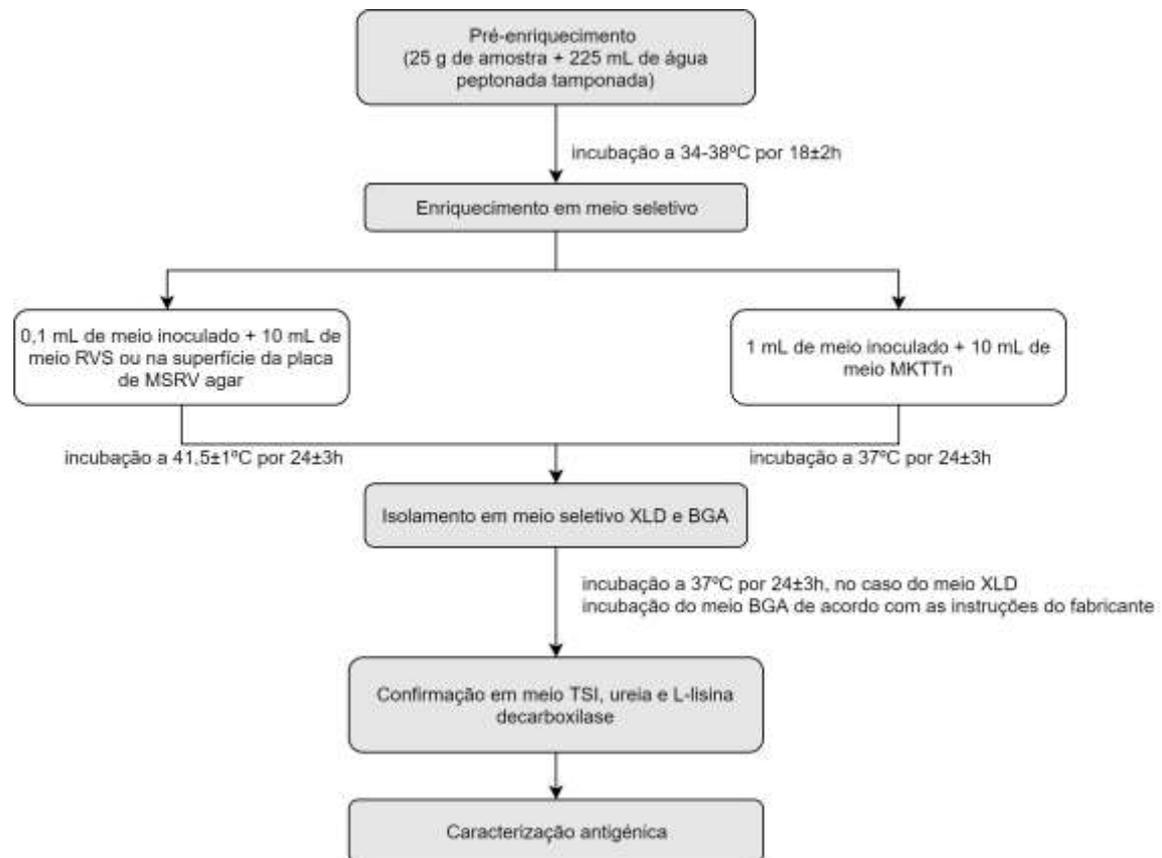
**Figura 3.** Fluxograma do procedimento para a contagem a 30 °C de microrganismos em produtos alimentares.

### 3.3.2. Pesquisa de *Salmonella spp.*

A pesquisa de *Salmonella spp.* em produtos alimentares é feita com base no método horizontal descrito na norma ISO 6579-1, revista e atualizada em 2017.

O método para pesquisa de *Salmonella spp.* está representado, sucintamente, na Figura 4, de acordo com a norma atualizada e em vigor. A pesquisa do microrganismo pode ser dividida em 4 etapas principais: pré-enriquecimento, enriquecimento, seleção e detecção (confirmação e caracterização antigénica). Após o pré-enriquecimento, segue-se a etapa de enriquecimento com dois meios seletivos diferentes devido à variação de resistência da *Salmonella spp.* aos agentes seletivos. O isolamento é efetuado em meios de cultura seletivos baseados na incapacidade da maioria das estirpes de *Salmonella* em fermentar lactose e sacarose, bem como na capacidade de produção de gás sulfídrico. O meio XLD (agar xilose lisina desoxicolato) permite diferenciar *Salmonella spp.* através da produção de ácido

sulfídrico enquanto o meio BGA (agar verde brilhante) baseia-se nas propriedades de fermentação de lactose e sacarose. As colónias presuntivas são depois confirmadas através de uma série de testes bioquímicos e caracterização antigénica.



**Figura 4.** Fluxograma do procedimento para a pesquisa de *Salmonella spp.*

Dada a recente atualização da norma, foi necessário transitar o procedimento laboratorial para a nova norma. A nova versão apresenta um aprimoramento de algumas etapas do processo pela remoção da informação desnecessária ou tornando-a opcional, bem como a clarificação de alguns pontos. De seguida, relatam-se as alterações efetuadas ao protocolo laboratorial:

- Adição e correção das condições de armazenamento dos meios e soluções necessários ao ensaio;
- Correção da temperatura do banho de água para o meio agar nutritivo e da temperatura da estufa para secagem das placas contendo este meio;
- Remoção do procedimento para a preparação do reagente para a reação Voges-Proskauer (VP) e remoção da etapa referente à reação VP – o reagente, na antiga versão da norma, era utilizado

num dos vários testes bioquímicos para a confirmação de colónias suspeitas. Porém, a versão atualizada da norma não conta com a realização deste;

- Adição do procedimento de preparação do meio Modified Semi-Soli Rappaporty-Vassiliadis (MSRV) agar – introdução de um novo meio de cultura como alternativa ao primeiro meio de enriquecimento seletivo Rappaport-Vassiliadis com soja (RSV). O laboratório pode optar por qualquer um dos meios. Na descrição do procedimento foi também retratado o modo a proceder quando o meio MSRV agar é utilizado;
- Clarificação do procedimento de preparação do meio de Muller-Kauffmann tetrionato-novobiocina (MKTTn) – necessário tomar as precauções necessárias na etapa de dissolução dos componentes do meio em água de forma a evitar o sobreaquecimento;
- Clarificação das etapas de enriquecimento em meio seletivo, plaqueamento e identificação, confirmação da identidade e da etapa de interpretação dos testes de aglutinação para caracterização antigénica;
- Identificação dos testes bioquímicos opcionais – os testes de deteção de  $\beta$ -galactosidade, reação de índole são agora opcionais. Os testes bioquímicos em meio TSI, meio de ureia e meio L-Lisina decarboxilase são de carácter obrigatório;
- Adição de tabela atualizada para a interpretação dos testes bioquímicos;

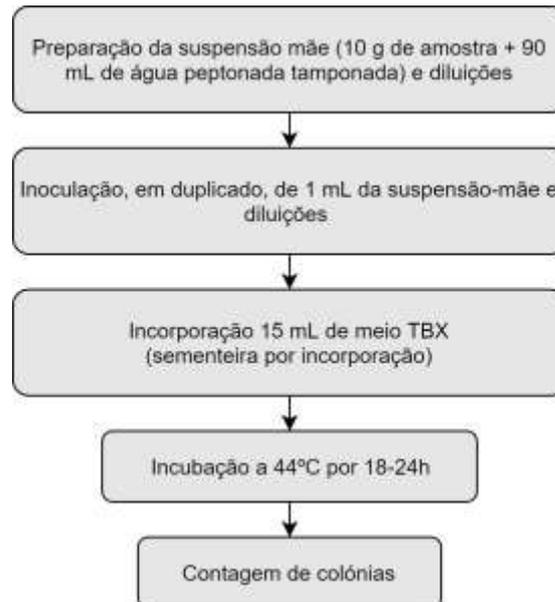
### 3.3.3. Contagem de *Escherichia coli*

O laboratório tem implementado o método referido na norma ISO 16649-2:2001 para a contagem de *Escherichia coli*  $\beta$ -glucuronidase positiva em produtos alimentares. O microrganismo é indicador de contaminação fecal e, por isso, importante na aferição da qualidade sanitária de um alimento. O método baseia-se na incorporação do inóculo em meio Triptona Bile Glucoronídeo (TBX) e o seu procedimento é apresentado na figura seguinte (Figura 5).

A norma está em vigor, encontrando-se atualmente em revisão. Ainda assim, da inspeção ao procedimento laboratorial foram realizadas algumas emendas:

- Adição da temperatura do banho de água para arrefecer e manter os meios de cultura fundidos – o banho deve estar a uma temperatura entre 44 °C e 47 °C;

- Clarificação da etapa de preparação da sementeira – a inoculação deve ser efetuada em duplicado e as placas devem ser incubadas a 44 °C por 18 h a 24 h, não devendo exceder o tempo máximo de 24 h.
- Descrição do procedimento a executar no caso de se suspeitar a presença de células em stress – incubar por um período inicial de 4 h a 37 °C e, de seguida, aumentar a temperatura para 44 °C por 18 h a 24 h. A temperatura de incubação não deve exceder os 45 °C;

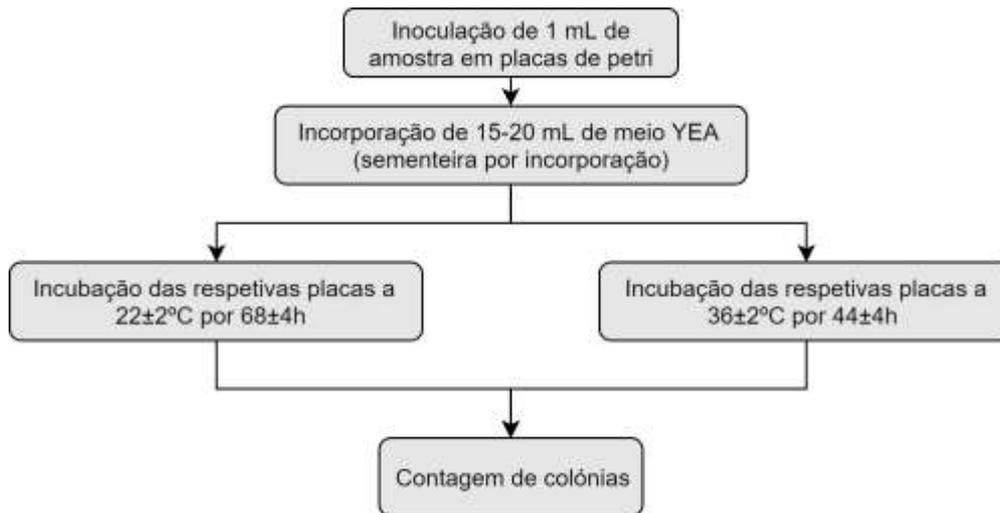


**Figura 5.** Fluxograma do procedimento para a contagem de *Escherichia coli* em produtos alimentares.

#### 3.3.4. Contagem de microrganismos a 22 °C e a 36 °C

A contagem de microrganismos em águas potáveis a 22 °C e a 36 °C segue o mesmo princípio – sementeira por incorporação em meio de cultura apropriado – diferenciando-se apenas na temperatura de incubação das placas. O método aplicado pelo Laboratório CPC consiste no procedimento detalhado na norma ISO 6222-1999, esquematizado na Figura 6.

O procedimento do Laboratório CPC está em conformidade com o descrito na norma, não tendo sido efetuadas correções para além da adição da informação relativa à preparação do diluente água peptonada tamponada, que deve ser feita de acordo com as instruções do fabricante, e especificação do intervalo de temperatura do banho de água (44 °C a 47 °C), que se encontrava em falta.



**Figura 6.** Fluxograma do procedimento para a contagem de microrganismos a 22 °C e 36 °C em águas.

### 3.3.5. Contagem de *Escherichia coli* e de coliformes

A contagem de *Escherichia coli* e de coliformes em águas de consumo é baseada na mesma metodologia. O método utilizado pelo Laboratório CPC para a pesquisa e quantificação de *Escherichia coli* e coliformes passa pela filtração de uma porção da amostra, através de uma membrana de filtração, incubação da membrana em meio seletivo Lactose TTC agar e subsequente caracterização bioquímica, de acordo com a norma ISO 9308-1:2000. Porém, a última versão da norma, ISO 9308-1:2014/Amd 1:2016, exclui a utilização do meio TTC, indicando antes a recurso ao meio de CHROMAagar (CCA). O meio CCA detém dois substratos cromogénicos hidrolisáveis que possibilitam a deteção simultânea de enzimas específicas,  $\beta$ -D-galactosidase e  $\beta$ -D-glucuronidase, originando colónias de cor distintas. A ação da  $\beta$ -D-galactosidase, característica das bactérias coliformes, origina colónias cor rosa a vermelha, e a ação da  $\beta$ -D-glucuronidase, expressa por bactérias *Escherichia coli*, resulta em colónias azuis. De forma a evitar falsos positivos, após as etapas de filtração, incubação e contagem das colónias representativas de bactérias coliformes e *Escherichia coli*, é realizado um teste da oxidase para confirmação de que as colónias  $\beta$ -D-galactosidase são oxidase-negativa (propriedade das bactérias coliformes). O procedimento geral do método de contagem de *Escherichia coli* e de coliformes é exposto na Figura 7.

Da revisão do procedimento laboratorial, derivaram as seguintes alterações:

- Indicação da norma de referência revista e em vigor;
- Remoção da definição “bactéria lactose positiva” – já não se aplica ao âmbito do atual procedimento;



**Figura 7.** Fluxograma do procedimento para a contagem de *Escherichia coli* e coliformes em águas.

- Correção das definições “bactéria coliforme” e “*Escherichia coli*” tem em conta a propriedade de expressão de  $\beta$ -D-galactosidase e  $\beta$ -D-glucuronidase – as bactérias coliformes expressam  $\beta$ -D-galactosidase e as bactérias *Escherichia coli*, expressam, para além desta,  $\beta$ -D-glucuronidase;
- Modificação do princípio do método – filtração de uma porção de amostra, através de uma membrana de filtração que retém os microrganismos, e incubação da membrana em meio CCA. Contagem das colónias  $\beta$ -D-galactosidase positiva como presuntivas de coliforme e contagem de  $\beta$ -D-galactosidase e  $\beta$ -D-glucuronidase positivas como *Escherichia coli*;
- Correção da lista de reagentes – exclusão dos reagentes utilizados no procedimento com meio TTC;
- Remoção de todos os tópicos relativos à utilização do meio TTC;
- Descrição, com maior detalhe, do procedimento com recurso ao meio CCA – correção do período de incubação das placas (21 a 24 h) e indicação da necessidade de realizar o teste de oxidase para confirmação que as colónias presuntivas coliformes não *Escherichia coli*; (colónias violeta identificadas no meio CCA). Devem ser testadas pelo menos 10 colónias, sendo adequado o

recurso a testes comerciais. Na impossibilidade de utilizar testes comerciais, é descrito um procedimento alternativo;

- Atualização do modo de expressão dos resultados –expressar os resultados em UFC/mL para cada temperatura e calcular o número de bactérias coliformes e *Escherichia coli*, presentes em 100 mL de amostra (ou no volume filtrado) de acordo com a norma ISO 8199 – a versão em vigor, de 2005, encontra-se sob revisão e será substituída pela norma ISO/FDIS 8199. O número de bactérias coliformes é a soma de todas as colónias oxidase negativas de cor rosa/vermelho e todas colónias azul-escuras. O número de *Escherichia coli*, é dado pelo número de colónias azul escuras identificadas no meio CCA.

### 3.3.6. Estado das alterações propostas

As alterações efetuadas nos procedimentos laboratoriais foram analisadas e validadas pelo pessoal responsável, inseridos na intranet *Company Web*, com detalhe das modificações ocorridas e da data das mesmas. As modificações foram prontamente implementadas pelo laboratório.

## 3.4. Implementação e validação de métodos de ensaio

Os métodos utilizados pelo Laboratório CPC, descritos em procedimentos laboratoriais tal como nas normas de referências, devem ter a sua qualidade evidenciada, iniciando-se na avaliação da conformidade das características do método com as especificações descritas nos respetivos documentos normativos.

A implementação e validação de um método consiste na sistematização e confirmação, através de evidências objetivas, de que o método cumpre todos os requisitos e é adequado à finalidade e âmbito de aplicação. A implementação e validação deve ocorrer sempre que é necessário introduzir um novo ensaio no laboratório e quando surge uma modificação de métodos normalizados e já validados.

No requisito 5.4.5 da norma NP EN ISO/IEC 17025:2005 é referido que o laboratório deve confirmar que é capaz de utilizar devidamente métodos normalizados, antes de o colocar em rotina e que, se este for modificado, a confirmação deve ser repetida. Também no Guia Eurachem é mencionado que, mesmo utilizando um método normalizado, este não pode ser tomado como garantia de resultados de qualidade sem antes do seu uso em rotina se efetuar uma verificação do modo de execução. Embora os métodos

normalizados sejam validados, o laboratório tem de provar que consegue desempenhar o método conforme as características descritas na norma de referência (EURACHEM, 2013; IPQ, 2005). Certas características não diferem de laboratório para laboratório e, por isso, não é necessário efetuar a sua verificação, enquanto outras são específicas do laboratório e devem ser determinadas para garantir que o método implementado cumpre os parâmetros da validação. Em alguns guias, a validação de métodos normalizados é definida como validação secundária ou verificação (Sanas, 2014).

O Laboratório CPC possui dois documentos internos que definem a metodologia de implementação e validação de métodos, elaborados tendo como base a norma NP EN ISO/IEC 17025:2005 e os diversos documentos regulamentares (Tabela 6).

**Tabela 6** Documentos associados à implementação e validação de métodos de ensaio.

Tipo de documento	Nome
Procedimento Laboratorial	VM – Validação de Métodos
Procedimento Laboratorial	PIM01 – Procedimento de Implementação de Métodos Analíticos em Microbiologia
Documento Modelo	Relatório de Validação do Método

O primeiro documento (VM) estabelece as metodologias gerais para a validação de métodos de análise, enquanto o segundo documento (PIM01) descreve as etapas associadas à implementação e validação de métodos em microbiologia, tendo em atenção a documentação necessária para os ensaios que estejam ou previsivelmente venham a estar no âmbito da acreditação.

Da revisão dos documentos “VM – Validação de Métodos” não resultaram correções. Segundo o documento, a validação de um método requer a elaboração de cartas guias, determinação da incerteza, precisão do método e ainda validação dos meios através da seletividade e produtividade, quando aplicável. No caso do documento “PIM01 – Procedimento de Implementação de Métodos Analíticos em Microbiologia”, foram feitas correções ao nível da estruturação e adição de informações importantes. O documento não previa a necessidade de verificação do desempenho de métodos de ensaio normalizados e para a implementação de métodos alternativos não normalizados foram indicadas normas a consultar para definição de um programa de implementação e validação adequado a cada caso específico. As características de desempenho a avaliar na validação de métodos não normalizados quantitativos e qualitativos e também em métodos normalizados foram adicionadas ao documento e apresentadas na

Tabela 7. A tabela foi elaborada com base no guia “How to Meet ISO 17025 Requirements for Method Verification”, produzido por Analytical Laboratory Accreditation Criteria Committee (ALACC) a pedido de AOAC Technical Division for Laboratory Management (TDLM). Não obstante, a validação deve ser adaptada a cada caso específico (Weitzel, Lee, Smoot, Viafara, & Brodsky, 2007).

Da revisão dos métodos de ensaios de microbiologia, os métodos de Pesquisa de *Salmonella spp.* em produtos alimentares e Contagem *Escherichia coli* e coliformes em águas de consumo sofreram modificações significativas nas suas características e, por isso, é necessário efetuar a revalidação dos mesmos. Como os métodos de ensaio em questão são métodos normalizados, o processo não tem de ser exaustivo e o laboratório tem apenas de demonstrar competência no desempenho do método conforme as suas especificações e características. Aplicando os procedimentos descritos nos documentos internos, o Laboratório CPC deve realizar as seguintes operações para a revalidação dos métodos (Tabela 8).

Dada a natureza qualitativa do ensaio de pesquisa de *Salmonella spp.*, não é possível construir cartas guias, verificar a precisão (repetibilidade e reprodutibilidade) nem estimar a incerteza da medição.

Os procedimentos para a realização dos parâmetros mencionados são descritos no documento “PQ011 – Cálculos da Qualidade”. Neste documento foram efetuadas correções, nomeadamente no cálculo da estimativa da incerteza, segundo as normas atualmente em vigor. No ponto 3.5. é abordado com maior atenção este tópico. Foi também necessário adicionar o procedimento para a determinação da seletividade que se encontrava em falta, determinada na validação de métodos não normalizados. A seletividade de um meio de cultura consiste no grau de inibição do microrganismo não alvo num meio de cultura seletivo sob condições definidas.

O meio de cultura seletivo em estudo e um meio de cultura não seletivo de referência são inoculados com diferentes diluições de organismo(s) não alvo. O fator de seletividade, SF, é dado pela seguinte equação:

$$S_F = D_O - D_S \text{ (equação 1)}$$

Onde,

$D_o$  é a maior diluição com crescimento no meio de cultura não seletivo de referência;

$D_s$  é a maior diluição com crescimento comparável no meio de cultura seletivo em estudo.

**Tabela 7** Características de desempenho a avaliar na validação de métodos de ensaio.

Característica de desempenho	Método não normalizado		Método normalizado (quando aplicável)
	Quantitativo	Qualitativo	
Exatidão relativa	✓	X	X
Efeitos da matriz	✓	✓	✓
Precisão (repetibilidade e reprodutibilidade)	✓	X	✓
Seletividade	✓	✓	X
Especificidade	✓	✓	X
Inclusividade	✓	✓	X
Exclusividade	✓	✓	X
Taxa de falsos positivos	✓	✓	X
Taxa de falsos negativos	✓	✓	X
Limite de deteção	✓	✓	X
Limite de determinação	✓	X	X
Robustez	✓	✓	X
Linearidade /Gama	✓	X	X
Estimativa da incerteza	✓	X	✓
Cartas Guia	✓	X	✓
Ensaio interlaboratoriais	✓	✓	✓

Os dados respeitantes à implementação, validação ou revalidação do método são registados e documentados num Relatório de Validação do Método. O modelo para o registo de dados da validação já existia, porém foi atualizado no sentido de incluir a também as informações relativas carta guia e ensaios interlaboratoriais.

**Tabela 8** Parâmetros de revalidação dos métodos de ensaio de microbiologia de Contagem de *Escherichia coli* e coliformes e Pesquisa de *Salmonella spp.*

Parâmetro	Contagem de <i>Escherichia coli</i> e coliformes	Pesquisa de <i>Salmonella spp.</i>
Carta Guia	✓	X
Estimativa da Incerteza	✓	X
Repetibilidade	✓	X
Reprodutibilidade	✓	X
Participação em ensaios interlaboratoriais	✓	✓

Para além do estudo dos parâmetros aquando da implementação do método, o laboratório deve estabelecer medidas que assegurem que os procedimentos de medição continuam estatisticamente controlados e suportem a sua validação.

### 3.5. Estimativa da incerteza da medição

A estimativa da incerteza dos resultados é um requisito da NP EN ISO/IEC 17025:2005 (requisito 5.4.6), excetuando nos casos em que os resultados sejam qualitativos ou semi-quantitativos. A estimativa da incerteza da medição pode ser obtida por inúmeras abordagens, desde que adequadas ao método em questão.

O Laboratório CPC mantém as metodologias para a estimativa da incerteza e as fórmulas de cálculo definidas no documento interno “PQ011 – Cálculos da Qualidade”, com base nas normas de referência. Os documentos internos do CP Laboratório referentes à estimativa da incerteza estão listados na Tabela 9. A estimativa da incerteza é determinada para cada método e é dependente do número de amostras examinadas. Importante referir que a estimativa da incerteza serve para avaliar a confiança a atribuir aos resultados dos ensaios e não a competência do laboratório (IPAC, 2006; Relacre, 2016).

Com o objetivo de efetuar a correta revisão dos documentos e procedimentos relativos à estimativa da incerteza de medição dos métodos de ensaio a acreditar, inicialmente foi feita uma análise e estudo das normas e regulamentos de referência.

**Tabela 9** Documentos associados à estimativa da incerteza.

Tipo de documento	Nome
Procedimento da Qualidade	PQ011 – Cálculos da Qualidade
Folha de cálculo	Estimativa da Incerteza – Águas
Folha de cálculo	Estimativa da Incerteza – Alimentos

### 3.5.1. Análise dos documentos normativos associados à estimativa da incerteza

A incerteza da medição dos métodos de microbiologia alimentar é estimada com base na norma ISO/TS 19036:2006 e a estimativa incerteza dos métodos de microbiologia de águas é obtida de acordo com o referencial normativo ISO 29201:2012. O “Guia Relacre 6 – Acreditação de Laboratórios de Ensaios Microbiológicos” apresenta também orientações gerais sobre a determinação da incerteza de medição e o “Guia Relacre 29 – Estimativa de Incerteza em Ensaios Microbiológicos de Águas” consiste num guia interpretativo da norma ISO 29201:2012 (ISO, 2006a, 2012a; Relacre, 2007).

De acordo com o Guia Relacre 6, os ensaios microbiológicos, devido à sua natureza, não permitem o cálculo rigoroso, metrológica e estaticamente, da incerteza de medição. Em microbiologia, para métodos quantitativos, a estimativa da incerteza é feita por abordagem global, isto é, assenta na variabilidade total de todo o processo, incluindo a componente de efeitos sistemáticos (*bias*) e a componente de efeitos aleatórios (precisão). Contudo, em termos práticos, em microbiologia, apenas a precisão é tida em consideração na estimativa da incerteza (Relacre, 2016).

As condições de análise para a estimativa da incerteza devem ser tão diferentes quanto possível e incluir tantas variáveis quantas possam ser encontradas no dia-a-dia de um laboratório, em termos de técnicos, lotes de meios de culturas, reagentes e equipamentos. Assim, por cada amostra, dois operadores diferentes tomam uma porção da mesma amostra (ou da sua diluição) e analisam uma vez. As condições de ensaio para a estimativa da incerteza são estipuladas na Tabela 10.

O valor da incerteza deve ser atualizado anualmente com os dados obtidos experimentalmente.

**Tabela 10** Condições de realização dos ensaios para a estimativa da incerteza.

Condições de ensaio
Mesmo Laboratório
Diferentes operadores
Diferentes equipamentos nos casos em que existem mais para o mesmo fim
Reagentes e meios de cultura de diferentes lotes
Em diferentes alturas do dia (se possível)
A mesma amostra

*3.5.1.1. Estimativa da incerteza para ensaio de microbiologia de alimentos – ISO/TS 19036:2006*

A estimativa da incerteza dos ensaios a produtos alimentares é obtida com base no referencial normativo ISO/TS 19036:2006, que adota uma abordagem global, tal como explicado anteriormente. O procedimento descrito nesta norma destina-se a métodos de ensaio quantitativos de produtos para consumo humano ou alimentação animal e amostras ambientais na área de produção alimentar e manuseamento de alimentos. No entanto, não se aplica a métodos de enumeração pela técnica de número mais provável e análises com baixo nível de microrganismos. Considera-se que o nível de microrganismos é baixo quando o número de unidades formadoras de colónias (ufc) é menor que 10 numa placa.

Devem ser efetivados, no mínimo, 10 ensaios ( $n=10$ ), cujo número de unidades formadoras de colónias seja superior a 10, para cada método, nas condições mencionadas na Tabela 10. Esta metodologia permite a obtenção de dados ao longo do tempo.

As amostras empregadas nos ensaios devem ser de preferência naturalmente contaminadas, dado que tal permite uma estimativa mais realista da incerteza da medição. Todavia, o mesmo nem sempre é possível, dado que na maioria das situações o nível de contaminação é baixo e, por isso, é necessário em alguns casos recorrer a amostras contaminadas artificialmente.

A incerteza da medição é determinada pela estimativa experimental do desvio padrão da reprodutibilidade do resultado final do ensaio. O desvio padrão da reprodutibilidade pode ser estimado usando dados de obtidos de diferentes modos, como de ensaios interlaboratoriais, sendo ideal a determinação com os dados adquiridos em condições de intralaboratoriais. Para os cálculos, os dados em unidades formadoras

de colónias por grama ou por mililitro (ufc/g ou ufc/mL) são convertidos em logaritmos de base 10 ( $y_i$ ). Efetua-se, de seguida, o cálculo da variância da reprodutibilidade ( $S_{Ri}^2$ ) para cada amostra  $i$  de  $n$  amostras. Posteriormente, é calculado o desvio padrão da reprodutibilidade ( $S_R$ ) para a  $n$  amostras de uma dada matriz.

A estimativa da incerteza é expressa em termos de incerteza expandida ( $U$ ), com um fator de conversão  $k = 2$  para um nível de confiança de 95%. A incerteza expandida define um intervalo de valores que podem razoavelmente ser atribuídos ao mensurando. Não devem ser usados mais do que dois algarismos significativos para reportar a incerteza. As fórmulas para o cálculo destes parâmetros e expressão da estimativa da incerteza encontram-se na seguinte tabela (Tabela 11).

**Tabela 11** Fórmulas necessárias para a estimativa da incerteza de medição de ensaios de microbiologia de alimentos de acordo com a norma ISO/TS 19036:2006.

Parâmetro	Equação
Variância da reprodutibilidade	$S_{Ri}^2 = \frac{(y_{iA} - y_{iB})^2}{2}$
Desvio padrão da reprodutibilidade	$S_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n S_{Ri}^2}{n}}$
Incerteza expandida	$U = 2 \times S_R$
Expressão do resultado	$y \pm U (\log)$

Para facilitar todo o processo de estimativa da incerteza, os dados devem ser inseridos numa folha de cálculo.

### 3.5.1.2. Estimativa da incerteza para ensaios de microbiologia de águas – ISO 29201:2012

A norma ISO 29201:2012 descreve duas metodologias para a estimativa da incerteza em ensaios de microbiologia de águas: abordagem por componentes e abordagem global com uma modificação ao modelo original, o que isenta a restrição das baixas contagens. As condições de ensaio obedecem as afixadas na Tabela 10.

A metodologia descrita para a abordagem global tem em consideração duas fontes de incerteza: a incerteza do método/técnica (variância operacional) e a incerteza da distribuição, (variância intrínseca). A primeira, que é relativamente previsível, advém das várias etapas do método como diluição, inoculação,

incubação, contagem e possível confirmação dos organismos alvo. É a combinação de todas as incertezas das diversas etapas do processo. A variância intrínseca deve-se à distribuição das partículas na suspensão final, é a variação inevitável, sem uma causa. A metodologia da abordagem global descrita na ISO 19036:2006 considera a incerteza da distribuição insignificante, porém esta premissa não é adequada para os ensaios de microbiologia de águas, sendo, portanto, necessária uma alteração ao método original.

Tal como em microbiologia de alimentos, na estimativa da incerteza de ensaios de microbiologia de águas é aconselhável a utilização de amostras naturalmente contaminadas, sempre que possível. São necessários, no mínimo 30 ensaios, sendo recomendado mais. No entanto, pode-se proceder à estimativa provisória da incerteza após 10 ensaios. O procedimento e os cálculos permitem a acumulação de dados ao longo do tempo. As contagens baixas devem ser evitadas, especialmente quando o número de ensaios é reduzido, pois aumentam a imprecisão da estimativa da incerteza operacional.

Os cálculos são efetuados em escala logarítmica, com a finalidade de assegurar que o valor do parâmetro não é sensível ao nível de contaminação. A variabilidade do método (incerteza combinada,  $u_c$ ) é conseguida através da estimativa da variabilidade operacional ( $u_o^2$ ) e a variabilidade intrínseca  $u_d^2$  (equação 2).

$$u_c = \sqrt{u_o^2 + u_d^2} \text{ (equação 2)}$$

A estimativa da variabilidade intrínseca ( $u_d^2$ ) é feita assumindo que a suspensão final está bem misturada e que o número de unidades formadoras de colónias depositadas no meio de cultura da placa é o igual ao número de colónias observadas na placa. A fórmula para o seu cálculo é dada na equação 3.

$$u_d^2 = \frac{0,1886}{\bar{n}_{ci}} \text{ (equação 3),}$$

onde  $\bar{n}_{ci}$  representa a média de colónias por placa da amostra  $i$ .

Em certos métodos, é necessária uma etapa de confirmação das colónias presumíveis. Na maioria dos casos, devido ao elevado número de colónias presumíveis, é feita uma confirmação parcial, isto é, não são utilizadas todas as colónias presumíveis para confirmação, sendo antes escolhidas aleatoriamente algumas colónias presumíveis para os testes confirmatórios. A variabilidade intrínseca nos métodos onde

é efetuada etapa de confirmação parcial é obtida pela soma da variabilidade de distribuição e variabilidade da confirmação. O cálculo da variabilidade intrínseca é feito de acordo com a equação 4.

$$u_d^2 = \frac{0,1886}{n_c} + \frac{n_z - n_k}{n_k n_z} \text{ (equação 4)}$$

onde  $n_c$  representa o número de colónias presumíveis;

$n_z$  representa o número de colónias selecionadas para a confirmação;

$n_k$  representa o número de colónias confirmadas como positivas;

A variabilidade operacional ( $u_o^2$ ) é dada pela subtração dos valores de variabilidade da reprodutibilidade intralaboratorial ( $u_R^2$ ) e a variabilidade intrínseca ( $u_d^2$ ) (equação 5).

$$u_o^2 = u_R^2 - u_d^2 \text{ (equação 5)}$$

A variância nunca deve ser negativa, porém, tal pode acontecer quando esta resulta da subtração e quando as variâncias experimentais se baseiam num pequeno número de replicados. Quando tal sucede, a variância operacional deve ser considerada como zero, devendo o laboratório realizar os ensaios de maneira a aumentar as condições de variância. A variabilidade da reprodutibilidade intralaboratorial é calculada conforme a equação 6.

$$u_R^2 = \frac{(\log_{10} x_1 - \log_{10} x_2)^2}{2} \text{ (equação 6)}$$

A variabilidade operacional pode ser calculada individualmente para cada ensaio e, subsequente, cálculo da média, ou pelas médias da variabilidade da reprodutibilidade intralaboratorial e variabilidade de distribuição.

Após a obtenção dos valores da variabilidade operacional e intrínseca, é possível determinar a incerteza combinada. A estimativa da incerteza do método é expressa na forma de incerteza expandida, com um nível de confiança de 95% (equação 7).

$$U = 2 \times u_c \text{ (equação 7)}$$

### 3.5.2. Constatações e alterações efetuadas

Tendo em conta que a estimativa da incerteza se aplica a métodos quantitativos, o Laboratório CPC tem de aplicar procedimentos para este fim para os seguintes métodos, de acordo com os referenciais normativos mencionados (Tabela 12).

**Tabela 12** Norma de referência para a estimativa da incerteza dos resultados de ensaios em alimentos e águas.

Matriz	Método	Norma de referência
Alimentos	Contagem de colónias a 30 °C	ISO/TS 19036:2006
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	
Águas	Contagem de microrganismos a 22 °C	ISO 29201:2012
	Contagem de microrganismos s 36 °C	
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	
	Contagem de coliformes	

O ensaio de Pesquisa de *Salmonella spp* enquadra-se nos ensaios qualitativos e, por essa razão, o conceito de incerteza não pode ser diretamente aplicado. Ainda assim, as possíveis fontes de incerteza o método, discutidas mais à frente, devem ser controladas e medidas apropriadas de controlo da qualidade devem ser implementadas.

Da análise dos documentos e dados internos referentes à estimativa da incerteza, verificou-se que:

- Não existiam diferenças entre a metodologia descrita para a estimativa da incerteza para os ensaios em águas e alimentos – baseada no método detalhado na norma ISO/TS 19036:2006;
- As folhas de cálculo para a introdução dos dados dos ensaios em águas não estavam conforme a norma ISO 29201:2012;
- Os dados em condições de reprodutibilidade intralaboratorial (mencionados na Tabela 10) não estavam a ser utilizados para a estimativa da incerteza.

Para a resolução das incongruências referentes à estimativa da incerteza da medição, foram feitas várias alterações. Uma vez que o documento PQ011 é o documento interno que rege e determina a metodologia para a estimativa da incerteza, foi em primeiro lugar feita uma atualização deste documento com base nos princípios e cálculos nas normas ISO/TS 19036:2006 e ISO 29021:2012, tal como explicado anteriormente. Os colaboradores do laboratório tomaram conhecimento das mudanças de forma a adaptarem o trabalho laboratorial às novas condições.

Atendendo à norma ISO 29021:2012, foram elaborados dois modelos de folha cálculo para a estimativa da incerteza em ensaios de água: um para ensaios sem etapa de confirmação ou com confirmação total

e um modelo para os ensaios onde há confirmação parcial. Os modelos estão representados nas Figura 8 e Figura 9. Os ensaios de contagem de *Escherichia coli* e coliformes incluem uma etapa de confirmação parcial das colónias presumíveis, ao contrário dos ensaios dos ensaios de contagem de microrganismos a 22 °C e a 36 °C, cujo resultado final consiste no número total de colónias contadas.

Existe também um modelo de folha de cálculo para auxiliar na estimativa da incerteza de ensaios microbiológicos quantitativos em produtos alimentares, conforme as especificações da norma ISO/TS 19036:2006. Não foram, por isso, efetuadas quaisquer alterações às fórmulas de cálculo.

Procurou-se, também, identificar, de um modo geral, as possíveis fontes de incerteza na realização dos ensaios de microbiologia, enumeradas na Tabela 13.

Todas as etapas do processo, desde a recolha da amostra até a leitura e interpretação da amostra contribuem para a incerteza global do ensaio. Para além dos erros associados ao operador, equipamento e meios e reagentes necessários para a realização do ensaio, podem ainda ocorrer outros erros aleatórios. É importante que o laboratório conheça os vários fatores que intervêm na qualidade do ensaio, que minimize as fontes de incerteza e as mantenha sob controlo. No caso particular dos ensaios de microbiologia, há ainda a distribuição heterogénea dos microrganismos nas matrizes de ensaio a ter em consideração.

Os documentos atualizados foram aprovados e as suas metodologias postas em prática.

### 3.5.3. Estimativa da incerteza de medição referente ao ano de 2017

Recorrendo aos registos dos ensaios concretizados no ano de 2017, foram introduzidos os dados obtidos em condições de reprodutibilidade intralaboratorial (mencionados na Tabela 10) nas respetivas folhas de cálculo. A frequência de realização de ensaios nestas condições específicas é definida no documento interno PQ009 – Controlo da Qualidade Laboratorial. Contudo, muitas vezes as amostras apresentam um baixo nível de contaminação não sendo adequadas para o estudo da incerteza. Em 2017 foi, por esta razão, necessário recorrer a amostras artificialmente contaminadas para completar o número mínimo de ensaio para estimar a incerteza das medições. Na Tabela 14 são apresentados os valores referentes à estimativa da incerteza de medição em 2017. De referir que, como a metodologia para a estimativa da incerteza nos ensaios de Contagem de coliformes e Contagem de *Escherichia coli* em águas estava incompleta, não foi possível determinar a incerteza considerando a abordagem descrita para os ensaios com etapa de confirmação parcial.

Estimativa da incerteza																	
Método																	
Ano																	
Amostra		Resultados						Variância da reprodutibilidade (sr <sup>2</sup> )	Variância da distribuição (ud <sup>2</sup> )			Variância operacional (uo <sup>2</sup> )		Incerteza combinada			
Nr	ID	nc (iA)	nc (iB)	nz (iA)	nz (iB)	xiA	xiB	yiA=Log10 (xiA)	yiB=Log10 (xiB)	Sr <sup>2</sup>	média nc	média nz	média x	ud <sup>2</sup> conf. parcial	Sr <sup>2</sup> -ud <sup>2</sup>	Sr <sup>2</sup> -ud <sup>2</sup>	RAIZQ (uo <sup>2</sup> +ud <sup>2</sup> )
1																	
2																	
3																	
4																	
5																	
6																	
7																	
8																	
9																	
10																	
11	1																n=
12	2																média de uc
13	3																U
14	4																U=+/-
15	5																Log
16	6																
17	...																
18	...																
19	30																
20																	

Figura 8. Modelo de folha de cálculo para a estimativa da incerteza em ensaios microbiológicos quantitativos em águas de consumo (com etapa de confirmação parcial).

Estimativa da incerteza														
Método														
Ano														
Amostra		Resultados				Variância da reprodutibilidade e (sr <sup>2</sup> )	Variância da distribuição (ud <sup>2</sup> )		Variância operacional (uo <sup>2</sup> )		Incerteza combinada			
Nr	ID	xiA	xiB	yiA=Log10 (xiA)	yiB=Log10 (xiB)	((YiA-YiB) <sup>2</sup> )/2	nc=(xiA+xiB)/2	0,1886/nc	Sr <sup>2</sup> -ud <sup>2</sup>	Sr <sup>2</sup> -ud <sup>2</sup>	RAIZQ (uo <sup>2</sup> +ud <sup>2</sup> )			
1														
2														
3														
4														
5														
6														
7														
8														
9														
10														
11	1										n=			
12	2										média de uc			
13	3										U			
14	4										U=+/-			
15	5										Log			
16	...													
17	...													
18	30													
19														

Figura 9. Modelo de folha de cálculo para a estimativa da incerteza em ensaios microbiológicos quantitativos em águas de consumos (sem etapa de confirmação ou com confirmação total).

**Tabela 13** Fontes de incerteza nos ensaios de microbiologia de águas e alimentos (adaptado de Sanas, 2014).

Etapa do processo /Fator de incerteza	Descrição
Competência técnica	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Variações entre os colaboradores que realizam os ensaios;</li> <li>– Validação e manutenção da competência;</li> </ul>
Amostragem <small>Nota: considerada apenas na abordagem para a estimativa da incerteza em ensaios de microbiologia em alimentos;</small>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Procedimento de recolha;</li> <li>– Representatividade da amostra;</li> <li>– Condições de armazenamento e transporte desde a recolha até receção no laboratório;</li> </ul>
Equipamentos	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Exatidão e precisão do equipamento;</li> <li>– Calibração, verificação e manutenção;</li> </ul>
Meios e reagentes	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Qualidade das matérias primas;</li> <li>– Qualidade da água;</li> <li>– Incerteza associada aos equipamentos intervenientes (como balanças e provetas);</li> <li>– Desempenho do meio e reagente (como seletividade e sensibilidade);</li> <li>– Desempenho da etapa de esterilização dos meios;</li> <li>– Condições de armazenamento;</li> </ul>
Amostra	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Estabilidade da amostra;</li> <li>– Homogeneização da amostra;</li> <li>– Porção de teste utilizada;</li> </ul>
Procedimento de ensaio	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Intervalo de tempo entre recolha da amostra e início do ensaio;</li> <li>– Preparação da diluição;</li> <li>– Adesão dos microrganismos à pipeta na diluição;</li> <li>– Grau de homogeneização da amostra antes da diluição;</li> <li>– Equipamentos utilizados para dispensar ou dispersar a amostra;</li> <li>– Condições atmosféricas (como humidade e temperatura);</li> <li>– Condições de incubação;</li> <li>– Propriedades do meio e reconhecimento das colónias alvo;</li> <li>– Leitura e interpretação dos resultados</li> <li>– Densidade microbiana;</li> </ul>

Os valores da estimativa da incerteza devem ser comparados com os valores de anos anteriores, quando possível, e com valores de referência, se aplicável, para se efetuar uma avaliação da adequação do resultado. O Laboratório CPC definiu, no documento interno de “VM – Validação dos Métodos”, que para que um método possa ser validado a sua incerteza não deverá ser superior a 0,50 log<sub>10</sub>. Este é também o valor de referência interno para a avaliação da incerteza das medições calculado anualmente.

**Tabela 14** Valores da estimativa da incerteza dos ensaios de microbiologia a acreditar, referentes a 2017.

Matriz	Método	Incerteza expandida (2017)
Alimentos	Contagem de colónias a 30 °C	0,15 log <sub>10</sub>
	Contagem de <i>Escherichia coli</i>	0,06 log <sub>10</sub>
Águas	Contagem de microrganismos a 22 °C	0,24 log <sub>10</sub>
	Contagem de microrganismos s 36 °C	0,32 log <sub>10</sub>

A incerteza dos ensaios em produtos alimentares foi determinada, no caso do ensaio de contagem de colónias a 30 °C, pela análise dos dados de 39 ensaios em alimentos naturalmente contaminados. Já a estimativa da incerteza do ensaio de contagem de *Escherichia coli* foi alcançada a partir de 11 ensaios de alimentos natural e artificialmente contaminados. A estimativa da incerteza de ensaios de águas foi obtida através de dados de 30 ensaios, incluindo amostras de água de consumo como amostras artificialmente contaminadas. Em todos os ensaios de microbiologia de águas de consumo e de produtos alimentares, o valor da incerteza é inferior a 0,50 log<sub>10</sub>.

A incerteza é o parâmetro que caracteriza a dispersão dos valores atribuídos a um mensurando e consta no Relatório de Ensaio, acompanhando os resultados dos respetivos ensaios.

### 3.6. Controlo da Qualidade

Depois de validados e implementados, o desempenho dos métodos de ensaio deve ser monitorizado pelo controlo de vários parâmetros. A monitorização consiste na implementação de planos de controlo interno da qualidade e planos de controlo externo da qualidade, que certificam que o método gera resultados aceitáveis, minimizam o erro e gerem a ocorrência do mesmo.

As ferramentas de controlo da qualidade são imprescindíveis para controlar e melhorar o SGQ. Permitem recolher, organizar e analisar informações detalhadas das várias operações do sistema, antecipar situações de falha e reduzir erros, aumentar a confiança no trabalho desenvolvido e promover a melhoria contínua. A garantia da qualidade é um requisito da norma NP EN ISO/IEC 17025:2005 (requisito 5.9).

### 3.6.1. Controlo Interno da Qualidade

O Laboratório CPC define as metodologias gerais de controlo da qualidade laboratorial no documento “PQ009 – Controlo da Qualidade Laboratorial”, onde são descritas as atividades de controlo da qualidade, o responsável e os documentos/plataforma de registo correspondente. Existem ainda outros documentos, dedicados a outras atividades específicas do laboratório, mencionados na seguinte tabela (Tabela 15). A realização dos controlos é essencialmente registada em folhas de cálculo e/ou no *LabGest*, assinalando o cumprimento do plano de controlo.

**Tabela 15** Documentos associados ao controlo interno da qualidade.

Tipo de documento	Nome
Procedimento da Qualidade	PQ001 – Controlo Ambiental
Procedimento da Qualidade	PQ003 – Controlo do Volume de Diluente
Procedimento da Qualidade	PQ004 – Controlo de Recipientes de Microbiologia
Procedimento da Qualidade	PQ009 – Controlo da Qualidade Laboratorial
Procedimento da Qualidade	PQ011 – Cálculos da Qualidade
Procedimento da Qualidade	PQ012 – Controlo da Qualidade de Meios de Cultura
Procedimento Laboratorial	VT – Validação de Técnicos

Relativamente a este tópico, procurou-se tratar as seguintes tarefas:

- Revisão global dos procedimentos referentes ao controlo interno da qualidade;
- Verificação da descrição dos controlos;
- Correção da periodicidade e frequência atendendo ao contexto atual do laboratório;
- Identificação da situação atual de implementação dos respetivos controlos;
- Identificação de todos os documentos de suporte dos respetivos controlos;

- Atualização dos documentos de registo e suporte;
- Atualização do plano de controlo no *LabGest*;
- Levantamento dos documentos não controlados;

A revisão dos planos de controlo da qualidade do Laboratório CPC iniciou-se no documento PQ009 por se tratar de um documento global e geral dos processos de garantia da qualidade do laboratório. O documento divide os diferentes controlos em três categorias: controlos gerais, controlos microbiológicos e controlos químicos. Dado o âmbito deste trabalho, os controlos químicos não foram sujeitos a análise. Em cada controlo é feita uma breve descrição do seu procedimento e objetivo, definida a frequência, responsável e indicados os documentos de registo.

Os controlos gerais incluem a estimativa da incerteza, a participação em ensaios interlaboratoriais, controlo da água do laboratório e controlo do material e equipamento. Relativamente à estimativa da incerteza foi indicado que o número mínimo de amostras para determinar a incerteza deve ser consultado no PQ011, já que difere com o tipo de ensaio e matriz, e elucidadas as condições de análise. A estimativa da incerteza está a ser efetuada para os ensaios de microbiologia de águas e alimentos.

No controlo dos materiais e equipamentos foi apenas feita indicação das folhas de cálculos em falta, nomeadamente para o registo da verificação dos termómetros, da temperatura dos banhos, temperatura dos equipamentos e também das balanças. Constatou-se que no controlo dos termómetros existiam algumas lacunas, que foram posteriormente corrigidas. O controlo dos equipamentos, inclusive dos termómetros, é discutido no ponto 3.7 – Equipamentos deste trabalho. Os restantes controlos gerais não exigiram correções. O controlo da água é corretamente implementado e documentado pelo Laboratório CPC. No caso da participação dos ensaios interlaboratoriais, prevê-se uma participação em esquemas de ensaio adequados ao âmbito da acreditação. Os ensaios interlaboratoriais são analisados em pormenor no tópico seguinte (3.6.2 – Controlo Externo da Qualidade).

Os controlos associados à microbiologia compreendem os controlos ambientais, de superfícies e operadores e controlo da esterilidade do ar. As metodologias de controlo ambiental são aprofundadas no documento “PQ001 – Controlo Ambiental”, onde é especificado que o grau de higienização das superfícies e a qualidade do ar são avaliados em três locais: bancada de microbiologia, bancada de contagens e pesagens. Nestes controlos não ocorreram correções e averiguou-se que são corretamente executados pelo laboratório.

Os controlos de temperatura das estufas de incubação, banhos termostatizados, frigoríficos e congeladores são feitos de diferentes formas: para além da verificação com um termómetro calibrado e verificação da temperatura antes de cada utilização ou sempre que esta é alterada, descritas já no documento PQ009, é também necessário efetuar, mensalmente, com um *datalogger*, medições da temperatura em intervalos de 30 minutos durante 24 horas. Esta verificação tem como objetivo verificar a estabilidade da temperatura dos equipamentos. Procede-se, também, à verificação da uniformidade da temperatura mensalmente e em três pontos distintos dos equipamentos termostatizados. Todos estes controlos são corretamente executados pelo laboratório, mas não estavam todos enumerados no documento PQ009. Os controlos em falta e as respetivas folhas de cálculo de registo foram adicionados ao documento.

O controlo dos meios de cultura é conseguido através de vários testes como determinação do pH, esterilidade, controlo positivo e negativo, definidos no procedimento da qualidade PQ009. O laboratório dispõe ainda de um outro documento – PQ012 – redigido com base na norma ISO 11133:2014 onde são prescritas, com maior detalhe, as regras para a preparação e controlo da qualidade dos meios de cultura usados em ensaios de microbiologia. No que concerne ao controlo dos meios de cultura, não foram feitas alterações, já que os procedimentos, frequências, critérios de aceitação, documentos de registo e plano de controlo no *LabGest* estão em conformidade e em execução. No entanto, em fevereiro de 2018, foi publicada uma retificação à norma – ISO 11133:2014/Amd 1:2018 – que deverá ser analisada e, se necessário, deverão ser feitos ajustes nos procedimentos laboratoriais.

Os meios de cultura produzidos pelo laboratório são submetidos a um processo de autoclavagem para a sua esterilização. O controlo do volume das soluções e diluentes após autoclavagem é realizado segundo as metodologias do documento PQ003. Neste procedimento foram identificados os documentos de registo da aferição inicial do volume evaporado após autoclavagem e no controlo de rotina, que estavam em falta. O controlo é colocado devidamente em prática pelo laboratório.

As ferramentas de controlo e avaliação do desempenho dos métodos de ensaio passam pela realização de ensaios em branco, duplicado, paralelo e em réplica e construção de cartas de controlo e cartas guia. Os ensaios em duplicado, paralelo e em réplica têm como objetivo estudar as diferentes condições em que os ensaios podem ser realizados e determinar a reprodutibilidade interna dos métodos. Os dados dos ensaios são também aplicados na avaliação dos técnicos do laboratório e, no caso dos ensaios em paralelo, são ainda usados na estimativa da incerteza. Na Tabela 16 são definidas as condições de cada tipo de ensaio.

**Tabela 16** Definição das condições dos ensaios em duplicado, paralelo e réplica.

Condições de realização do ensaio	Ensaio		
	Duplicado	Paralelo	Réplica (alimentos)
Laboratório	O mesmo	O mesmo	O mesmo
Operador	O mesmo	Diferente	Diferente
Amostra	A mesma amostra/diluição	A mesma amostra/diluição	A mesma amostra Diferentes suspensões-mãe
Equipamentos	O mesmo	Diferente	Diferente
Reagentes	O mesmo	Diferentes lotes	Diferentes lotes
Tempo	Num curto intervalo	Em diferentes momentos do dia (se possível)	Em diferentes momentos do dia (se possível)

As cartas de controlo permitem, através de uma análise simples, controlar a precisão e exatidão da técnica e operações inerentes à realização do método. A escolha do tipo de carta de controlo depende de diferentes fatores desde o método de ensaio e a utilização de materiais de referência. O Laboratório CPC opta pelas cartas de controlo de amplitudes móveis para análise dos ensaios em duplicado, paralelo e réplica. As cartas são construídas com os dados de 20 ensaios, realizados nas condições definidas Tabela 16, e avaliadas segundo os critérios de aceitação definidos no documento PQ009. As cartas-guia são cartas de controlo de valores individuais construídas com os dados de 20 ensaios realizados com material de referência certificado. No documento PQ011 são dadas orientações sobre os cálculos e etapas para a construções das cartas de controlo e guia. Relativamente a este tópico, foi necessário clarificar no documento PQ009 as condições de ensaio (de acordo com o estipulado na Tabela 16), e atualizar as folhas de cálculo referentes às cartas de controlo. Constatou-se que os ensaios em réplica não estavam a ser realizados na frequência definida e as cartas de controlo e cartas guia não estavam a ser construídas. As modificações efetuadas foram aprovadas e comunicadas as constatações ao pessoal devido, a fim de que fosse possível cumprir os controlos afixados.

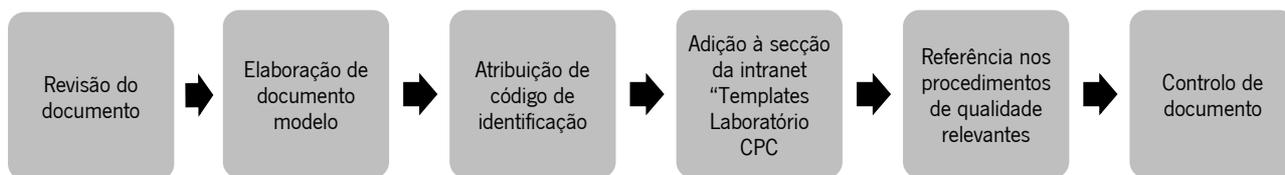
A prestação dos técnicos e a capacidade para exercerem as atividades laboratoriais é também sujeita a avaliação e controlo, de acordo com a metodologia descrita no documento “VT – Validação de Técnicos”.

São descritos o tipo e número de ensaios que um técnico deve realizar para qualificação e manutenção da mesma e também os critérios de desqualificação e requalificação. A produção e controlo da qualidade de meios de cultura, o processamento de amostras de alimentos e a realização de testes confirmativos de alimentos e águas são apenas efetuados por técnicos que demonstraram habilitações para tal. No procedimento da qualidade “VT – Validação de Técnicos” foi necessário acrescentar que, para um técnico ser considerado apto para a realização de um determinado método, deverá, para além dos restantes testes descritos no documento, efetuar a contagem em duplicado da mesma placa para pelo menos 10 ensaios, devendo os resultados deste teste se encontrarem dentro dos critérios estabelecidos no documento PQ009. Atualmente, os técnicos do laboratório são qualificados para a realização de todas as atividades laboratoriais, demonstrando essa mesma aptidão através da realização de testes periódicos de manutenção da qualificação, conforme o documento “VT – Validação de Técnicos. É, todavia, necessário que os registos destes testes sejam feitos com maior rigor e nos locais apropriados (pelo preenchimento dos devidos documentos e folhas de cálculo indicados nos procedimentos laboratoriais). O controlo dos recipientes para a recolha de água para análise microbiológica a nível da esterilidade microbiológica e da presença do inibidor tiosulfato de sódio é descrito no documento PQ004, produzido com base na norma ISO 19458:2006. Os testes de esterilidade e deteção da presença do inibidor estão corretamente descritos, implementados, executados e bem documentados.

Em anexo (Anexo III. Controlo da Qualidade Laboratorial) é exposto, de forma resumida, o controlo da qualidade efetuado no Laboratório CPC.

Quanto ao estado de implementação dos vários controlos da qualidade, tal como foi sendo reportado, a maioria era já efetuada pelo laboratório em conformidade com os procedimentos internos da qualidade, porém os registos dos mesmos nem sempre eram feitos com rigor. Para além das correções efetuadas nos procedimentos, foram atualizadas as folhas de cálculo e outros documentos de registo de forma a evidenciar o controlo executado e facilitar a análise dos dados.

O laboratório detinha alguns documentos de registos de dados de controlo não controlados. O processo para estes casos segue o representado na Figura 10. Os documentos com dados de controlos foram armazenados na devida secção da rede interna do laboratório.



**Figura 10.** Processo para o tratamento de documentos não controlados.

Para auxiliar o trabalho laboratorial, foram adicionados ao software de gestão do laboratório os controlos em falta e corrigidos os existentes, em função dos procedimentos da qualidade revistos. A introdução dos controlos no *LabGest* indica aos técnicos que tipo de controlo devem realizar e quando os devem executar, permitindo uma melhor organização de todo o trabalho de rotina.

### 3.6.2. Controlo Externo da Qualidade

O controlo da qualidade dos ensaios do laboratório deve incluir igualmente o controlo externo da qualidade. A avaliação externa da qualidade passa pela participação regular em ensaios interlaboratoriais, tal como requerido da norma NP EN ISO/IEC 17025:2005 (requisito 5.9), tanto para a concessão da acreditação, como para a sua manutenção. Segundo o mesmo referencial normativo, desde que disponíveis, o laboratório deve estar inserido neste tipo de programas como meio para a demonstrar não só a competência na realização dos ensaios, mas também verificar a validade de todo o sistema da qualidade.

Os ensaios de aptidão fornecem vários benefícios à entidade, entre os quais:

- Avaliação independente, regular e objetiva da qualidade dos resultados de ensaios;
- Estímulo para aperfeiçoamento do trabalho técnico;
- Informação comparativa acerca do desempenho do método;
- Demonstração da competência técnica a terceiros;
- Validação de métodos;
- Teste da validade de todo o sistema da qualidade;
- Aumento da confiabilidade nas medições;

No caso do Laboratório CPC, a participação em ensaios interlaboratoriais está prevista no documento interno PQ009. Neste documento é definida também a frequência mínima de participação e o critério de

aceitação. Contudo, atualmente, o Laboratório CPC não participa em nenhum ensaio de interlaboratorial, nem apresenta um plano de participação para os métodos de ensaios de microbiologia que pretende acreditar.

De acordo com o documento “DRC005 – Procedimentos para Acreditação de Laboratórios”, o laboratório deve elaborar um plano de participação em ensaios interlaboratoriais, que deve abranger:

- Requisitos de frequência mínima de participação;
- Frequência e extensão de outras ações de controlo da qualidade relevantes;
- Os resultados de desempenho em ensaios de aptidão anteriores;
- Circunstâncias relevantes e aspetos específicos do laboratório que possam justificar desvios à frequência de participação habitual na área técnica;
- A disponibilidade de ensaios de aptidão.

As informações relativas à frequência mínima de participação e definição e descrição de outros controlos de qualidade implementados pelo laboratório, tal como já referido, encontram-se no documento PQ009. A participação em ensaios interlaboratoriais, desde que existentes, é obrigatória para a obtenção ou manutenção de acreditação, de acordo com o referencial normativo NP EN ISO/IEC 17025:2005. A frequência mínima não deverá ser inferior a uma participação representativa e satisfatória no âmbito da acreditação antes da sua concessão ou extensão, nem inferior a uma participação representativa do âmbito da acreditação durante cada ciclo.

Com o objetivo orientar a participação em ensaios interlaboratoriais, compilar informação relevante, definir a entidade organizadora do mesmo, perceber quais os esquemas de ensaio disponíveis e mais adequados ao âmbito dos ensaios a acreditar, foi estruturado um “Guia para a Participação em Ensaios Interlaboratoriais”, direcionado para os ensaios a acreditar. O guia segue o modelo dos restantes documentos do Laboratório CPC. É inicialmente definido o âmbito do documento e indicadas as referências bibliográficas usadas para a elaboração do mesmo, seguindo-se uma breve descrição sobre os ensaios interlaboratoriais. Os tópicos seguintes dizem respeito à frequência e obrigatoriedade, laboratório organizador, calendarização e descrição dos esquemas de ensaio interlaboratoriais e critérios de avaliação e aceitação.

No guia é definida a entidade organizadora – Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) em colaboração com Food and Environment Proficiency Testing Unit (FEPTU) e Public Health England

(PHE) – e escolhidos os esquemas apropriados (Tabela 17 e Tabela 18). Os esquemas mencionados são acreditados segundo a norma ISO/IEC 17023:2010, norma de avaliação da conformidade que determina os requisitos gerais para os ensaios de aptidão.

Os ensaios são realizados em várias datas, cabe ao laboratório optar, de entre as disponíveis, a mais conveniente. Os esquemas de ensaio que o Laboratório CPC irá participar incluem outros métodos de ensaios, também realizados no laboratório, para além dos que este pretende acreditar. A participação nestes ensaios permitirá ao laboratório não só cumprir um requisito para o processo de acreditação, como também obter informações importantes para o controlo da qualidade de vários ensaios efetuados no laboratório.

Os ensaios são realizados em várias datas, cabe ao laboratório optar, de entre as disponíveis, a mais conveniente. Os esquemas de ensaio que o Laboratório CPC irá participar incluem outros métodos de ensaios, também realizados no laboratório, para além dos que este pretende acreditar. A participação nestes ensaios permitirá ao laboratório não só cumprir um requisito para o processo de acreditação, como também obter informações importantes para o controlo da qualidade de vários ensaios efetuados no laboratório.

Os ensaios são realizados em várias datas, cabe ao laboratório optar, de entre as disponíveis, a mais conveniente. Os esquemas de ensaio que o Laboratório CPC irá participar incluem outros métodos de ensaios, também realizados no laboratório, para além dos que este pretende acreditar. A participação nestes ensaios permitirá ao laboratório não só cumprir um requisito para o processo de acreditação, como também obter informações importantes para o controlo da qualidade de vários ensaios efetuados no laboratório.

As amostras para a realização dos ensaios podem ser recebidas em forma de disco de lenticulas, no caso dos ensaios microbiológicos em águas, ou liofilizadas, para os parâmetros microbiológicos em alimentos, e em qualquer das situações, a reconstituição das mesmas deve ser feita conforme as instruções fornecidas pelo organizador do ensaio interlaboratorial. Os resultados finais dos ensaios são registados num formulário e enviados dentro do prazo estabelecido para entrega dos mesmos.

**Tabela 17** Esquema de ensaios interlaboratoriais para métodos de ensaios de microbiologia em águas (PHE, 2018).

<b>Drinking Water Scheme</b>			
Adequado a laboratórios que efetuam análise em águas de consumo.			
Ensaio	Data	Data de entrega dos resultados	Parâmetros incluídos
3 amostras por ensaio			Bactérias coliformes
			<i>Escherichia coli</i>
	14/05/2018;	15/06/2018	Enterococos
	02/07/2018	03/08/2018	<i>Clostridium perfringens</i>
	03/09/2018	05/10/2018	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	05/11/2018	07/12/2018	Contagem de colónias a 37 °C por 48 horas
	28/01/2019	01/03/2019	Contagem de colónias a 22 °C por 72 horas
	11/03/2019	12/04/2019	

**Tabela 18** Esquema de ensaios interlaboratoriais para métodos de ensaios de microbiologia em alimentos (PHE, 2018).

<b>Standard Scheme for food microbiology examinations</b>			
Adequado a laboratórios que efetuam análise em produtos alimentares.			
Ensaio	Data	Data de entrega dos resultados	Parâmetros incluídos
2 amostras por ensaio			Deteção de <i>Listeria spp.</i> (incluindo <i>L. mono</i> )
	09/04/2018	18/05/2018	Deteção <i>L. monocytogenes</i>
	04/06/2018	13/07/2018	Deteção de <i>Salmonella spp.</i>
	30/07/2018	07/09/2018	Contagem de <i>Clostridium perfringens</i>
	01/10/2018	09/11/2018	Contagem de colónias aeróbias
	07/01/2019	15/02/2019	Contagem de <i>E. coli</i>
	18/02/2019	29/03/2019	

No capítulo final do “Guia para a Participação em Ensaios Interlaboratoriais” é explicado o funcionamento do critério de avaliação através da pontuação *Z-score*, definida no documento PQ009 como método de avaliação do desempenho do Laboratório CPC em ensaios interlaboratoriais. O *Z-score* é usado para a avaliação estatística dos resultados dos participantes através da relação da pontuação obtida com a média do conjunto de pontuações de todos os participantes. Os resultados dos participantes são convertidos em z-scores, correspondendo ao número de desvios padrão acima ou baixo da média do conjunto de resultados. O cálculo de *Z-score* é efetuado aplicando a seguinte fórmula:

$$Z = \frac{(x-X)}{\sigma} \text{ (equação 8)}$$

onde

$x$  = resultado do participante, expresso em log10;

$X$  = valor alvo do ensaio, expresso em log10;

$\sigma$  = desvio padrão fixado para o ensaio, expressa a diferença aceitável entre o resultado individual do laboratório e a mediana dos resultados dos participantes;

A interpretação dos resultados é feita de acordo com a Tabela 19.

**Tabela 19** Critérios para a interpretação do valor *Z-score*.

Valor de <i>Z</i>	Resultado
$Z = -1.99$ a $+1.99$	Satisfatório
$Z = -2$ a $-2.99$ ou $+2$ a $+2.99$	Questionável
$Z = <-3.00$ ou $>+3.00$	Insatisfatório

Recomenda-se que os ensaios com pontuações  $\pm 2.0$ , isto é, os ensaios com resultados questionáveis e insatisfatórios, sejam investigados quantos às causas prováveis do fraco desempenho e que se tomem medidas corretivas. O Laboratório CPC definiu, no documento PQ09, que 80% dos resultados do ensaio de um dado parâmetro devem ter um z-score satisfatório.

Os dados resultantes dos ensaios interlaboratoriais são utilizados para a avaliação do desempenho do método e para a avaliação dos operadores técnicos. De acordo com o documento interno “VT – Validação de Técnicos de Microbiologia”, é necessária a participação em ensaios interlaboratoriais na área para a

qualificação e manutenção dos técnicos. Procedeu-se, então, à atualização das folhas de cálculo relativas ao tratamento de dados de ensaios de aptidão, tendo como objetivo a avaliação do laboratório no ensaio e a avaliação individual do técnico que o executou, ilustradas na Figura 11, Figura 12 e Figura 13.

Ensaio interlaboratoriais - Desempenho do laboratório								
Esquema: Standard Scheme for food microbiology examinations								
Data								
$Z = \frac{(x-X)}{\sigma}$								
Distribuição	Amostra	Parâmetro	Média CPC (n)		Média participantes (X)		Desvio padrão	z-score
			Contagem	log10	Contagem	log10		
		Listeria spp						
		L. monocytogenes						
		Salmonella spp.						
		Clostridium perfringens						
		Colónias aeróbias						
		E.coli						
		Listeria spp						
		L. monocytogenes						
		Salmonella spp.						
		Clostridium perfringens						
		Colónias aeróbias						
		E.coli						

Parâmetro	% ensaios z-score ≤2	Critério de aceitação
Listeria spp		
L. monocytogenes		
Salmonella spp.		
Clostridium perfringens		
Colónias aeróbias		
E.coli		

Figura 11. Folha de cálculo para o tratamento de dados de ensaios de aptidão em águas de consumo.

Ensaio Interlaboratoriais - Avaliação do técnico							
Data							
Esquema							
Técnico em avaliação (TA)							
Método							
Amostra	Resultado obtido		Resultado esperado		Desvio	z-score	Avaliação
	Contagem	log10	Contagem	log10			

Figura 12. Folha de cálculo para a avaliação do desempenho do técnico em ensaios de aptidão.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
11									
12									
13									
14									
15									
16									
17									
18									
19									
20									
21									
22									
23									
24									
25									
26									
27									
28									
29									
30									
31									

**Ensaaios interlaboratoriais - Desempenho do laboratório**  
**Esquema: Standard Scheme for food microbiology examinations**  
**Data**

$$Z = \frac{(x-X)}{\sigma}$$

Distribuição	Amostra	Parâmetro	Média CPC (x)		Média participantes (X)		Desvio padrão	z-score
			Contagem	log10	Contagem	log10		
		Listeria spp						
		L. monocytogenes						
		Salmonella spp.						
		Clostridium perfringens						
		Colónias aeróbias						
		E.coli						
		Listeria spp						
		L. monocytogenes						
		Salmonella spp.						
		Clostridium perfringens						
		Colónias aeróbias						
		E.coli						

Parâmetro	% ensaios z-score ≤2	Critério de aceitação
Listeria spp		
L. monocytogenes		
Salmonella spp.		
Clostridium perfringens		
Colónias aeróbias		
E.coli		

**Figura 13.** Folha de cálculo para o tratamento de dados de ensaios de aptidão em alimentos.

Na avaliação do técnico, é determinado o desvio entre o logaritmo de base 10 da contagem obtido por este e o logaritmo de base 10 do valor esperado. O valor z-score é cálculo utilizando o desvio calculado entre a diferença do resultado do técnico e o resultado do ensaio (equação 9):

$$Z = \frac{(x-X)}{\sigma}, \text{ (equação 9)}$$

Onde,

$x$  = resultado do participante, expresso em  $\log_{10}$ ;

$X$  = valor alvo do ensaio, expresso em  $\log_{10}$ ;

$\sigma$  = Diferença entre o resultado do participante e o valor alvo do ensaio;

Na coluna de avaliação/critério de aceitação das folhas de cálculo representadas nas Figura 11, Figura 12 e Figura 13 surge se o resultado é satisfatório ou não satisfatório, consoante o valor de z-score adquirido. O número de ensaios com resultado satisfatório necessários depende do objetivo da avaliação (qualificação ou manutenção da qualificação). Estas informações estão definidas no documento “VT – Validação dos Técnicos de Microbiologia”.

A revisão dos procedimentos de controlo da qualidade do laboratório visou o estabelecimento e implementação de ferramentas corretas e adequadas para a avaliação e vigilância do desempenho dos ensaios, garantindo a qualidade dos resultados gerados diariamente. Muitos dos controlos são já

devidamente praticadas e documentados pelo laboratório e os que ainda não são aplicados estão detalhadamente definidos e explicados em procedimentos da qualidade, acompanhados por documentos de registos convenientes. O laboratório dispõe dos meios para o eficaz e correto controlo da qualidade.

### 3.7. Equipamentos

A gestão dos equipamentos de monitorização e medição (EMM) é um dos pontos cruciais para a acreditação. A avaliação detalhada do estado de operacionalidade dos equipamentos é imprescindível, dado que afetam significativamente a qualidade dos resultados dos ensaios.

A metodologia adotada na gestão dos equipamentos de monitorização e medição pelo Laboratório CPC está definida no procedimento PSGQ05 – Gestão de EMMs. O documento esclarece como tratar um equipamento desde que dá entrada no laboratório. Na Figura 14 está representado o fluxograma do procedimento de gestão de equipamentos de monitorização e medição, conforme descrito no documento PSGQ05 – Gestão de EMMs.

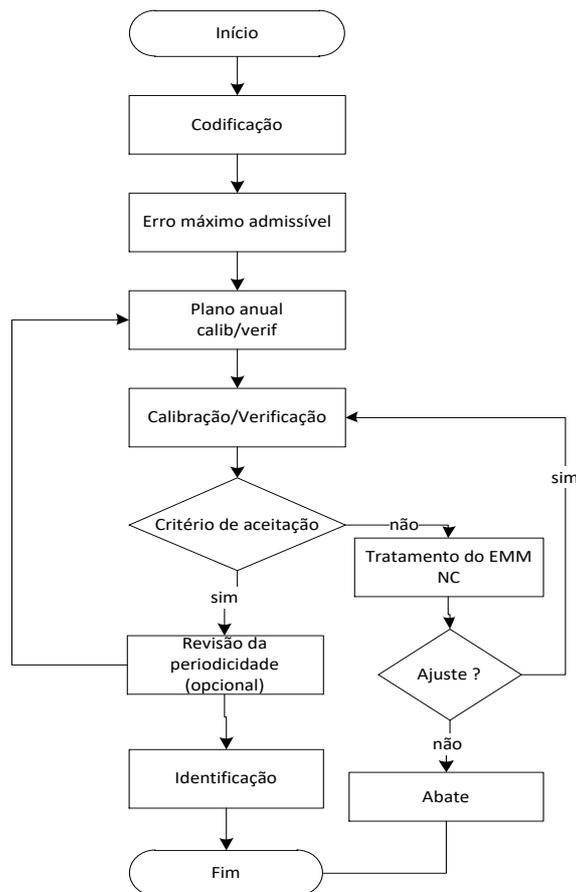


Figura 14. Fluxograma o procedimento de gestão de equipamentos de monitorização e gestão.

Todos os equipamentos que fazem parte do Laboratório CPC estão registados na intranet *Company Web*, onde está toda a informação relativa aos equipamentos, desde o seu código de identificação, tipo de equipamento, fornecedor, modelo, especificações (como gama de medição e resolução), assim como o plano de intervenções (calibração, verificação e manutenção) e registos do mesmo, tal como requerido na norma NP EN ISO/IEC 17025:2005 (requisito 5.5).

No *software* de gestão do laboratório *LabGest* estão incluídas as ações e controlos a exercer sobre os equipamentos, de acordo com o plano de calibração, verificação interna e manutenção definido para cada equipamento. No documento interno PQ09 estão estipulados os controlos gerais a realizar nos materiais e equipamentos, bem como os respetivos documentos/*software* de registos das intervenções feitas. Os documentos e plataformas referentes aos equipamentos são listados na Tabela 20.

**Tabela 20** Documentos e plataformas com informação sobre os equipamentos.

Plataforma/ Documento	Descrição
<i>Company Web</i>	Intranet com informação de cada equipamento
<i>LabGest</i>	Plano de controlo dos equipamentos
PQ09	Procedimento da qualidade laboratorial
PSGQ05	Gestão de EMMs
IEXX	Instruções de Equipamentos

O Laboratório CPC possui procedimentos laboratoriais para os equipamentos referidos na Tabela 21, onde se encontram as instruções gerais de operação dos respetivos equipamentos, o procedimento de limpeza e de manutenção e o planos de calibração e verificação, quando aplicáveis.

Os vários aspetos relacionados com os equipamentos foram verificados e as respetivas correções possíveis realizadas, assegurando que os equipamentos utilizados nos ensaios laboratoriais não constituem um problema para a aquisição de resultados de qualidade. Fez-se a análise da gestão de todos os equipamentos do Laboratório CPC e não apenas dos usados nos ensaios microbiológicos a acreditar.

**Tabela 21** Fichas técnicas dos equipamentos.

Procedimento laboratorial	Equipamento
IE01	Balança analítica
IE02	Banho termostatzados
IE03	Hotte
IE04	Incubadora
IE05	Medidor de bancada
IE06	Autoclave
IE07	Câmara de fluxo laminar
IE08	Micropipetas VWR
IE13	Fotómetro medidor de cloro

### 3.7.1. Verificação da codificação dos equipamentos

Tal como assente no documento interno PSGQ05, os equipamentos estão identificados por um código único do tipo XX-YYzzz, onde:

- XX corresponde a um dígito alfabético que identifica a localização do equipamento;
- YY corresponde a um dígito alfabético que identifica a família do equipamento;
- zzz corresponde a dígitos numéricos que identifica o número sequencial do equipamento.

O código de identificação dos equipamentos laboratoriais inicia-se por “UNL”, alusivo a Unidade Laboratorial. Na Tabela 22 é apresentada a nomenclatura da família dos equipamentos, correspondente aos dígitos alfabéticos YY do código de identificação.

Primeiramente, foi feita a verificação da codificação de equipamentos para garantir que os registos na intranet *Company Web* estavam corretos. Averiguou-se que existiam equipamentos sem identificação, nomeadamente, uma placa de aquecimento. O equipamento “Amostrador de Ar” tinha um código de identificação atribuído, porém o equipamento não apresentava etiqueta de identificação. Também se apurou um erro na identificação do equipamento condutivímetro, pois estava identificado como

potenciómetro. Na lista de equipamento constavam ainda um potenciómetro inativo e também o sistema de Sondas GesTemp, que se encontra fora de uso.

Na Tabela 23 são reportadas as não conformidades encontradas no processo de revisão da codificação dos equipamentos e as correções operadas.

A utilização de um sistema de codificação claro, assente numa nomenclatura de fácil assimilação, otimiza a identificação e localização dos equipamentos, facilita a comunicação interna e auxilia no controlo de inventário.

**Tabela 22** Nomenclatura utilizada no código de identificação de equipamentos.

Código YY	Nome
MP	Micropipeta
VT	Vortex
OU	Outros
FT	Fotómetro
BA	Balança
PH	Potenciómetro
ES	Estufas
FR	Frigorífico
TM	Termómetro
AU	Autoclave
DT	<i>Datalogger</i>

### 3.7.2. Revisão do plano de calibração, verificação e manutenção dos equipamentos

A fim de atuar em cumprimento do requisito 5.5 da norma NP EN ISO/IEC 17025:2005 e de garantir a qualidade dos resultados analíticos, procedeu-se à revisão do plano de calibração, verificação e manutenção dos equipamentos.

O “Guia Relacre 6 – Acreditação de Laboratórios de Ensaios Microbiológicos” fornece orientações sobre a frequência mínima da calibração e verificação a efetuar nos equipamentos.

**Tabela 23** Identificação das não conformidades na codificação dos equipamentos.

Código	Nome	Observação	Correção
	Placa de aquecimento	Sem etiqueta de identificação	Atribuição de código de identificação à placa de aquecimento: UNL-TM014
UNL-OU017	Amostrador de ar	O equipamento não possui etiqueta com o código de identificação	Colocação de etiqueta com código de identificação
UNL-PH001	Potenciômetro de bancada	Inativo	Alteração do estado do equipamento para inativo;
UNL-PH002	Potenciômetro Portátil	Identificação errada – Condutivímetro	Alteração do código do equipamento para UNL-OU007; Atualização da ficha do equipamento na <i>Company Web</i> com as respectivas informações do equipamento;
UNL-BT001-GT			
UNL-BT002-GT			
UNL-ES001-GT			
UNL-ES002-GT	Sondas GesTemp	Inativo	Alteração do estado dos equipamentos para inativo;
UNL-ES003-GT			
UNL-ES005-GT			
UNL-ES006-GT			

Contudo, o laboratório não deve efetuar apenas as intervenções mínimas para não correr o risco de comprometer os seus resultados. Também o referencial normativo ISO 7218:2007 dá orientações para a manutenção dos equipamentos empregues em ensaios microbiológicos.

Nesta etapa, foram realizadas as seguintes tarefas:

- Análise dos vários guias e documentos de referência sobre planos de calibração, verificação e manutenção de equipamentos;
- Verificação da concordância entre os vários documentos internos, *Company Web* e *LabGest*;
- Correção do plano de intervenção;

- Estabelecimento de um plano de intervenção, quando em falta;
- Elaboração de instruções de equipamentos;
- Elaboração de procedimentos de calibração/verificação interna;
- Verificação interna de equipamentos (micropipetas e balanças);

Da análise das informações vigentes na intranet *Company Web* e no software de gestão do laboratório *LabGest*, assim como nos restantes documentos internos de suporte, inferiu-se a necessidade de se concretizar a algumas alterações visto que, em certos casos, as informações acerca dos planos de intervenções não eram concordantes. De forma a perceber qual o melhor plano de intervenção para cada tipo de equipamento, foi feita a análise dos diversos guias. Tendo também em conta a finalidade de cada equipamento no Laboratório CPC, foi criado um guia geral para a calibração, verificação e manutenção dos equipamentos, presente no Anexo IV – Guia para a Calibração, Verificação e Manutenção de Equipamentos.

O tipo de controlo do estado de um equipamento é determinado pela sua interferência no resultado final do ensaio laboratorial. Os equipamentos com influência crítica direta nos resultados são sujeitas a calibração externa rastreável, efetuada por laboratórios acreditados para esse âmbito. Quanto à periodicidade, deve ser inferior ao período em que o equipamento funciona entre os limites aceitáveis e determinada com base no histórico documentado do equipamento. Dos equipamentos utilizados em ensaios microbiológicos, é necessário calibrar externamente e proceder ao estabelecimento do tipo de funcionamento, por entidades acreditadas para esse fim, as micropipetas, câmara de fluxo laminar, balanças, pesos de calibração, banho termostaticado, estufa de microbiologia, frigorífico, congelador, termómetro de referência, autoclave e *datalogger*. Por outro lado, a elaboração de um plano de verificação e manutenção tem como objetivo principal a garantia da qualidade do desempenho de um equipamento face ao uso pretendido, no intervalo entre calibrações.

Depois da elaboração do guia, foram feitas as correções nos documentos e plataformas internas do Laboratório CPC. Os planos de intervenção das micropipetas, balanças e termómetros são relatados em maior detalhe nos tópicos seguintes, por terem sido equipamentos que exigiram maior atenção, onde foram empregues mais correções e por se terem realizado as verificações internas das micropipetas e balanças, cumprindo o plano de intervenções.

#### 3.7.2.1. *Micropipetas*

O Laboratório CPC possui 9 micropipetas, das quais 4 são utilizadas nos ensaios de microbiologia. Apenas as micropipetas utilizadas nestes ensaios são sujeitas a calibração externa anual, de acordo com a política do laboratório. Todas as micropipetas são verificadas semestralmente quanto à exatidão e precisão de volume distribuído pelos técnicos do laboratório, de acordo com o procedimento descrito no documento “IE8 – Micropipetas VWR”. Os registos da verificação são introduzidos numa folha de cálculo, denominada de “Verificação de Micropipetas”. O plano de manutenção passa pela sua limpeza e esterilização, tal como descrito no guia em anexo (Anexo IV. Guia para a Calibração, Verificação e Manutenção de Equipamentos), em conformidade com o documento de instruções do equipamento (IE8 – Micropipetas VWR”).

No *software* de gestão do laboratório, o plano de controlo das micropipetas compreende as ações realizadas no laboratório e a sua periodicidade. Não foram verificadas não conformidades e, por isso, não foram realizadas quaisquer alterações. Na *Company Web*, os registados das últimas verificações internas encontravam-se em falta e, por isso, foram adicionados na plataforma os registos de verificações anteriores e anexadas as respetivas folhas de cálculo com os dados de tais intervenções. Os documentos de registos estavam devidamente preenchidos, mas não armazenados no local próprio.

Em dezembro de 2017, foi feita a verificação interna de todas as micropipetas do laboratório, cumprindo o seu plano de intervenções. A verificação do desempenho das micropipetas é executada através da pesagem do volume de água desionizada pipetado. Para cada volume são feitas 10 medições, seguindo-se o cálculo da média e posterior determinação do volume médio, utilizando um fator de correção, com base na temperatura e pressão atmosférica a que o processo decorre (a temperatura é determinada no início e no final das medições com um termómetro calibrado). São também calculadas a exatidão e precisão relativas e comparadas com as especificações do fabricante. Considera-se que as micropipetas estão conformes quando as especificações do fabricante são cumpridas. Os resultados da verificação estão disponíveis no Anexo V. Dados da Verificação de Micropipetas, onde é demonstrado que todas as micropipetas estão aptas para utilização.

#### 3.7.2.2. *Balanças*

O Laboratório CPC possui três balanças usadas em microbiologia com diferenças gamas de pesagem e resoluções: UNL-BA001; UNL-BA004 e UNL-B005. As balanças são calibradas por laboratórios acreditados em intervalos de tempo definidos (anualmente). São ainda efetuadas verificações da

calibração com pesos de calibração de três em três meses, pelos técnicos do laboratório, com o propósito de verificar se o erro de pesagem da balança não ultrapassa o limite máximo estipulado.

O plano de intervenções presente na *Company Web* estava correto, não tendo sido realizadas correções. No *LabGest* foram adicionados os controlos de verificação interna das balanças UNL-BA002 e UNL-BA003, que estavam em falta. No documento de instruções do equipamento “IE01 – Balança Analítica” foi apenas adicionada informação sobre o procedimento de verificação da balança, pois apesar de já ser realizado pelo laboratório, não constava nenhuma informação neste documento. A verificação da balança é feita através de cinco pesagens para cada peso de calibração. O equipamento está conforme quando a média das pesagens está dentro dos limites definidos. Foi ainda constatado que não existia um modelo de folha de cálculo para registar os dados da verificação interna e, por isso, foi concebido um modelo, conforme ilustrado na Figura 15.

Verificação Balança Analítica UNL-BAXXX					
Data					
Técnico					
Gama de aceitação (g)		Medição	Massa (mg)	Média	Apreciação
Mínimo	Máximo				

**Figura 15.** Modelo de folha de cálculo para o registo de dados da verificação interna das balanças.

Em maio de 2018, foi feita a verificação trimestral das balanças, estando os dados obtidos na Tabela 24. Da última calibração externa por um laboratório especializado, verificou-se que para a balança UNL-BA004 é necessário adicionar um fator de correção de 3% para pesagens iguais ou superiores a 20 g. Os valores presentes na tabela relativos às pesagens com peso 20g e 100g correspondem aos valores já com o fator de correção. A balança apresenta uma etiqueta onde é informado que apresenta restrições de uso para valores superiores 20 g e que deve ser aplicado um fator de correção de 3%.

**Tabela 24** Resultados da verificação interna das balanças em maio de 2018.

Balança	Peso de calibração(g)	Gama de aceitação		Média de medições	Apreciação
		Mínimo	Máximo		
UNL-BA001	0,2	0,19	0,21	0,1999	Conforme
	1	0,99	1,01	1,0000	Conforme
	20	19,99	20,01	20,0000	Conforme
	100	99,99	1000,01	1000,0005	Conforme
UNL-BA004	0,2	0,19	0,21	0,2	Conforme
	1	0,9	1,1	1,0	Conforme
	20	19,9	20,1	20,0	Conforme
	100	99,9	1000,1	99,9	Conforme
UNL-BA005	1	0,9	1,1	1,0	Conforme
	20	19,9	20,1	20,0	Conforme
	100	99,9	1000,1	100,0	Conforme

### 3.7.2.3. Termômetros

Os termômetros são utilizados para a verificação da temperatura dos equipamentos como estufas, autoclaves e banhos termostizados. São também usados na medição da temperatura na recolha de águas de consumo e receção das amostras.

Dado o custo associado à calibração, de acordo com os vários guias, nomeadamente o guia “A61-02 – CALA Guidance on Traceability”, o laboratório deve estabelecer um número de termômetros para calibração completamente rastreável, por um laboratório acreditado. Estes termômetros, por sua vez, são os designados termômetros de referência, usados apenas para aferir sobre o desempenho de termômetros de trabalho (CALA, 2012). Adicionalmente ao termómetro de referência, também o termómetro de infravermelhos, que serve para medição da temperatura das amostras aquando a receção no laboratório, é calibrado externamente. Para além da sua utilização assim o exigir, a calibração de termómetros de infravermelhos requer certas condições e equipamentos, como uma superfície de corpo negro, que não estão à disponibilidade do laboratório. Neste mesmo seguimento, os *data logger*, usados

para monitorizar continuamente a temperatura dos equipamentos, são calibrados externamente por laboratórios com competência reconhecida para tal.

Em relação aos termómetros, foi necessário corrigir na *Company Web* o tipo de intervenção exercido em cada termómetro, distinguindo os que termómetros com calibração externa, dos termómetros calibrados internamente por comparação com o termómetro de referência. No *LabGest* não existiam controlos associados à gestão de equipamento e, portanto, foram adicionados os controlos de verificação dos termómetros, nos respetivos pontos de utilização, com periodicidade de 180 dias. Verificou-se ainda a não existência de um documento do tipo “IE– Instruções de Equipamentos”. Ao documento elaborado para colmatar a falta de um manual para os termómetros foi atribuída a designação de “IE14 – Termómetros e *Datalogger*”. O documento tem as especificações dos equipamentos do laboratório, instruções gerais de limpeza, manutenção e de aferição do desempenho. O método descrito para a calibração interna dos termómetros de trabalho por comparação com um termómetro de referência é baseado no método descrito no documento “A61-02 – CALA Guidance on Traceability” e nas orientações dadas no documento normativo “ABNT NBR 14610:2015 – Indicador de temperatura com sensor – Calibração por comparação com instrumento padrão” (ABNT, 2000; CALA, 2012).

A calibração interna é feita através de 7 leituras da temperatura do termómetro de referência e o termómetro a calibrar, mergulhados num banho de água à temperatura de estudo. Os dados são registados na folha de cálculo “Calibração Interna dos Termómetros”, produzida para este efeito. A avaliação dos dados da calibração interna relaciona-se com o erro máximo admissível (EMA), isto é, valor extremo do erro admitido para um dado instrumento de medição. O equipamento é considerado conforme e dado como apto para utilização quando a soma dos valores absolutos do erro de medição e incerteza é menor ou igual ao EMA. O erro é obtido pela diferença entre o valor lido no termómetro a calibrar e o valor do termómetro de referência. Por sua vez, a incerteza corresponde à incerteza expandida obtida pela multiplicação do fator de expansão  $k=2$ , para um nível de confiança de 95%, com a incerteza combinada. A incerteza combinada é determinada aplicando a seguinte fórmula de cálculo (equação 10):

$$u_c = \sqrt{(u_r)^2 + (s_p)^2 + (u_1)^2} \text{ (equação 10)}$$

Onde,

$u_r$  = Incerteza padrão dos valores do termómetro de referência;

$s_p$  = Desvio padrão do conjunto de leituras da calibração;

$u_1$  = Incerteza padrão do ponto de leitura e resolução do termómetro em calibração; corresponde à menor gradação do termómetro de trabalho dividida por  $\sqrt{3}$ . Usar apenas se  $s_p=0$ .

A folha de cálculo “Calibração Interna dos Termómetros”, apresentada na **Erro! A origem da referência não foi encontrada.**, facilita os cálculos e avaliação dos equipamentos de medição da temperatura.

Calibração interna do Termómetro											
9	Termómetro de referência			ur =		Ponto de medição					
10				Resolução		Média referência		Soma s			
11	Termómetro a calibrar			Gama de medição		Média a calibrar					
12				EMA		Média diferença		Sp			
13	Técnico			Data		n=					
14	Número	Referência	A calibrar	Diferença	Dif-média	s={ Dif - Mean }2	Incerteza combinada	Incerteza expandida	Erro	erro  +  Incerteza expandida	Avaliação do resultado
15	1										
16	2										
17	3										
18	4										
19	5										
20	6										
21	7										

Figura 16. Modelo de folha de cálculo para o registo de dados da calibração interna dos termómetros.

### 5.9.1.3. Outras alterações realizadas

Para além das correções realizadas nas micropipetas, balanças e nos termómetros, foi também corrigido o plano de intervenção de outros equipamentos, em conformidade com as especificações delineadas no “Guia para Calibração, Verificação e Manutenção dos Equipamentos”, indicando claramente os equipamentos que requerem calibração externa, como é efetuada a verificação interna e em que frequência, bem como o tipo de manutenção a operar.

Foram ainda adicionados ao *LabGest* alguns controlos em falta e realizadas outras alterações de erros menores, como:

- Adição do controlo de verificação interna em triplicado do amostrador de ar UNL-OU017 (periodicidade: 180 dias);
- Adição do controlo de verificação do turbidímetro UNL-OU002 (periodicidade: diária /antes de cada utilização);

- Adição do controlo de verificação do fotómetro UNL-FT001 com solução determinada por titulação (periodicidade: 365 dias);
- Correção da periodicidade do controlo de verificação da esterilidade da câmara de fluxo laminar.

O controlo do estado dos equipamentos do laboratório, quer por calibração, verificação e/ou manutenção, é um importante processo para a garantia da qualidade e aumento da confiança nos ensaios realizados. A revisão do plano global de intervenções dos equipamentos e implementação do mesmo assegura o conhecimento e evidência do estado atual dos equipamentos e a correta utilização e manipulação dos mesmos.

A criação de um guia geral de calibração, verificação e manutenção serve de suporte e orientação para o estabelecimento de um plano de intervenção para novos equipamentos que o laboratório venha adquirir ou na revisão e correção de planos já existentes.

As mudanças foram comunicadas ao pessoal responsável e foi também feito um levantamento das restantes intervenções em falta, para que fossem corrigidas assim que possível.

### **3.8. Processo de transição para a norma ISO/IEC 17025:2017**

Em novembro de 2017, foi publicada uma nova revisão da norma ISO/IEC 17025, onde são estabelecidos os requisitos gerais de competência para laboratórios de ensaio e calibração refletindo as exigências atuais do mercado.

A revisão introduz algumas alterações que requerem a reformulação ou implementação de novas práticas, novos requisitos que não estavam incluídos na norma anterior e outras modificações que são apenas ao nível da linguagem ou estrutura (o requisito permanece igual mudando apenas o número da cláusula e/ou a forma como está organizado e redigido). As principais mudanças estão associadas à:

- Nova estrutura, alinhada com as restantes normas ISO 17000 publicadas recentemente – apresenta agora oito capítulos e dois novos anexos;
- Modificação do âmbito sendo agora explícito que se aplica a todas as atividades do laboratório desde ensaios, calibrações e amostragem associada a subsequente calibração e ensaio;
- Introdução da abordagem por processos, tal como na norma ISO 9001:2005 – dado maior ênfase aos resultados do processo;

- Introdução e descrição do pensamento baseado no risco e oportunidades de melhoria, em conformidade com a norma ISO 9001:2015;
- Atualização da terminologia;
- Maior número de opções, mais geral e maior flexibilidade nos requisitos para processos, procedimentos, informação documentada e responsabilidades organizacionais.

Em relação à sua estrutura, os requisitos encontram-se agora agrupados em 5 capítulos (capítulos 4 a 8). O capítulo 4 é referente aos requisitos gerais de imparcialidade e confidencialidade. Apesar destes tópicos serem mencionados na versão anterior, são agora requisitos obrigatórios e têm uma secção completa a eles dedicada. O capítulo 5 retrata os requisitos de estrutura, isto é, sobre a entidade legal, gerência e responsabilidades. Os requisitos técnicos da versão de 2005 da norma são, de modo geral, divididos nos requisitos de recurso (capítulo 6) e requisitos de processo (capítulo 7). Os requisitos do sistema de gestão da qualidade são incorporados no capítulo 8 e detalhados no anexo B. Os laboratórios podem optar por uma de duas opções relativamente à implementação de um sistema de gestão da qualidade para suportar e demonstrar o cumprimento consistente dos requisitos das cláusulas 4 a 7 (ISO, 2017a).

O período de transição estende-se até 30 de novembro de 2020, altura em que os laboratórios com atividades acreditadas devem demonstrar conformidade com os requisitos especificados na norma ISO/IEC 17025:2017. Durante o período de transição, tanto a versão de 2005 como de 2017 são válidas e aplicáveis. No entanto, em junho de 2018, o IPAC emitiu a Circular Clientes N°5/2018 sobre a transição para o referencial normativo ISO/IEC 17025:2017 a ser seguida em Portugal, onde informa que a partir de 1 de janeiro de 2019 as avaliações são feitas face à versão de 2017, deixando o IPAC de realizar avaliações presenciais segundo a norma ISO/IEC 17025:2005 (IPAC, 2018).

Seria de esperar que, após o cumprimento das tarefas deste trabalho, o laboratório conduzisse uma auditoria interna para avaliação global do estado do SGQ face ao cumprimento da norma NP EN ISO/IEC 17025:2005, procedesse a alguns ajustes, se necessário, e estivesse apto para submeter a candidatura à acreditação dos ensaios pretendidos. Porém, em virtude dos prazos definidos pelo IPAC, para a concessão da acreditação, o Laboratório CPC deverá idealmente demonstrar conformidade com a norma ISO/IEC 17025:2017. A organização deverá efetuar um processo de transição para a nova norma, ajustar e implementar novas formas de atuação de acordo com os requisitos descritos na versão mais recente. O processo de transição deve contemplar as etapas de:

- Identificação dos requisitos novos, revistos e excluídos;
- Análise do SGQ e impacto das alterações da norma no mesmo;
- Definição e implementação de uma política de transição e plano de ações;
- Verificação da implementação da política de transição e plano de ações e execução dos ajustes necessários.

Com o objetivo de preparar e orientar o processo de transição para a norma versão da norma, procurou-se identificar os novos requisitos e estabelecer a relação entre os requisitos de ambas as versões. Para tal, foram estudadas as normas NP EN ISO/IEC 17025:2005 e ISO/IEC 17025:2017, bem como os guias elaborados por entidades de acreditação de diferentes países para a interpretação da versão mais recente da norma (Eurolab, 2017; NATA, 2018; UKAS, 2018). Em anexo (Anexo VI. Correlação entre as Normas ISO/IEC 17025:2005 e ISO/IEC 17025:2017), é apresentado o resultado desta tarefa.

Considerando apenas os requisitos abordados neste trabalho, os requisitos correspondentes na nova versão da norma não apresentam alterações de grande dimensão, pelo que não deverá ser necessário proceder a modificações significativas no modo de atuação do laboratório. No que respeita aos requisitos de gestão da qualidade estabelecidos no capítulo 8 da norma ISO/IEC 17025:2017, como o laboratório é certificado pela norma ISO 9001:2015, deverá preferencialmente eleger a opção B, que permite a implementação de um sistema de gestão compatível com a norma da gestão da qualidade (ISO 9001:2015). Não obstante, deverá ser feita uma análise completa do SGQ e estudo de todos os requisitos da norma ISO/IEC 17025:2017, seguindo as etapas mencionadas para o processo de transição.

## CAPÍTULO 4. CONCLUSÃO

Um sistema de gestão da qualidade coerente e compatível com a atividade do laboratório, suportado na norma ISO/IEC 17025, constitui uma mais valia para o laboratório, como também para toda a sociedade. A acreditação é um processo importante para laboratórios de análises de águas e produtos alimentares, não só pela obtenção de reconhecimento formal da competência técnica, mas também pela legislação comunitária e nacional vigente.

O trabalho desenvolvido incidiu no estudo de parâmetros pré-definidos relativos à organização da documentação normativa externa, documentação da atividade de amostragem, adequação dos métodos de ensaio, plano de controlo da qualidade e plano de intervenção dos equipamentos. O estudo destes pontos teve como objetivo orientar a atuação do laboratório em conformidade com a norma NP EN ISO/IEC 17025:2005 para posterior candidatura ao IPAC. A revisão, atualização e concessão de documentos e procedimentos permitiu facilitar e melhorar a pesquisa de informação, sempre que pertinente, e fomentou também a implementação das práticas e ferramentas apropriadas para o bom desempenho das atividades laboratoriais e controlo de todo o processo de trabalho. A existência de documentação onde é definida a metodologia a seguir e o registo da informação relevante, nomeadamente a derivada de atividades de controlo da qualidade, serve de apoio à demonstração das práticas de excelência e da competência para o âmbito em questão. A atividade de colheita de águas de consumo é agora definida num manual, que acompanha o técnico, onde são descritos os procedimentos, práticas e orientações para a sua correta execução. O Laboratório CPC aplica métodos normalizados de acordo com as normas de referências em vigor e adequados aos respetivos ensaios. O controlo da qualidade dos ensaios engloba todos os fatores associados ao processo desde o controlo da qualidade do ambiente, dos reagentes, equipamentos e materiais, monitorização da capacidade dos técnicos e execução dos ensaios. As metodologias de controlo da qualidade estão definidas e documentadas em procedimentos laboratoriais, tendo em conta a influência dos diferentes fatores, contexto do laboratório, âmbito do ensaio e exigências das normas relevantes, desde logo a norma NP EN ISO/IEC 17025:2005.

Os processos possíveis foram prontamente implementados e colocados em práticas, enquanto outros aguardam implementação em breve pela exigência de aquisição de materiais e ou serviços externos, como é por exemplo o caso dos equipamentos que requerem calibração externa em laboratórios competentes.

Face às recentes informações dadas pelo IPAC, é expectável que aquando da submissão da candidatura à acreditação, o laboratório tenha de demonstrar conformidade com os requisitos da norma ISO/IEC 17025:2017. Será necessário, portanto, elaborar e implementar um plano de estudo da nova versão da norma, revisão e atualização do sistema à luz da norma recentemente publicada. Procurou-se dar início aos trabalhos de transição para a nova versão da norma através do estudo das alterações presentes na norma revista. Dada a maior flexibilidade da norma ISO/IEC 17025:2017, a compatibilidade com a norma ISO 9001:2015 e o facto de o Laboratório CPC possuir certificação segundo a mesma, a implementação da nova norma para a acreditação não deverá apresentar dificuldades maiores, nem impor alterações de grande extensão. Ainda assim, é esperado que o laboratório execute todos os passos necessários para a implementação da norma ISO/IEC 17025:2017, averigue o estado do SGQ e depois submeta a candidatura para a acreditação.

## BIBLIOGRAFIA

- ABNT. (2000). ABNT NBR 14610:2000 Indicador de temperatura com sensor - Calibração por comparação com instrumento padrão. *ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas*.
- AIHA. (2016). Guidance on Traceability of Measurement. *Laboratory Accreditation Programs - Quality System Guidance*, (3).
- Almeida, J. A. S. de, & Pires, Â. de C. (2006). Acreditação: Vantagens e dificuldades da implementação de um Sistema da Qualidade num laboratório de ensaio e /ou calibração. *Química*, 101(Abr.-Jun), 34–39. Retrieved from <http://www.spq.pt/magazines/BSPQ/626/article/30001307/pdf>
- Barradas, J., & Sampaio, P. (2011). ISO 9001 or ISO 17025 : What is more important for the metrology laboratory. *12th International Symposium on Quality*, (January 2011), 309–318. Retrieved from <http://repositorium.sdum.uminho.pt/handle/1822/15437>
- Cadete, M. (2009). Controlo microbiológico e requisitos da amostragem. *Segurança e Qualidade Alimentar*, 7(Dezembro), 34–35. Retrieved from <http://www.infoqualidade.net/SEQUALI/PDF-Sequali-07/Page 34-35.pdf>
- CALA. (2007). T27 – CALA 17025 : 2005 Handbook. *CALA - Canadian Association for Laboratory Accreditation*, (December).
- CALA. (2012). A61-02 – CALA Guidance on Traceability. *CALA - Canadian Association for Laboratory Accreditation*.
- Chibito, V. L. dos R. (2017). *A Norma ISO/IEC 17025 nos Laboratórios Portugueses: Motivações, Benefícios, Barreiras e Obstáculos à sua implementação*. Universidade de Évora.
- Cuadros-Rodríguez, L., González-Casado, A., Ruiz-Samblás, C., & Bagur-González, M. G. (2017). Evolution of the Quality Concept in Analytical Laboratories. In *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. <https://doi.org/10.1002/9780470027318.a9515>
- DL nº125/2004. (2004). Decreto-Lei nº125/2004 de 31 de maio do Ministério da Economia. *Diário Da República: 1ª Série, Nº127*, 3408–3411.
- DL nº306/2007. (2007). Decreto-Lei nº 306/2007 de 27 de agosto do Ministério Do Ambiente , Do Ordenamento Do Território E Do Desenvolvimento Regional. *Diário Da República: I Série, Nº164*,

5747–5765.

EURACHEM. (2013). EURACHEM Guide - Accreditation for Microbiological Laboratories, 2.

Eurolab. (2017). Handbook ISO/IEC 17025:2017. *Eurolab - European Federation of National Associations of Measurement, Testing and Analytical Laboratories*, 1–32.

FDA. (2014). ORA Laboratory Procedure 5.5 - Equipment. *FDA - Food and Drug Administration*, 18. Retrieved from [http://www.fda.gov/ora/science\\_ref/lm/default.htm](http://www.fda.gov/ora/science_ref/lm/default.htm)

GTOMCA - Grupo de Trabalho Ocorrência Microbiológica na Cadeia Alimentar. (2017). Guia para o Estabelecimento de Critérios Microbiológicos em Géneros Alimentícios. *PortFIR - Plataforma Portuguesa de Informação Alimentar*, (Fevereiro).

IPAC. (2006). OGC005 - Guia para a Estimativa de Incerteza em Ensaios Microbiológicos. *IPAC - Instituto Português de Acreditação*.

IPAC. (2007). DRC001 - Regulamento Geral de Acreditação. *IPAC - Instituto Português de Acreditação*.

IPAC. (2009). CIRCULAR n.º 8/2009. *IPAC - Instituto Português de Acreditação*.

IPAC. (2010). OGC001 - Guia Para a Aplicação da NP EN ISO/IEC 17025. *IPAC - Instituto Português de Acreditação*. Retrieved from <http://www.ipac.pt/docs/publicdocs/requisitos/OGC001.pdf>

IPAC. (2012). DRC005 - Procedimento para Acreditação de Laboratórios. *IPAC - Instituto Português de Acreditação*.

IPAC. (2018). Circular Clientes N.º5/2018. *IPAC - Instituto Português de Acreditação*.

IPQ. (2005). NP EN ISO/IEC 17025:2005 - Requisitos gerais de competência para laboratórios de ensaio e calibração. *IPQ - Instituto Português Da Qualidade*.

IPQ. (2015). NP EN ISO 9000:2015 - Sistemas de gestão da qualidade - Fundamentos e vocabulário. *IPQ - Instituto Português Da Qualidade*.

IPQ. (2018). Instituto Português da Qualidade. Retrieved April 14, 2018, from <http://www1.ipq.pt>

IPQ, & Inmetro. (2012). VIM - Vocabulário Internacional de Metrologia. *IPQ - Instituto Português Da Qualidade*, (1ª Edição).

ISO. (1999). ISO 6222: 1999 Water quality – Enumeration of culturable micro-organism - Colony count by inoculation in a nutrient agar culture medium. *ISO - International Organization for*

*Standardization.*

- ISO. (2001). ISO 16649-2:2001 Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli* – Part 2: Colony-count technique at 44 degrees C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide. *ISO - International Organization for Standardization.*
- ISO. (2004). ISO/IEC 17000:2004 Conformity assessment - Vocabulary and general principles. *ISO - International Organization for Standardization.*
- ISO. (2006a). ISO/TS 19036:2006 Microbiology of food and animal feeding stuffs - Guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations. *ISO - International Organization for Standardization.*
- ISO. (2006b). ISO 19458:2006 Water quality – Sampling for microbiological analysis. *ISO - International Organization for Standardization.*
- ISO. (2006c). ISO 5667-1:2006 Water quality – Sampling – Part 1: Guidance on the design of sampling programmes and sampling techniques. *ISO - International Organization for Standardization.*
- ISO. (2006d). ISO 5667-5:2006 Water quality – Sampling – Part 5: Guidance on sampling of drinking water from treatment works and piped distribution systems. *ISO - International Organization for Standardization.*
- ISO. (2012a). ISO 29201:2012 Water quality - The variability of test results and the uncertainty of measurement of microbiological enumeration methods. *ISO - International Organization for Standardization.*
- ISO. (2012b). ISO 5667-3:2012 Water quality – Sampling Part 3 : Guidance on passive sampling in. *ISO - International Organization for Standardization.*
- ISO. (2013a). ISO 4833-1:2013 Microbiology of the food chain – Horizontal method for the enumeration of microorganisms – Part 1: Colony count at 30 °C by the pour plate technique. *ISO - International Organization for Standardization.*
- ISO. (2013b). ISO 7218:2007/Amd 1:2013 Microbiology of food and animal feeding stuffs - General requirements and guidance for mic. *ISO - International Organization for Standardization.*
- ISO. (2016a). ISO 5667-14:2014 Water quality - Sampling Part 14: Guidance on quality assurance and

- quality control of environmental water sampling and handling. *ISO - International Organization for Standardization*.
- ISO. (2016b). ISO 5667-24:2016 Water quality – Sampling Part 24 : Guidance on the auditing of water quality sampling. *ISO - International Organization for Standardization*.
- ISO. (2016c). ISO 9308-1:2014/Amd-1:2016 Water quality – Enumeration of Escherichia coli and coliform bacteria - Part 1: Membrane filtration for waters with low bacterial background flora. *ISO - International Organization for Standardization*.
- ISO. (2017a). ISO/IEC 17025:2017 - General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. *ISO - International Organization for Standardization*.
- ISO. (2017b). ISO 17025 - Testing and calibration laboratories. *ISO - International Organization for Standardization*, (1). Retrieved from <https://www.iso.org/publication/PUB100424.html>
- ISO. (2017c). ISO 6579-1:2017 Horizontal method for the detection , enumeration and serotyping of Salmonella - Part 1: Detection of Salmonella spp. *ISO - International Organization for Standardization*. Retrieved from <https://www.iso.org/standard/56712.html>
- Lopes, H. (2010). Acreditação de Laboratórios. *IQA, Sistemas de Gestão Da Qualidade*.
- NATA. (2018). General Accreditation Criteria Transition Policy for the implementation of ISO/IEC 17025:2017. *NATA - National Association of Testing Authorities*, (April).
- PHE. (2018). Schedules: 1 April 2018 to 31 March 2019 - PHE Food and Water Microbiology External Quality Assessment Schemes. *Food and Environmental Proficiency Testing Unintesting Unint*, (March), 1–10.
- Reg. (CE) 765/2008. (2008). Regulamento (CE) 765/2008 do Parlamento Europeu e do Conselho da União Europeia de 9 de julho de 2008. *Jornal Oficial Da União Europeia*, 30–47.
- Reg. (CE) N°2073/2005. (2005). Regulamento (CE) N°2073/2005 da Comissão de 15 de novembro de 2005. *Jornal Oficial Da União Europeia*.
- Relacre. (2007). Guia Relacre 6 - Acreditação de Laboratórios de Ensaios Microbiológicos. *Relacre - Associação de Laboratórios Acreditados de Portugal*.
- Relacre. (2016). Guia Relacre 29 - Estimativa de incerteza em ensaios microbiológicos de águas. *Relacre - Associação de Laboratórios Acreditados de Portugal*.

- Relacre. (2017). Guia Relacre 28 - Amostragem de águas. *Relacre - Associação de Laboratórios Acreditados de Portugal*.
- Sanas. (2014). Tr 28-01 - Criteria for Validation and Quality Assurance in Microbiological Testing. *Sanas - South African National Accreditation System*.
- UKAS. (2018). ISO/IEC 17025:2017 - Transition Template. *UKAS - United Kingdom Accreditation Service*, (Junho).
- UNIDO. (2009). Complying with ISO 17025: A practical guidebook for meeting the requirements of laboratory accreditation schemes based on ISO 17025:2005 or equivalent national standards. *UNIDO - United Nations Industrial Development Organization*.
- Vieira, S. (2008, June). A qualidade e a certificação. *Newsletter Nº11 - Qualiwork*.
- Weitzel, M., Lee, S. M., Smoot, M., Viafara, N., & Brodsky, M. (2007). How to Meet ISO 17025 Requirements for Method Verification. *Analytical Laboratory Accreditation Criteria Committee (ALACC) Guide*.



# ANEXO I. LEVANTAMENTO DE DOCUMENTOS DESATUALIZADOS NA BASE DE DADOS

**Tabela I.1** - Levantamento dos documentos normativos desatualizados e respetiva norma em vigor

Grupo	<i>Company Web</i>	Em vigor
<b>AV</b>	ISO 15302:2007	ISO 15302:2017
	ISO 3960:2007	ISO 3960:2007
	ISO 3961:2003	ISO 3961:2013
	ISO 5508:1990	ISO 12966-1:2014 ISO 12966-4:2015
	ISO 6320:2000	ISO 6320:2017
	ISO 660:1999	ISO 660:2009
	ISO 662:1998	ISO 662:2016
<b>LM</b>	ISO 5492:1992	ISO 5492:2008
	ISO 5496:1992	ISO 5496:2006
	ISO 6658:2005	ISO 6658:2017
	ISO/TS 16649-3:2005	ISO 16649-3:2015
	ISO 3972:1991	ISO 3972:2011/Cor 1:2012
	ISO 13299:2003	ISO 13299:2016
	NP 589:1987	NP 589:2008
	NP 720:1983	NP 720:2009
<b>MF</b>	ISO 11290-2:1998	ISO 11290-2:2017
	ISO 21149:2006	ISO 21149:2017
	ISO 22718:2006	ISO 22718:2015
	ISO 11290-1:1996	ISO 11290-1:2017

	ISO 11290-2:1998	ISO 11290-2:2017
	ISO 10272:1995/Cor-2:1997	ISO 10272-2:2017
	ISO 10272-1:2006	
	ISO 17604:2003/AMD-1:2009	ISO 17604:2015
	ISO 21528-1:2004	ISO 21528-1:2017
	ISO 21528-2:2004	
	ISO 3720:1986/Cor 1:1992	ISO 3720:2011
	ISO 3720:1986/Cor 2:1992	
	ISO 22717:2006	ISO 22717:2015
	ISO 6579:2002	ISO 6579-1:2017
	ISO 6887-3:2003	ISO 6887-3:2017
	ISO 6887-4:2003	ISO 6887-4:2017
	ISO/TS 11133-1:2009	ISO 11133:2014
	ISO/TS 11133-2:2003	
	ISO/TS 16649-3:2005	ISO 16649-3:2015
	ISO/TS 22964:2006/Amd 1:2004	ISO 22964:2017
	ISO/TS 3632-1:2003	ISO 3632-1:2011
	ISO/TS 3632-2:2003	ISO 3632-2:2010
	ISO/TS 6090:2004	
	NP 1785:1986	EN 1785:2003
	NP 1828:1982	EN ISO 1828:2012
<b>WA</b>	ISO 17994:2004	ISO 17994:2014
	ISO 11731-2:2004	ISO 11731:2017
	ISO 9308-1:2000	ISO 9308-1:2014/Amd 1:2016
	ISO 6340:1995	ISO 19250:2010

## ANEXO II. REQUISITOS PARA AMOSTRAGEM

Tabela II.1 - Requisitos da atividade de amostragem de águas de consumo, documentos suporte e estado de implementação.

Documento normativo	Requisito	Estado	Suporte / Registo / Observações	
ISO 19458:2006 ISO 5667-5:2006 ISO 5667-24:2016	Formação do técnico de colheita	Treino formal	X	
		Registo do treino	X	
		Determinação da competência (seleção e monitorização de técnicos de colheita)	X	
		Documentação da formação do técnico	X	
ISO 17025:2005 ISO 5667-1:2006	Equipamentos / Materiais	Lista de equipamentos necessários para a colheita	✓	Manual de Amostragem de Água de Consumo Humano
		Folha de registo da amostragem	✓	Boletim de Registo de Recolha de Amostras de Água
ISO 19458:2006 ISO 5667-1:2006 ISO 5667-3:2003	Recipiente	Seleção do material do recipiente e volume	✓	Manual de Amostragem de Água de Consumo Humano
		Tratamento / descontaminação de recipientes de colheita	✓	Manual de Amostragem de Água de Consumo Humano

		Esterilização do recipiente	✓	Manual de Amostragem de Água de Consumo Humano Procedimento Laboratorial – Controlo de Recipiente de Microbiologia
		Inativação de desinfetantes com tiosulfato de sódio	✓	Procedimento Laboratorial – Controlo de Recipiente de Microbiologia <i>LabGest</i>
ISO 19458:2006 ISO 5667-5:2006 ISO 5667-14:2014 ISO 5667-24:2016 ISO/IEC 17025:2005 Guia Relacre 28	Controlo da qualidade	Controlo da qualidade dos recipientes: teste de esterilidade	✓	Procedimento Laboratorial – Controlo de Recipiente de Microbiologia Controlo da Qualidade da Amostragem
		Controlo da qualidade dos recipientes: teste da presença do tiosulfato de sódio	✓	Procedimento Laboratorial – Controlo de Recipiente de Microbiologia Controlo da Qualidade da Amostragem
		Controlo da qualidade: teste da toxicidade residual	X	
		Branco em campo	✓	Controlo da Qualidade da Amostragem (a implementar)
		Replicado	✓	Controlo da Qualidade da Amostragem (a implementar)
		<i>Spike</i> de amostragem	✓	Controlo da Qualidade da Amostragem (a implementar)

		Estimativa da incerteza	✓	Controlo da Qualidade da Amostragem Folha de Cálculo – Estimativa da Incerteza da Amostragem (a implementar)
ISO 19458:2006 ISO 5667-5:2006 Guia Relacre 28	Metodologia de colheita	Procedimento de colheita de amostras de água em pontos de amostragem localizados na eta, reservatório, rede de adução ou rede de distribuição	✓	Manual de Amostragem de Água de Consumo Humano
		Procedimento de colheita de amostras de água na torneira do consumidor	✓	Manual de Amostragem de Água de Consumo Humano
		Procedimento de colheita de amostras de águas subterrâneas	✓	Manual de Amostragem de Água de Consumo Humano
		Procedimento para caso específico da <i>Legionella</i>	✓	Manual de Amostragem de Água de Consumo Humano Procedimento Laboratorial “Colheita de Amostras de Água para Análise de <i>Legionella</i> ”.
		Boas práticas	✓	Manual de Amostragem de Água de Consumo Humano
ISO 5667-3:2003		Medidas de boas práticas e precauções	✓	Manual de Amostragem de Água de Consumo Humano

	Preservação e manuseamento de amostras	Métodos de conservação	✓	Manual de Amostragem de Água de Consumo Humano
		Reagentes necessários para preservação	✓	Manual de Amostragem de Água de Consumo Humano
		Tratamento a aplicar de acordo com tipo de amostra e parâmetros a analisar	✓	Manual de Amostragem de Água de Consumo Humano
ISO 5667-3:2003 ISO 19458:2006 Guia Relacre 28	Transporte e armazenamento	Procedimento de transporte adequado para cada tipo de amostra e parâmetro a analisar	✓	Manual de Amostragem de Água de Consumo Humano
		Tempo máximo/aceitável entre início da colheita e receção no laboratório	✓	Manual de Amostragem de Água de Consumo Humano Boletim de Registo de Recolha de Amostras de Água
ISO 5667-5:2006 ISO 5667-24:2016 Recomendações ESRAR nº1/2017	Identificação e registo das amostras	Localização e hora/data da colheita	✓	Boletim de Registo de Recolha de Amostras de Água
		Identificação rastreável (código único de identificação; técnico de recolha; informação de segurança sobre agente de preservação presente no recipiente; informação sobre conteúdo do recipiente após colheita; qualidade do recipiente antes da utilização)	✓	Boletim de Registo de Recolha de Amostras de Água Etiqueta do recipiente de recolha Registo de informação no <i>LabGest</i>
		Informação sobre método de preservação, se aplicável	✓	Boletim de Registo de Recolha de Amostras de Água

ISO 5667-24:2016	Programa de amostragem	Tipo de amostra	✓	Boletim de Registo de Recolha de Amostras de Água
		Data e hora da colheita	✓	Boletim de Registo de Recolha de Amostras de Água
		Local de colheita	✓	Boletim de Registo de Recolha de Amostras de Água
		Técnico de colheita	✓	Boletim de Registo de Recolha de Amostras de Água
		Registo dos resultados das medições em campo	✓	Boletim de Registo de Recolha de Amostras de Água
		O documento permite que o técnico remarque a colheita ou cancele	✓	Boletim de Registo de Recolha de Amostras de Água Manual de Amostragem de Água de Consumo Humano (prevê estas situações)
Guia Relacre 28	Receção de amostras	Registo de hora e data de receção	✓	<i>LabGest</i>
		Verificação das condições de receção	✓	Responsável pela receção das amostras



## ANEXO III. CONTROLO DA QUALIDADE LABORATORIAL

Tabela III.1 - Controlo da Qualidade do Laboratório.

