

# Verificação de Método do Ensaio de Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva a Partir de Alimentos

Júlia Duarte Martinez; Rodrigo Domingos Overa Tavares; Mariana Camille de Melo Moura; Nathalia Gonçalves Santos Caldeira; Silvia Maria dos Reis Lopes

## INTRODUÇÃO

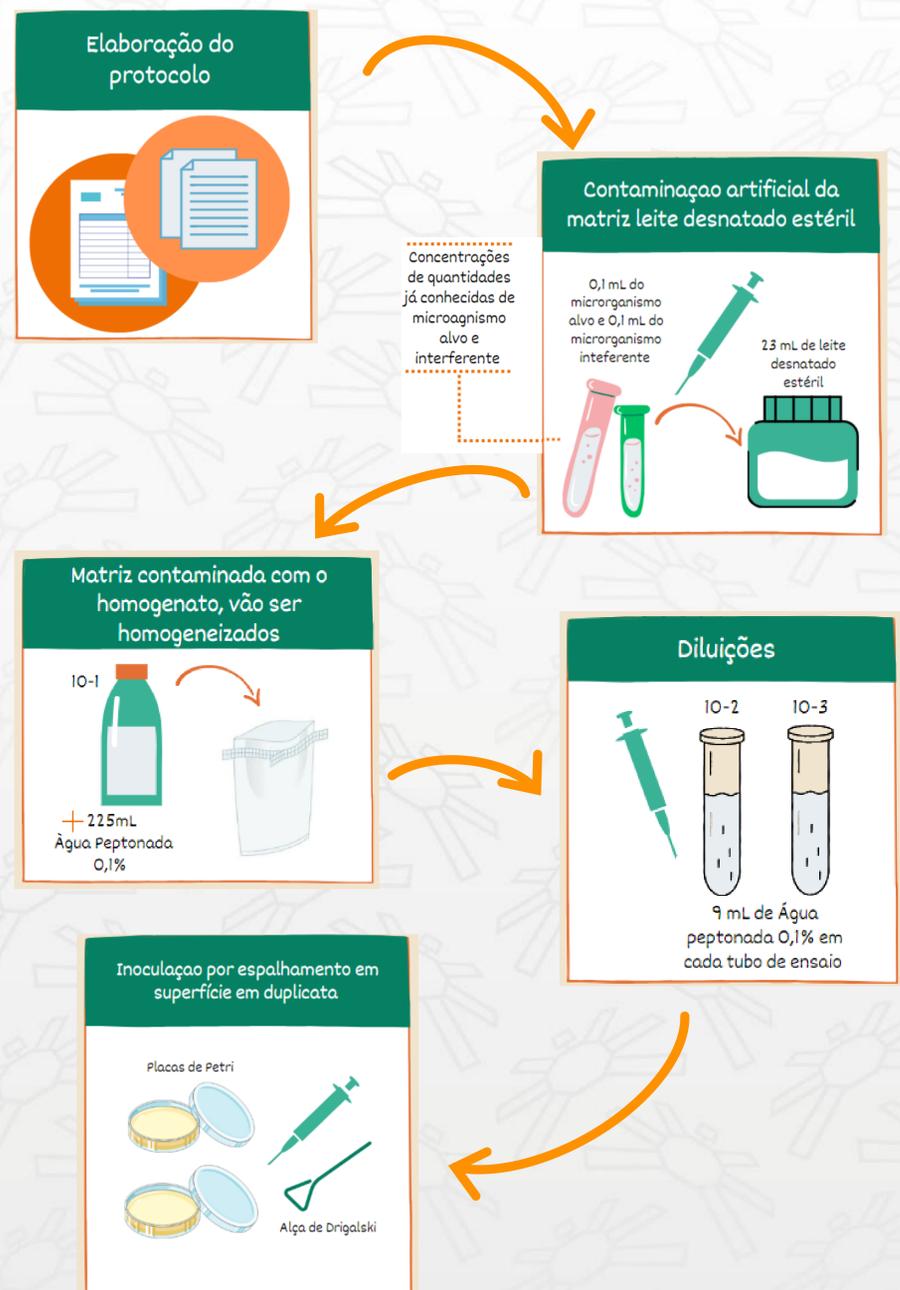
A verificação de método analítico se aplica quando o laboratório utiliza um método já validado para verificar se as condições do laboratório, isto é, insumos, equipamentos e pessoal, são capazes de reproduzir adequadamente a metodologia. A verificação é uma exigência da ABNT NBR ISO 17025:2017 que é o sistema da qualidade mais utilizado em laboratórios de ensaio.

## OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho é realizar a verificação do ensaio de contagem de estafilococos coagulase positiva por plaqueamento direto em amostra de alimentos, que é um ensaio quantitativo descrito no POP 65.3240.002 (Contagem de Estafilocos Coagulase Positiva a Partir de Alimentos e Identificação de *Staphylococcus aureus*) que é baseado na metodologia descrita na Norma ISO 6888-1:2021 (Método horizontal para a enumeração de estafilococos coagulase positiva – Método utilizando o meio ágar Baird-Parker).

## METODOLOGIA

A avaliação de desempenho será desenvolvida com base no DOQ-CGCRE-089 – Revisão 00 (Orientação sobre Avaliação de Desempenho de Métodos Analíticos – Microbiologia) e para métodos, quantitativos, os parâmetros avaliados são repetibilidade e reprodutibilidade. Será elaborado um protocolo com todas as etapas da verificação. O alimento utilizado será o leite desnatado estéril que será contaminado artificialmente com quantidades conhecidas de micro-organismos de referência certificados (MRC) de *Staphylococcus aureus* MRC ATCC 25923 e *Pseudomonas aeruginosa* MRC ATCC 27853 ou 29336 como interferente. O método consiste na contagem de estafilococos coagulase positiva utilizando a técnica de semeadura em superfície, em duplicata, em meio ágar Baird Parker com gema de ovo e solução de telurito de potássio a 3,5%. Para a repetibilidade, serão analisadas 10 amostras de leite desnatado (skim milk) de mesmo lote, pelo mesmo analista, nas mesmas condições em curto período. Para a reprodutibilidade, serão analisadas 20 amostras de mesmo lote (skim milk), dez para cada analista, com mesmo lote de meio de cultura, diluente, vidrarias e mesmos equipamentos. Os resultados serão comparados com os parâmetros descritos na ISO 6888-1:2021.



## RESULTADOS ESPERADOS

Segundo a ISO 6888-1:2021, o limite de repetibilidade (r) é dado pela diferença em log10 dos valores das contagens de unidades formadoras de colônias (UFC) encontradas, e não deve ser superior a 0,28 em 95% dos casos analisados na validação do método. Para o limite de reprodutibilidade (R) esse valor não deve ser superior a 0,43 em 95% dos casos analisados.

## REFERÊNCIAS

- Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR ISO/IEC 17025: Requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaios e calibração. Rio de Janeiro, 2017.
- BRASIL, Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. INMETRO DOQ-Cgcre-008: Orientação sobre validação de métodos analíticos, Revisão 08, 2020
- BRASIL, Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia. INMETRO DOQ-Cgcre-089: Orientação sobre Avaliação de Desempenho de Métodos Analíticos - Microbiologia, Revisão 00, 2017.
- CONTAGEM de Estafilococos Coagulase Positiva e Identificação de *Staphylococcus aureus*. In: MANUAL da Qualidade. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ. (65.3240.002).
- INTERNATIONAL STANDARD – ISO 6888-1. Microbiology of the food chain– Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species). Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium. ISO 6888-1. Switzerland: Genève. ISO, 2021. 20p.

## Agradecimentos: