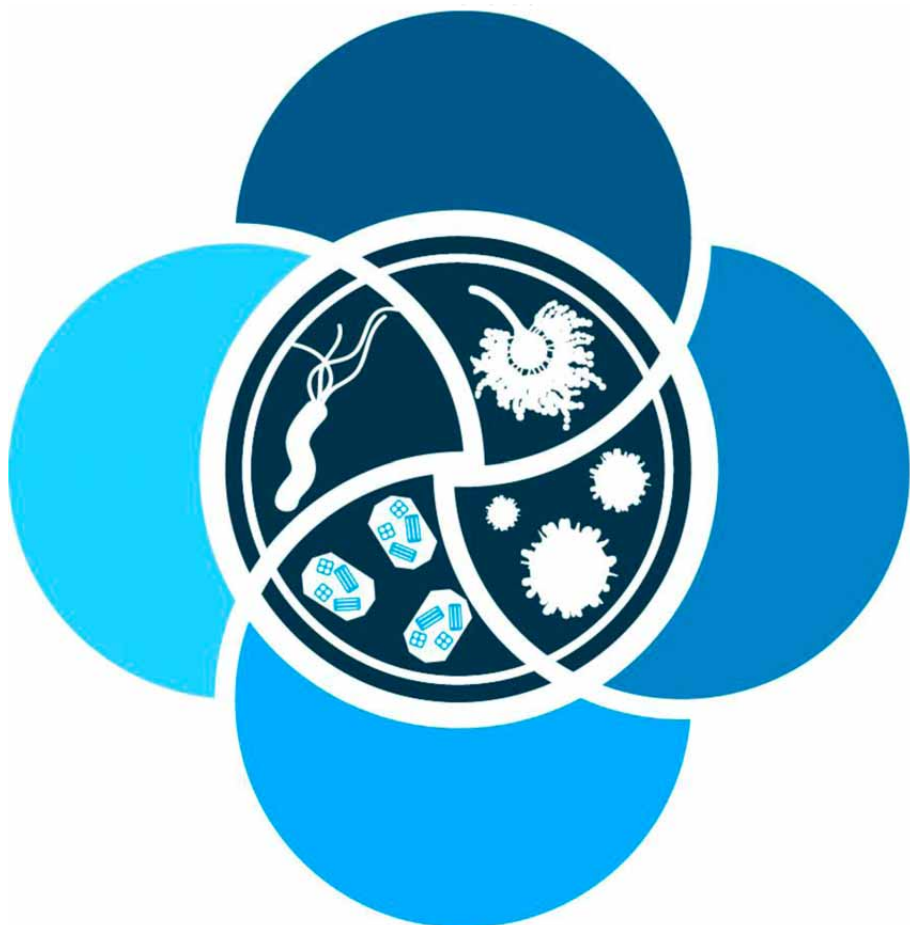


## Orientações para elaboração de procedimentos técnicos das coleções de micro-organismos da Embrapa





**Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Embrapa Agrobiologia  
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**

# **Documentos 302**

## **Orientações para elaboração de procedimentos técnicos das coleções de micro-organismos da Embrapa**

*Natália Neutzling Camacho  
Fernanda dos Santos Dourado  
Clarissa Silva Pires de Castro*

Embrapa Agrobiologia  
Seropédica, RJ  
2015

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Agrobiologia**

BR 465, km 7, CEP 23.891-000, Seropédica, RJ

Caixa Postal 74505

Fone: (21) 3441-1500

Fax: (21) 2682-1230

Home page: [www.embrapa.br/agrobiologia](http://www.embrapa.br/agrobiologia)

**Comitê de Publicações**

Presidente: Bruno José Rodrigues Alves

Secretária-Executivo: Carmelita do Espírito Santo

Membros: Ednaldo da Silva Araújo, Janaina Ribeiro Costa Rouws,

Luc Felicianus Marie Rouws, Luis Cláudio Marques de Oliveira,

Luiz Fernando Duarte de Moraes, Marcia Reed Rodrigues Coelho,

Maria Elizabeth Fernandes Correia, Nátia Élen Auras

Supervisora editorial: Maria Elizabeth Fernandes Correia

Normalização bibliográfica: Carmelita do Espírito Santo

Tratamento de ilustrações: Maria Christine Saraiva Barbosa

Editoração eletrônica: Maria Christine Saraiva Barbosa

Ilustração da capa\*: João R. C. Lima

\* *A ilustração refere-se ao projeto de Gestão de Coleções Microbianas.*

**1ª edição**

1ª impressão (2015): 50 exemplares

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

**Embrapa Agrobiologia**

---

N497o Neutzling, Natália Camacho.

Orientações para elaboração de procedimentos técnicos das coleções de micro-organismos da Embrapa. / Natália Camacho Neutzling, Fernanda dos Santos Dourado, e Clarissa Silva Pires de Castro. — Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2015.

31 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 302).

ISSN: 1517-8498

1. Gestão de Laboratório. 2. Manual de uso.  
3. Armazenamento. 4. Preservação. 5. Acreditação.  
I. Dourado, Fernanda dos Santos. II. Castro, Clarissa Silva Pires de. III. Título. IV. Embrapa Agrobiologia. V. Série

542.1 CDD 23.ed.

# **Autores**

## **Natália Neutzling Camacho**

Analista da Embrapa Agrobiologia. BR 465,  
Km 7, CEP 23890-000, Seropédica, RJ.

E-mail: natalia.camacho@embrapa.br.

## **Fernanda dos Santos Dourado**

Analista da Embrapa Agrobiologia. BR 465,  
Km 7, CEP 23890-000, Seropédica, RJ.

E-mail: fernanda.dourado@embrapa.br.

## **Clarissa Silva Pires de Castro**

Pesquisadora da Embrapa Recursos Genéticos e  
Biotecnologia. Parque Estação Biológica, PqEB,  
Av. W5 Norte (final), CEP 70770-917, Brasília,

DF. E-mail: clarissa.castro@embrapa.br.



# Apresentação

Preservar exemplares da biodiversidade, garantir a conservação do patrimônio genético e permitir o acesso. Esses são parte dos objetivos de uma coleção de organismos, incluindo os seres de vidas microscópicas. Em uma pequena área de laboratório, concentra significativa parcela da biodiversidade e representa um recurso inestimado, seja pela diversidade, variabilidade e pelas oportunidades biotecnológicas como ativos de inovação, incluindo os relacionados à fertilidade do solo, ao controle biológico e ao interesse industrial. Traduzir essas ações de forma efetiva, através do uso e incorporação dos benefícios desses micro-organismos e seus impactos nos sistemas de produção, é uma contribuição para a sustentabilidade na agricultura.

Como coleção de micro-organismos de referência, nacional e internacional, há a necessidade de adequações em relação aos aspectos de biossegurança, acessibilidade, e atendimento às normas ABNT ISO GUIA 34, ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005 e diretrizes da OCDE para as boas práticas para centros de recursos biológicos.

A publicação "Orientações para elaboração de procedimentos técnicos das coleções de micro-organismos da Embrapa" vai nessa direção e é mais um resultado da Embrapa Agrobiologia, desta vez em parceria com a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Essa publicação é

parte dos resultados obtidos do projeto Modelo Corporativo de Gestão para as Coleções de Micro-organismos da Embrapa (Gestcol) e estão relacionados com a estruturação e organização das coleções de micro-organismos da Embrapa.

Boa leitura!

*Gustavo Ribeiro Xavier*

Chefe Geral da Embrapa Agrobiologia



# Sumário

<b>Apresentação: Projeto Gestcol e as coleções de micro-organismos da Embrapa .....</b>	<b>9</b>
<b>Elaboração de procedimentos técnicos, de acordo com a classificação das coleções de micro-organismos da Embrapa .....</b>	<b>11</b>
<b>Estrutura básica de procedimentos técnicos .....</b>	<b>11</b>
POPs técnicos mínimos para as coleções de trabalho (CTs) e coleções institucionais (CIs) .....	14
POPs técnicos mínimos para as coleções componentes de Centro de Recurso Biológico (CRB) .....	23
<b>Referências bibliográficas .....</b>	<b>30</b>



# **Orientações para elaboração de procedimentos técnicos das coleções de micro-organismos da Embrapa**

---

*Natália Neutzling Camacho*

*Fernanda dos Santos Dourado*

*Clarissa Silva Pires de Castro*

## **Apresentação: Projeto GESTCOL e as coleções de micro-organismos da Embrapa**

Coleções de culturas de micro-organismos são estabelecidas para preservar exemplares da biodiversidade e garantir a conservação do patrimônio genético. Na Embrapa, as coleções de micro-organismos nasceram com a própria empresa e estão distribuídas por todo o território nacional em diversas unidades descentralizadas. Preservam micro-organismos de funcionalidades diversas, incluindo os relacionados ao controle biológico, à fertilidade do solo, de interesse industrial e patógenos de animais e vegetais. Para se alcançar níveis de excelência, satisfazer normas nacionais e internacionais, regulações de biossegurança, acessibilidade, e harmonização dos procedimentos e processos, há necessidade de atendimento às normas ABNT ISO GUIA 34, ABNT NBR ISO/IEC 17025:2005 e versão brasileira das diretrizes da OCDE de boas práticas para Centros de Recursos Biológicos. Para auxiliar no atendimento dessas normas e requisitos, foi criado o projeto intitulado “Modelo Corporativo de Gestão para as Coleções de Micro-organismos da Embrapa”, ou projeto GESTCOL. Este projeto em rede, que se iniciou em 2012 com proposta de duração de 36 meses, propõe o desenvolvimento, a implementação e o monitoramento de um

modelo corporativo de gestão para as coleções de micro-organismos da Embrapa. O projeto é composto por 26 coleções de diversas unidades da Embrapa e executado por meio de atividades distribuídas em 5 planos de ação. O primeiro plano de ação (PA1) compreende atividades relacionadas à divulgação e gestão do projeto. Os demais planos de ação (PA2, PA3, PA4 e PA5) compreendem atividades que levarão ao alcance do objetivo geral do projeto, que é implementar um modelo corporativo de gestão para Centros de Recursos Biológicos, coleções institucionais e de trabalho da Embrapa, com base nas experiências e nas normas nacionais e internacionais.

Este documento foi elaborado como resultado da atividade 3 do projeto GESTCOL, intitulada “Elaboração de procedimentos técnicos para as coleções de micro-organismos da Embrapa”, pertencente ao plano de ação 4, intitulado “Estruturação e organização das coleções de micro-organismos da Embrapa”. Esta atividade está sob a responsabilidade da Embrapa Agrobiologia, bem como a atividade 4, intitulada “Elaboração de procedimentos de equipamentos para as coleções de micro-organismos da Embrapa”, do mesmo plano de ação. Portanto, esse documento orientador tem como objetivo auxiliar na elaboração, padronização e harmonização dos procedimentos técnicos das coleções de micro-organismos da Embrapa, a partir dos resultados gerados pelo diagnóstico da situação atual das coleções de micro-organismos, por meio da proposição de procedimentos técnicos mínimos que as coleções devem possuir, de acordo com a classificação das mesmas.

Estão sendo elaborados, também como resultados do projeto GESTCOL, demais documentos orientadores que definem requisitos corporativos da qualidade para as coleções de micro-organismos da Embrapa, baseados nos requisitos das normas NIT-DICLA 061 (INMENTRO, 2012), ABNT ISO/IEC 17025, ABNT ISO GUIA 34 e versão brasileira das diretrizes da OCDE de boas práticas para Centros de Recursos Biológicos. Nos requisitos corporativos do modelo está incluída a seção “Documentos”, que aborda a necessidade das coleções de disporem e manterem atualizados os documentos externos (normas, leis, diretrizes), bem

como a necessidade de elaborar os documentos internos. Dentre os documentos internos, estão os “procedimentos ou instruções para as atividades técnicas” da coleção, ou apenas “procedimentos técnicos”, de que trata a atividade 3 do PA 4 do projeto GESTCOL.

## **Elaboração de procedimentos técnicos, de acordo com a classificação das coleções de micro-organismos da Embrapa**

As coleções de micro-organismos da Embrapa estão classificadas, de acordo com o nível de complexidade das suas atividades, em coleções de trabalho (CTs), coleções institucionais (CIs) e coleções componentes de Centro de Recurso Biológico (CRB). Os procedimentos técnicos (POPs técnicos) propostos para as CTs e CIs foram definidos com base nos requisitos do “Modelo corporativo de gestão para as coleções de micro-organismos da Embrapa”. Segundo esses requisitos, para CTs e CIs são necessários os procedimentos para atividades práticas de coleta de amostras, isolamento, identificação, caracterização, prospecção, armazenamento, controle de qualidade, documentação e proteção de dados eletrônicos. Os POPs técnicos propostos para os CRBs foram definidos com base nos requisitos das normas NIT-DICLA 061 (INMENTRO, 2012), ABNT ISO/IEC 17025, ABNT ISO GUIA 34 e versão brasileira das diretrizes da OCDE de boas práticas para Centros de Recursos Biológicos. Neste documento apresenta-se uma estrutura básica de procedimento técnico, com sugestão de itens a serem abordados. Também são listadas as atividades para as quais existe a necessidade de elaboração de POP técnico, de acordo com a classificação das coleções.

## **Estrutura básica de procedimentos técnicos**

Modelos de procedimentos gerencias, técnicos e de equipamentos são definidos pelo sistema da qualidade a fim de padronizar a elaboração

e uso dos mesmos, bem como garantir que temas importantes sejam invariavelmente abordados. Abaixo, uma sugestão de itens para composição de um modelo de procedimento técnico.