Área	Controlo	Procedimento	Objetivo	Frequência	Documento de suporte	Documento de registo	
Controlos gerais	Estimativa da incerteza	Ensaios de microbiologia em águas	Determinar o desvio padrão e incerteza expandida em condições de análise diferentes tanto quanto possível	Avaliar o desempenho de cada método de ensaio	Anual	PQ009 PQ011	Folha de cálculo – Incerteza águas Folha de cálculo – Incerteza alimentos
		Ensaios de microbiologia de alimentos					
	Participação em ensaios interlaboratoriais	Ensaios de microbiologia em águas	-	Verificar o desempenho do laboratório, dos operadores e aferir eventuais erros sistemáticos	1 participação antes da concessão e, no mínimo, 1 participação durante o ciclo de acreditação para cada método	PQ009	Folha de cálculo – Ensaios interlaboratoriais
		Ensaios de microbiologia de alimentos					
	Controlo da água	pH	Conforme descrito nos procedimentos laboratoriais dos respetivos ensaios	Verificar a qualidade da água na preparação de meios e reagentes	pH e condutividade antes de cada utilização; Análise microbiológica semestral	PQ009	Folha de cálculo – Controlo Água Lab
		Condutividade					

		Análise microbiológica					
<b>Material e equipamentos</b>		Verificação dos equipamentos					<i>LabGest</i> – Plano de controlo <i>Company Web</i> – Registo de verificações e calibrações Folha de cálculo – Verificação de Micropipetas; Folha de cálculo – Verificação Termómetros Folha de cálculo – Temperatura Banhos Folha de cálculo – Temperatura Equipamentos; Folha de cálculo – Verificação Balanças
		Análise de certificados de calibração e determinação de erros máximos admissíveis (EMA)	-	Avaliar o desempenho dos equipamentos	Equipamentos gerias: <i>LabGest</i> – Plano de controlo Material de vidro calibrado – 5 anos EMA – aquando de cada calibração	PQ009 PSGQ05	

Controlos de microbiologia	Controlos ambientais, superfícies e operadores	Operadores	Placa de contacto	Avaliar a qualidade do ar, estado de higienização de superfícies e operadores	Mensal	PQ001 PQ009	<i>LabgGest</i> – Plano de Controlo
		Superfícies	Placa de contacto				
		Ar laboratório	Placa aberta por 5 minutos em pontos estratégicos				
	Controlo de esterilidade do ar	Filtração de amostras de águas	Placa aberta por 5 minutos em pontos estratégicos	Verificar esterilidade do ar em operações críticas	Sempre que se realizam operações críticas	PQ001 PQ009	<i>LabgGest</i> – Plano de Controlo
		Outras eventuais operações críticas					
	Controlos de temperaturas	Estufas	Verificação com termómetro calibrado Verificação da temperatura a cada utilização Verificação contínua com <i>datalogger</i> Verificação da uniformidade e estabilidade	Verificar o desempenho dos equipamentos termostatizados	Definida no <i>LabGest</i> para cada equipamento	PQ009	<i>LabgGest</i> – Plano de Controlo Folha de cálculo – Temperatura Banhos Folha de cálculo – Temperatura Equipamentos
		Banhos termostatizados					
		Frigoríficos					
		Congeladores					
	Controlo dos meios	pH	-	Verificar conformidade com característica dadas pelo fabricante	A cada lote produzido	PQ009 PQ012 PQ011	<i>LabGest</i> – Plano de Controlo Folha de cálculo – Produtividade meios
		Esterilidade		Verificar inocuidade dos meios à temperatura de ensaio			
		Controlo positivo					

		Controlo negativo		Verificar comportamento do meio			
		Produtividade		Controlo da eficácia do meio			
		Seletividade		Controlo do desempenho			
<b>Controlo do volume de diluente</b>	Aferição inicial	Pesar pelo menos 10 recipientes antes e depois da autoclavagem e determinar a diferença	Determinar taxa de evaporação	Sempre que alteradas as condições de esterilização, volume ou tipo de recipiente	PQ003	<i>LabGest</i> – Plano de Controlo Folha de cálculo – Controlo do diluente	
	Controlo de rotina		Verificar se a taxa de evaporação se mantém consistente	Mensal	PQ003	Folha de cálculo – Verificação do diluente	
<b>Controlo dos recipientes</b>	Esterilidade	-	Verificar a esterilidade do recipiente	Aquando da receção de novos recipientes; No mínimo, 1 por cada lote produzido (após autoclavagem)	PQ004	<i>LabGest</i> – Plano de Controlo	
	Presença de tiosulfato	-	Detetar a presença de tiosulfato de sódio		PQ004	<i>LabGest</i> – Plano de Controlo	
<b>Branco</b>	Ensaio de microbiologia em águas	Substituir a amostra por água destilada esterilizada	Esterilidade do processo de análise	Em cada corrida	PQ009	Folha de cálculo – Controlo Branco <i>LabGest</i> – Plano de Controlo	
	Ensaio de microbiologia em alimentos	Substituir a amostra por diluente esterilizado					

<b>Duplicados</b>	Ensaio de microbiologia em águas	Filtrar a amostra duas vezes ou plaquear duas vezes	Precisão intermédia Qualificação de pessoal	Diariamente ou em cada grupo de 25 amostras	PQ009 PQ011	Folha de cálculo – Carta de duplicadas águas Folha de cálculo – Carta de duplicados alimentos
	Ensaio de microbiologia em alimentos	Plaquear duas vezes a mesma diluição				
<b>Ensaio em paralelo</b>	Ensaio de microbiologia em águas	Efetuar análises sobre a mesma amostra por técnicos diferentes	Precisão intermédia Estimativa da incerteza Qualificação do pessoal	No mínimo, 2 amostras por mês	PQ009	Folha de cálculo – Cartas de paralelas águas Folha de cálculo – Cartas de paralelos alimentos
	Ensaio de microbiologia em alimentos					
<b>Ensaio em réplicas</b>	Ensaio de microbiologia em alimentos	A partir da mesma amostra, preparar duas suspensões-mãe diferentes	Precisão intermédia Qualificação de pessoal	No mínimo, 2 amostra por mês	PQ009	Folha de cálculo – Carta de réplicas
<b>Contagens em duplicado</b>	Ensaio de microbiologia em águas	Efetuar a contagem da mesma placa por 2 ou mais técnicos diferentes	Qualificação de pessoal	Mensal	PQ009 VT	Folha de cálculo – Registo de contagens em duplicadas águas Folha de cálculo – Registo de contagens em duplicado alimento
	Ensaio de microbiologia em alimentos					
<b>Cartas guias</b>	Ensaio de microbiologia em águas	Efetuar ensaios com microrganismos de referência	Precisão Qualificação de pessoal	Anual	PQ009	Folha de cálculo – Carta Guia Águas

		Ensaio de microbiologia em alimentos				PQ011	Folha de cálculo – Carta Guia Alimentos
--	--	--------------------------------------	--	--	--	-------	---

## ANEXO IV. GUIA PARA A CALIBRAÇÃO, VERIFICAÇÃO E MANUTENÇÃO DE EQUIPAMENTOS

Tabela IV.1 – Guia do plano de intervenções (calibração, verificação e manutenção) dos equipamentos do Laboratório CPC.

Equipamento	Calibração		Verificação		Manutenção	
	Requisitos	Periodicidade	Requisitos	Periodicidade	Requisitos	Periodicidade
Micropipeta	Calibração	Anual	Verificação da exatidão e precisão do volume distribuído	De 6 em 6 meses	Em papel de laboratório embebido em álcool 70% aspirar 5 vezes e ejetar em papel de laboratório seco, sem aplicar a ponta na micropipeta	Diária / a cada utilização
					Aspirar e ejetar 5 vezes álcool 70%, sem aplicar a ponta na micropipeta. Deixar a micropipeta entre aberta durante a noite para secar. A micropipeta pode secar na estufa a 60 °C durante 20 minutos.	Quinzenal
					Desmontar as peças desmontáveis e limpar as peças e as	Semestral

					superfícies exteriores com álcool 70%. Deixar a micropipeta entre aberta durante a noite para secar. Deve ficar 24 horas sem ser utilizada.	
					Esterilização na autoclave a uma temperatura de 121 °C durante 20 minuto	De 6 em 6 meses
Microscópio	Calibração rastreável da objetiva micrométrica	Inicialmente	Verificação do alinhamento	Diária / a cada utilização	Serviço de manutenção completo	Anual
Vortex de Bancada	Não aplicável	-	Não aplicável	-	Limpeza das superfícies	Regularmente e/ou após ocorrência de derramamento
Agitador Magnético	Não aplicável	-	Não aplicável	-	Limpeza	Regularmente e/ou após ocorrência de derramamento
Espectrofotômetro de bancada	Não aplicável	-	Não aplicável	-	Limpeza das cuvettes com água destilada	A cada utilização

					Limpeza das superfícies com pano humedecido em água ou álcool. Não utilizar produtos de limpeza abrasivos que podem danificar o equipamento	Semanal
Centrífuga de refrigeração	Calibração rastreável	Anual	Verificação contra um taquímetro calibrado	Anual	Revisão	Anual
					Limpeza e desinfecção	Após cada utilização
Micro-ondas	Não aplicável	-	Não aplicável	-	Limpeza de todos os componentes e superfícies (externas e internas)	Semanal e/ou sempre que necessário
					Desinfecção, após limpeza, com solução desinfetante	Mensal
Stomacker	Não aplicável	-	Não aplicável	-	Limpeza e desinfecção	Regularmente e/ou após ocorrência de derramamento
Câmara de fluxo laminar	Estabelecer tipo de funcionamento	Inicialmente e depois de reparação/ modificação	Verificar com placas de esterilidade	Semanal	Limpeza e desinfecção	Antes e após cada utilização

					Limpeza da superfície da luz UV e substituição. Limpeza com aspiração da face do filtro.	Regularmente/ sempre que necessário
					Verificação do filtro da unidade	Mensal
					Efetuar controlo de partículas e controlo da velocidade do ar por técnico especializado	Anual ou a cada 5000 horas
Turbidímetro	Calibração em três pontos	Semanal	Verificação da calibração	Diária / cada utilização	Limpeza das superfícies e do painel frontal do equipamento com pano humedecido com água	Mensal
					Limpeza dos vias com água destilada	A cada utilização
Amostrador de Ar	Calibração com DA-100 anemómetro digital	Anual	Verificação interna com medições em triplicado	De 6 em 6 meses	Desinfecção das superfícies com álcool 70%	A cada utilização
					Esterilização da tampa do amostrador na autoclave a 121 °C	A cada utilização
Hotte Química	Não aplicável	-	Não aplicável	-	Limpeza após cada utilização	Diária

					Limpeza com detergente desengordurante	Mensal
					Desinfecção com solução desinfetante	Mensal
					Verificação da velocidade de exaustão do ar, equilíbrio de pressão e os dispositivos de suspensão da janela-guilhotina	Anual
Condutivímetro	Não aplicável	-	Verificação com soluções padrão	Diária / cada utilização	Limpeza da célula com água destilada ou desionizada	A cada utilização
Balança	Calibração totalmente rastreável	Anual	Verificação do zero e leitura com um peso	Diária / cada utilização	Limpeza de todos os resíduos	Antes de cada utilização
					Limpeza dos resíduos, prato de pesagem e das superfícies	Diária
			Verificação da calibração com pesos de calibração	De 3 em 3 meses	Desinfecção	Semanal
					Revisão	Anual

Pesos de calibração	Calibração totalmente rastreável	De 5 em 5 anos	-	-	-	-
Potenciômetro	Calibração com pelo menos dois, e preferencialmente três, tampões	Semanal	Verificação da calibração usando pelo menos dois, e preferencialmente três, tampões	Diária / cada utilização	Limpeza do eletrodo com água destilada ou desionizada	Após cada utilização
					Verificação do nível da solução eletrolítica	A cada utilização
Banho termostático	Estabelecer a estabilidade/ uniformidade da temperatura	Inicialmente de dois em dois anos, e depois de reparação / modificação	Monitorização temperatura	Diária / cada utilização	Remoção do conteúdo, limpeza, higienização e reabastecimento	Regularmente e com frequência, dependendo do uso, ou após ocorrência de algum derrame
			Controlo e registo da temperatura em 3 pontos distintos do banho	Mensal		
			Verificação da temperatura com termómetro calibrado	Mensal		
Estufa de microbiologia	Estabelecer a estabilidade/ uniformidade da temperatura	Inicialmente de dois em dois anos, e depois de reparação / modificação	Monitorização temperatura	Diária / a cada utilização	Limpeza das superfícies internas	Mensal
			Controlo e registo da temperatura em 3 pontos distintos da estufa	Mensal	Desinfecção das superfícies internas	Mensal

			Verificação da temperatura com termómetro calibrado	Trimestral		
Estufa secagem	Não aplicável	–	Não aplicável	–	Limpeza da câmara interna da estufa	De 6 em 6 meses
Estufa refrigerada	Estabelecer a estabilidade/ uniformidade da temperatura	Inicialmente de dois em dois anos, e depois de reparação / modificação	Monitorização temperatura	Diária / a cada utilização	Limpeza e desinfeção das superfícies internas	Quando necessário ou 6 em 6 meses
			Controlo e registo da temperatura em 3 pontos distintos da estufa	Trimestral		
Mufla de bancada	Não aplicável	–	Não aplicável	–	Remoção de todo o material na chaminé resultante da combustão	Antes de cada utilização
					Limpeza das superfícies exteriores com um pano humedecido com detergente neutro	Mensal
					Correr um ciclo com a câmara vazia para queimar qualquer contaminação que possa existir	Ocasionalmente

					Verificação o funcionamento do termopar e trocar se necessário	De 6 em 6 meses
					Verificação das ligações elétrico	Regularmente
Frigorífico	Estabelecer a estabilidade/ uniformidade da temperatura	Inicialmente, de dois em dois anos, e depois de reparação / modificação	Monitorização temperatura	Diária / a cada utilização	Limpeza de todos os componentes e superfícies (externas e internas)	Mensal
					Desinfecção	Mensal
			Controlo e registo da temperatura	90 dias	Descongelação	Anual
					Remoção da poeira das lâminas do motor	Anual
Congelador	Estabelecer a estabilidade/ uniformidade da temperatura	Inicialmente, de dois em dois anos, e depois de reparação / modificação	Monitorização temperatura	Diária / a cada utilização	Limpeza e desinfecção das superfícies internas	Mensal
					Descongelação	Anual
			Controlo e registo da temperatura	90 dias	Remoção da poeira das lâminas do motor	Anual

Termómetro	Recalibração completamente rastreável (Termómetro de referência)	De 5 em 5 anos	Verificação interna dos termómetros de trabalho contra o de referência no ponto de fusão e/ou gama de temperatura de trabalho	De 6 em 6 meses	Limpeza da sonda com água ou detergente neutro	A cada utilização
					Inspeção visual assegurando que o termómetro está em ótimas condições para utilização.	A cada utilização
					Limpeza do exterior com papel humedecido em água ou álcool. Não utilizar produtos de limpeza abrasivos que podem danificar o equipamento	A cada utilização
	Reparações por pessoal especializado e devidamente qualificado	Sempre que necessário				
	Ponto único	Anual			Limpeza com pano húmido isento de ácidos e produtos halogenados	Regularmente e com frequência, dependendo do uso, ou após ocorrência de algum derrame

Placa de aquecimento com agitação	Não aplicável	-	Não aplicável	-	Limpeza com pano húmido isento de ácidos e produtos halogenados	Regularmente e com frequência, dependendo do uso, ou após ocorrência de algum derrame
Autoclave	Estabelecer características para cargas típicas/ciclos típicos	Inicialmente, de dois em dois anos e depois de reparação/modificação	Monitorização da temperatura	A cada utilização	Substituição da água da autoclave	Semanal
					Limpeza de todas as superfícies em aço (interior e exterior)	Semanal
			Testes de sinalizadores	De 6 em 6 meses	Verificação do funcionamento dos sinalizadores	Semanal
			Verificação de esterilização (teste bioindicadores)	Mensal	Limpeza das superfícies, do filtro de esgoto e do purgado	Mensal
			Verificação da relação pressão/temperatura durante a esterilização	Semanal	Teste de vácuo;	Mensal
					Teste do controlador de temperatura;	Mensal

					Descontaminação	Mensal
					Verificações visuais de borracha (vedação), limpeza / camara de drenagem	Regularmente, como recomendado pelo fabricante
			Monitorização e registo da temperatura/pressão	De 3 em 3 meses	Revisão completa	Anual ou como recomendado pelo fabricante
<i>Datalogger</i>	Calibração em três pontos	Anual	Verificação interna contra o de referência no ponto de fusão e/ou gama de temperatura de trabalho	De 6 em 6 meses	Limpeza com pano húmido isento de ácidos e produtos halogenados	Regularmente e com frequência, dependendo do uso, ou após ocorrência de algum derrame
Fotómetro medidor de cloro	Não aplicável	-	Verificação do equipamento com soluções de concentração de cloro padrão	A cada utilização	Limpeza dos frascos num banho de solução de hipoclorito de sódio (0,1 g/L) durante 1 hora e de seguida passar por água desionizada	A cada utilização

			Verificação do equipamento contra 3 concentrações de cloro determinadas por titulação	Anual	Limpeza das superfícies de entrada de luz na câmara	Regularmente
Jarras de anaerobiose	Não aplicável	-	Verificar com indicador de anaerobiose	A cada utilização	Limpeza e desinfecção	A cada utilização

## ANEXO V. DADOS DA VERIFICAÇÃO DE MICROPIPETAS

Tabela V.1 – Resultados da verificação interna das micropipetas efetuada em dezembro de 2017.

Micropipeta	Volume (µL)	Média (mg)	Fator de correção	Volume médio (µL)	Exatidão relativa obtido (%)	Exatidão relativa fabricante (%)	Precisão Relativa (%)	Precisão relativa fabricante (%)	Apreciação
UNL-MP001	10	10,1	1,00291	10,10	1,0	± 1,6	0,75	≤ 0,80	Conforme
	50	50,1	1,00291	50,24	0,5	± 0,8	0,18	≤ 0,24	Conforme
	100	100,2	1,00291	100,52	0,5	± 0,8	0,17	≤ 0,20	Conforme
UNL-MP002	100	100,4	1,00291	100,68	0,7	± 0,9	0,39	≤ 0,40	Conforme
	500	497,3	1,00291	498,74	- 0,3	± 0,7	0,13	≤ 0,20	Conforme
	1000	996,5	1,00291	999,44	- 0,1	± 0,6	0,18	≤ 0,15	Conforme
UNL-MP003	1000	993,8	1,00291	996,71	- 0,3	± 0,6	0,16	≤ 0,25	Conforme
	2500	2494,0	1,00291	2501,31	0,1	± 0,6	0,20	≤ 0,20	Conforme
	5000	4997,4	1,00291	5012,05	0,2	± 0,5	0,14	≤ 0,15	Conforme

UNL- MP004	20	20,2	1,00291	20,21	1,0	$\pm 1,2$	0,58	$\leq 0,60$	Conforme
	100	100,2	1,00291	100,44	0,4	$\pm 0,8$	0,25	$\leq 0,25$	Conforme
	200	199,7	1,00291	200,28	0,1	$\pm 0,6$	0,20	$\leq 0,20$	Conforme
UNL- MP005	0,5	0,5	1,00291	0,50	- 0,2	$\pm 4,0$	1,24	$\leq 2,8$	Conforme
	5	5,0	1,00291	5,02	0,4	$\pm 1,0$	0,50	$\leq 0,6$	Conforme
	10	10,0	1,00291	10,02	0,2	$\pm 0,5$	0,32	$\leq 0,4$	Conforme
UNL- MP006	100	99,2	1,00291	99,50	- 0,5	$\pm 0,9$	0,36	$\leq 0,40$	Conforme
	500	495,6	1,00291	497,02	- 0,6	$\pm 0,7$	0,30	$\leq 0,20$	Conforme
	1000	999,5	1,00291	1002,43	0,2	$\pm 0,6$	0,13	$\leq 0,15$	Conforme
UNL- MP007	1000	999,3	1,00291	1002,29	0,2	$\pm 0,6$	0,19	$\leq 0,25$	Conforme
	2500	2500,2	1,00291	2507,67	0,3	$\pm 0,6$	0,17	$\leq 0,20$	Conforme
	5000	4999,3	1,00291	5014,16	0,3	$\pm 0,5$	0,10	$\leq 0,15$	Conforme
	100	99,3	1,00291	99,59	- 0,4	$\pm 0,9$	0,37	$\leq 0,40$	Conforme

UNL- MP008	500	499,0	1,00291	500,49	0,1	$\pm 0,7$	0,14	$\leq 0,20$	Conforme
	1000	998,3	1,00291	1001,23	0,1	$\pm 0,6$	0,13	$\leq 0,15$	Conforme
UNL- MP009	20	19,8	1,00291	19,85	- 0,8	$\pm 1,2$	0,37	$\leq 0,60$	Conforme
	100	99,1	1,00291	99,36	- 0,6	$\pm 0,8$	0,20	$\leq 0,25$	Conforme
	200	199,3	1,00291	199,86	- 0,1	$\pm 0,6$	0,16	$\leq 0,20$	Conforme



## ANEXO VI. CORRELAÇÃO ENTRE AS NORMAS ISO/IEC 17025:2005 E ISO/IEC 17025:2017

Tabela VI.1 – Correlação entre as normas ISO/IEC 17025:2005 e ISO/IEC 17025:2017 e identificação das mudanças na versão mais recente.

ISO/IEC 17025:2017		ISO/IEC 17025:2005		Identificação de mudanças		Como implementar
Clausula	Título	Clausula	Título	Tipo/Extensão	Descrição	
1.	<b>Âmbito</b>	1.	Âmbito	–	Simplificação do texto	–
2.	<b>Referências normativas</b>	2.	Referências normativas	–	Referência ao documento normativo ISO/IEC Guide 99 (VIM)	–
3.	<b>Termos e Definições</b>	3.	Termos e Definições	Significativa	Enquanto a norma anterior remetia para a norma ISO/IEC 1700 e documento VIM, a nova versão explica os termos imparcialidade, reclamações, comparação interlaboratorial, ensaios de aptidão, laboratório e regras de decisão.  É agora claro com a definição de “laboratório” que o termo se refere a qualquer organização que desempenhe ensaios, calibrações e/ou atividades de amostragem	–
4.	<b>Requisitos gerais</b>	–	–	–	–	–

4.1.	Imparcialidade	4.	Requisitos de gestão	Novo	<p>Abordada de forma geral na norma da versão anterior, é agora um requisito obrigatório;</p> <p>Reforça a presença de objetividade e a ausência de conflitos de interesse que possam interferir e influenciar as atividades do laboratório;</p>	<p>Análise dos potenciais ricos de imparcialidade e de medidas para os eliminar ou reduzir;</p> <p>Elaboração e implementação de um plano de ações;</p> <p>Compromisso do laboratório com a integridade;</p> <p>Análise e revisão pela gestão;</p>
4.2	Confidencialidade	4.	Requisitos de gestão	Novo	<p>Abordada de forma geral da norma da versão anterior, é agora um requisito obrigatório;</p> <p>Exigida para toda a informação existente no laboratório;</p>	<p>Assinatura de uma declaração de confidencialidade pelo pessoal do laboratório, fornecedores, pessoal externo e outros relevantes;</p> <p>Implementar procedimentos que garantam a proteção da informação confidencial dos clientes;</p> <p>Estabelecer, antecipadamente, acordos com o cliente sobre a divulgação de qualquer tipo de informação;</p> <p>Caso o laboratório pretenda tornar qualquer informação pública, o cliente deve ser informado previamente. A não ser que acordado com o cliente, toda a informação é confidencial;</p>

5.	<b>Requisitos de estrutura</b>	4.1	Organização	Significativa	Os termos “gestor da qualidade” e “gestor técnico” não são mencionados, mas as suas funções continuam incluídas na norma – foco nas competências de cada função e não na descrição de um cargo específico;  O laboratório deve ter documentada a extensão das suas atividades, exceto as que são permanentemente subcontratadas;	Adaptar os documentos existentes de modo a incluir um breve resumo das atividades cumprindo o requisito da norma;
6.	<b>Requisitos de recurso</b>	-	-	-	-	-
6.1	Gerais	4.1	Organização	-	-	-
6.2	Pessoal	4.1.5  5.2	Organização  Pessoal	Estrutural	O laboratório deve manter procedimentos e registos que cubram a determinação dos requisitos de competência, seleção, treino, supervisão e autorização e também monitorização da competência do pessoal;	Seguir, cronologicamente, a cláusula 6.2.5 – seleccionar o pessoal, treinar, supervisionar, autorizar e monitorizar – mantendo registos de todas as atividades;  Ajustar os procedimentos de qualificação e monitorização dos técnicos;
6.3	Instalações e condições ambientais	5.3	Instalações e condições ambientais	Estrutural	Enfãse nas medidas de controlo e monitorização das instalações e condições ambientais que devem ser periodicamente revistas;	Rever os documentos e procedimentos, de forma a englobar as atividades efetuadas fora do laboratório, garantindo que

					Assegurar o cumprimento dos requisitos relacionados com as instalações e condições ambientais nas atividades realizadas fora das instalações do laboratório;	as medidas de controlo são aplicadas corretamente;
6.4	Equipamento	5.5	Equipamento	Menor	<p>Para além do acesso ao equipamento necessário para a realização dos ensaios, o laboratório deve estar equipado com padrões, materiais de referência, reagentes e software;</p> <p>Clarificado que a calibração deve ser efetuada quando a precisão ou incerteza da medição de um equipamento afetam a validade dos resultados apresentados e quando a calibração é necessária para estabelecer a rastreabilidade metrológica do resultado final;</p> <p>Um programa de calibração deve ser estabelecido, revisto e ajustado sempre que necessário, garantindo a confiança no estado da calibração;</p>	<p>Estender o plano de gestão de equipamentos (identificação, inventário, armazenamento, plano de intervenções – calibração, verificação e manutenção – registo de avarias e reparações) a padrões, materiais de referência, reagentes e softwares;</p> <p>Antes de utilizar um novo software, proceder à sua validação;</p>
6.5	Rastreabilidade metrológica	5.6	Rastreabilidade metrológica	Estrutural	<p>Clarificação e simplificação do texto;</p> <p>Remoção das notas 2 a 8 da norma anterior;</p>	Na impossibilidade de rastreabilidade ao Sistema Internacional (SI), optar por métodos reconhecidos como materiais e padrões de referência;

					Explicito que a rastreabilidade pode ser alcançada através de material de referência certificado;	Deve ser feita a avaliação da rastreabilidade dos padrões utilizados, dos procedimentos de calibração aplicados e dos procedimentos de determinação da incerteza;
6.6	Produtos e serviços fornecidos externamente	4.5	Subcontratação de ensaios e calibrações	Menor	Junção das duas cláusulas da norma anterior; Adoção dos princípios da norma ISO 9001:2015; Simplificação do texto;	Rever e ajustar do sistema de avaliação e controlo dos fornecedores externos, segundo os requisitos da norma;
		4.6	Aquisição de produtos e serviços		Necessária definição dos requisitos para seleção de fornecedores e monitorização do seu desempenho; Remoção do requisito que responsabilizava o laboratório perante o consumidor das atividades subcontratadas;	Incluir procedimentos e registos dos critérios de avaliação, seleção, monitorização e reavaliação de fornecedores externos e das ações que surjam dos controlos e avaliações;
7.	<b>Requisitos de processos</b>	-	-	-	-	-
7.1	Análise de consultas, propostas e contratos	4.4	Análise de consultas, propostas e contratos	Significativa	Se o cliente pedir uma declaração de conformidade, a norma / documento de referência e a regra de decisão devem estar bem definidas e claras,	Modificar o documento modelo de contrato com o cliente de forma a incluir o novo requisito;

		5.10	Apresentação de resultados		previamente comunicadas ao cliente e aceites por este, a menos que inerente à norma/documento de referência para a realização do ensaio;	
7.2	Seleção, verificação e validação de métodos	5.4	Métodos de ensaio e calibração e validação de métodos	Menor	<p>Reorganização do texto;</p> <p>Explícito o conceito de “verificação do método” – o laboratório deve verificar que é capaz de desempenhar corretamente o método, de acordo com as suas especificações, antes de o introduzir em rotina;</p> <p>A necessidade de determinar a influência de alterações feitas ao método e subsequente revalidação, se necessária, estava antes expressa numa nota informativa, tendo sido tornada na norma revista tornado um requisito;</p> <p>Reforço da necessidade de manter registos do processo de validação utilizado, especificação dos requisitos, características de desempenho do método, resultados obtidos, declaração da validade do método para o seu uso;</p>	<p>Especificar a tarefa de verificação e definir a metodologia nos procedimentos de implementação e controlo de métodos;</p> <p>Adaptar do modelo de validação do método, de modo a incluir todos os registos requeridos pela norma;</p>
7.3	Amostragem	5.7	Amostragem	Menor	Ênfase à atividade de amostragem e explícito que, tal como os ensaios e	Rever a folha de registos de informações da atividade de amostragem com o objetivo de
		5.8	Manuseamento de itens de			

			ensaio e calibração		calibrações, é uma atividade do laboratório;	englobar todas as especificações feitas na norma;
		5.10.	Apresentação de resultados		Necessário manter registos da informação relevante da atividade de amostragem, onde devem constar também informações sobre a data da amostragem, identificação e descrição da amostra, identificação do equipamento usado e desvios, adições e/ou exclusões do método ou plano de amostragem;	
7.4	Manuseamento de itens de ensaio e calibração	5.8	Manuseamento de itens de ensaio e calibração	Menor	Aquando da receção de um item, anomalias ou desvios das condições especificadas devem ser reportados e, em caso de dúvida da adequabilidade do item ou caso o item não seja conforme a descrição fornecida, o cliente deve ser consultado antes de prosseguir com as atividades. As decisões desta consulta devem ser registadas;	Rever os procedimentos para elaboração de relatórios emitidos pelo laboratório de forma a incluir todas as informações sobre as condições de receção de itens, decisões tomadas após consulta com o cliente e, no caso de se ter prosseguido com os ensaios/calibrações, se aplicável, incluir uma ressalva de que os resultados podem estar comprometidos;
7.5	Registos técnicos	4.13	Controlo de registos	Menor	As modificações dos registos devem ser rastreáveis à versão anterior e ao original. O documento original deve ser mantido. Registrar a data das alterações efetuadas, sumário dos aspetos	Melhorar os procedimentos de revisão e alterações dos registos técnicos para contemplar as informações requeridas na norma;

					mudados e identificação do pessoal responsável;	
7.6	Avaliação da incerteza de medição	5.4.6	Estimativa da incerteza de validação	Menor	Cláusula expandida de modo a incluir a contribuição da amostragem, quando significativa;	Identificar as fontes que contribuem para incerteza da medição;  Aplicar um método para a determinação da incerteza de medição que tenha em conta todas as fontes significativas de incerteza e que seja adequado ao método de ensaio;
7.7	Garantia da qualidade dos resultados	5.9	Garantia da qualidade dos resultados	Menor	<p>Separação das atividades de controlo intralaboratoriais e de controlo externo em duas cláusulas;</p> <p>Introdução de novas opções e ferramentas para o controlo da qualidade, como utilização de equipamentos alternativos calibrados para obtenção de resultados rastreáveis; verificações funcionais dos equipamentos de medição e teste; revisão dos resultados dos relatórios; comparações intralaboratoriais e testes de amostras cegas;</p> <p>No caso do controlo externo da qualidade, pode ser feito, para além da participação em ensaio de aptidão, pela</p>	Rever os procedimentos de controlo da qualidade, adaptar e incluir, se necessário, as novas opções apresentadas na norma;

					participação em ensaios de comparação interlaboratorial;	
7.8	Apresentação de resultados	5.10	Apresentação de resultados	Significativa	<p>O relatório deve apresentar, para além das informações já requeridas na versão anterior da norma, data de emissão do relatório, informação sobre desvios, modificações ou exclusões ao método e identificação clara quando os resultados são obtidos externamente;</p> <p>O laboratório é responsável por toda a informação apresentada no relatório, exceto pela fornecida pelo cliente (que deve estar claramente identificada). Quando necessário, deve ser incluída ressalva de que as informações fornecidas pelo cliente podem afetar a validade dos resultados;</p> <p>Quando o laboratório não é responsável pela amostragem deve estar explícito que os resultados se aplicam à amostra recebida;</p> <p>Quando é dada uma declaração de conformidade, o laboratório deve documentar a regra de decisão aplicada;</p> <p>Qualquer mudança necessária efetuar no relatório emitido deve ser claramente</p>	Adaptar o modelo do relatório de apresentação dos resultados para incluir as modificações e novos requisitos;

					identificada e, se justificável, apresentada a razão de tal alteração;	
7.9	Reclamações	4.8	Reclamações	Significativa	<p>A declaração do processo de tratamento de reclamações deve estar disponível para todas as partes interessadas;</p> <p>Este processo deve incluir: a descrição do modo de receção, validação, investigação e decisões das ações a tomar em resposta à reclamação; monitorização e registo de reclamações; garantia de que qualquer ação é aplicada;</p> <p>O laboratório, sempre que possível, deve notificar a receção da reclamação e fornecer ao reclamante informações sobre o processo de tratamento da reclamação e conclusão do mesmo;</p> <p>A comunicação das conclusões ao reclamante deve ser tratada por pessoal não envolvido nas atividades específicas objeto da reclamação;</p>	Alterar os procedimentos de tratamento de reclamações (qualquer tipo de reclamação e não apenas as escritas) em função dos novos requisitos;
7.10	Trabalho não conforme	4.9	Controlo de trabalho de ensaio e/ou de calibração não conforme	Menor	O requisito é agora mais detalhado e é agora claro que o laboratório deve reter registos do todo o processo de tratamento do trabalho não conforme;	Os procedimentos do laboratório devem ser adaptados de forma a contemplar os diferentes níveis de risco e extensão das análises;

					Introdução de dois itens a considerar também no tratamento do trabalho não conforme: as ações aplicadas devem ser baseadas nos níveis de riscos estabelecidos pelo laboratório; a avaliação da influência do trabalho não conforme deve considerar a análise do impacto em resultados anteriores;	Manter registos relativos ao trabalho não conforme;
7.11	Controlo de dados e gestão de informação	4.13	Controlo de registos	Menor	O requisito está agora adaptado ao tratamento de informação em formato eletrónico; Explicito que alterações ao sistema de gestão de informação do laboratório devem ser validadas;	Se justificável, testar e validar o sistema informático de gestão do laboratório;
		5.4	Métodos de ensaio e calibração e validação de métodos			
8.	Requisitos do sistema de gestão	4.	Requisitos de gestão	-	-	-
8.1	Opções	-	-	Novo	São apresentadas duas opções para o cumprimento dos requisitos do sistema de gestão: a opção A descreve o conteúdo mínimo para a definição do sistema de gestão, aproximando-se do que era descrito na versão anterior da norma; a opção B permite que o	Escolher a opção mais adequado às características do laboratório; Nos casos em que o laboratório é certificado segundo a norma ISO 9001, adaptar o âmbito o sistema de gestão, assegurando que as

					laboratório implemente um sistema compatível com a norma ISO 9001; Os requisitos 8.2 até 8.9 são aplicáveis apenas à opção A;	atividades do laboratório estão incluídas;
8.2	Sistema de gestão de documentos (Opção A)	4.2	Sistema de gestão	Estrutural	Eliminação do requisito que exigia a existência de um manual de qualidade, contudo, os procedimentos devem ainda ser mantidos;	Adaptar o sistema à maior flexibilidade dos requisitos;
8.3	Controlo do sistema de gestão de documentos (Opção A)	4.3	Controlo de documentos	Estrutural	Sem alterações relevantes em termos de conteúdo;	–
8.4	Controlo de documentos (Opção A)	4.13	Controlo de registos	Estrutural	Sem alterações relevantes em termos de conteúdo;	–
8.5	Ações para abordagem de riscos e oportunidades (Opção A)	4.1	Organização	Novo	O novo requisito subsistiu, de certo modo, o conceito de ações preventivas; Requer que o laboratório considere os riscos e as oportunidades associadas às suas atividades e que elabore um plano de ações para os resolver. O plano de ações deve ser proporcional ao impacto na validade dos resultados;	Estruturar um plano para tratar este requisito. O plano deve passar pela identificação dos riscos e oportunidades e planeamento das ações a implementar para a minimização de riscos e maximização das oportunidades;
		4.2	Sistema de gestão			
		4.10	Melhoria			

		4.12	Ação preventiva			Adotar procedimentos para avaliação das ações implementadas; Estas ações devem ser revistas e atualizadas aquando a revisão do sistema;
8.6	Melhoria (Opção A)	4.7	Serviço ao cliente	Estrutural	Simplificação através da combinação dos requisitos de serviço ao cliente, melhoria e ação preventiva da nova anterior;	-
		4.10	Melhoria			
		4.12	Ação preventiva			
8.7	Ações corretivas (Opção A)	4.11	Ação corretiva	Menor	A cláusula mantém-se praticamente inalterada, ainda que seja agora requerido que o laboratório determine o impacto de não conformidades em relação aos riscos e oportunidades; Remoção do requisito sobre auditorias internas adicionais	Rever os procedimentos de aplicação de ações corretivas para que durante o tratamento de não conformidades sejam revistos e atualizados, se justificável, os riscos e oportunidades;
8.8	Auditorias internas (Opção A)	4.14	Auditorias internas	Menor	Requisito mais flexível; Remoção da nota informativa sobre a periodicidade do ciclo de auditoria interna (1 ano);	Elaborar o programa e planeamento, incluindo o estabelecimento da periodicidade de uma auditoria, considerando a relevância das atividades a serem auditadas, o contexto do laboratório, o resultado de outras

						auditorias realizadas e outros fatores relevantes para o caso;
8.9	Revisão pela gestão (Opção A)	4.2	Sistema de gestão	Significativa	Reorganização do requisito; Para além dos pontos já mencionados na norma anterior, a revisão deve incluir informação sobre mudanças em questões internas e externas relevantes para o laboratório, atendimento dos objetivos, estado das ações decorrentes de análises da revisão anterior, eficácia de melhorias implementadas, resultados da identificação de riscos;	Rever os procedimentos de revisão pela gestão, de modo a incluir a análise e registos dos novos itens mencionados na norma:
		4.15	Revisão pela gestão			
Anexo A	Rastreabilidade metrológica	-	-	Novo	-	-
Anexo B	Opções do sistema de gestão	-	-	Novo	-	-