**Tabela 1.** Itens sugeridos na estrutura básica de um procedimento técnico.

Itens sugeridos	Descrição
1. OBJETIVO	Descrever de modo preciso e conciso a finalidade e o assunto sobre o qual trata o POP.
2. CAMPO DE APLICAÇÃO	Indicar os núcleos, laboratórios, setores e/ou áreas em que o conteúdo do POP é aplicável.
3. REFERÊNCIAS	Este item pode ser dividido em: 3.1. <i>Complementares</i> : onde se referenciam a legislação federal, as normas externas, os atos normativos da Embrapa e da Unidade e/ou a bibliografia, cujos conteúdos são utilizados como referência para a elaboração do documento ou precisam ser consultados para complementação de suas orientações. 3.2. <i>Cruzadas</i> : onde se referenciam documentos do sistema da qualidade que complementam ou são pré-requisitos para a elaboração e/ou aplicação do POP.
4. DEFINIÇÕES, SIGLAS E ABREVIATURAS	Relacionar e explicar o significado de termos, expressões, abreviaturas e siglas utilizadas no POP, visando torná-los compreensíveis.
5. RESPONSABILIDADES	Indicar o(s) responsável(eis) – função ou cargo – pela execução da atividade ou procedimento descrito no POP.
6. DESCRIÇÃO	
6.1. SINONÍMIA	6.1. <i>Sinonímia</i> : indicar outro termo dado ao ensaio e/ou análise a que se refere o POP. Não havendo sinonímia, inserir o texto padrão “Este item não se aplica ao documento”.
6.2 AMOSTRA	6.2. <i>Amostra</i> : indicar o tipo de amostra analisada no ensaio / análise.
6.3 MÉTODO	6.3. <i>Método</i> : indicar a metodologia utilizada para a realização do ensaio / análise.

**Tabela 1.** Itens sugeridos na estrutura básica de um procedimento técnico (cont.).

Itens sugeridos	Descrição
6. DESCRIÇÃO	(CONTINUAÇÃO)
6.4 LIMITAÇÕES DO MÉTODO	6.4. <i>Limitações do método</i> : indicar a especificidade de desempenho (linearidade, precisão, limites de detecção, intervalo de medição, interferentes).
6.5. PRINCÍPIO	6.5. <i>Princípio</i> : indicar o princípio químico ou físico do ensaio / análise.
6.6 MATERIAIS UTILIZADOS	6.6. <i>Materiais utilizados</i> : indicar os padrões de referência, controles, reagentes e outros insumos utilizados para a realização do POP, utilizando preferencialmente, terminologias genéricas que definam o nome técnico, não utilizando marcas dos produtos.
6.7. EQUIPAMENTOS E UTENSÍLIOS	6.7. <i>Equipamentos e utensílios</i> : indicar os equipamentos e utensílios utilizados para a realização do método.
6.8. SEGURANÇA	6.8. <i>Segurança</i> : indicar os equipamentos de proteção (EPs e EPCs) necessários para realização do método.
6.9. CONTROLE DE QUALIDADE	6.9. <i>Controle de qualidade</i> : indicar o controle de qualidade interno ou externo utilizado no ensaio / análise.
6.10. VALORES DE REFERÊNCIA E DE CRITICIDADE	6.10. <i>Valores de referência e de criticidade</i> : indicar os valores considerados para a faixa de normalidade e valores considerados críticos, baseando-se em critérios científicos.
6.11. RESÍDUOS GERADOS	6.11. <i>Resíduos gerados</i> : descrever os resíduos gerados, indicando a forma de armazenamento e destinação ou descarte, se desejável indicar o número do procedimento de tratamento e/ou descarte do resíduo.
6.12. CONTEÚDO	6.12. <i>Conteúdo</i> : descrever de forma clara e precisa, obedecendo a uma sequência lógica e cronológica, as etapas de execução do método ou técnica indicada no POP.
7. CONTROLE DE REVISÕES	Descrever (pode ser em formato de tabela) as alterações feitas no POP, indicando data, revisão, página, capítulo/seção/subseção e o revisor do procedimento.
8. ANEXOS	Apresentar tabelas, ilustrações, formulações e outros documentos citados no POP e/ou que o complementem.

## **POPs técnicos mínimos para as coleções de trabalho (CTs) e coleções institucionais (CIs)**

As CTs e CIs devem possuir minimamente POPs técnicos elaborados e implementados para as atividades práticas elencadas abaixo e discutidas no próximo tópico, seguindo o modelo estabelecido para procedimentos técnicos pelo setor de qualidade de cada unidade ou coleção. Dependendo das atividades que a coleção realiza, alguns POPs podem não ser aplicáveis.

- Coleta de amostras;
- Amostragem;
- Isolamento;
- Depósito;
- Preservação;
- Caracterização / identificação;
- Prospecção;
- Preparo de meios de cultura, soluções, vidrarias e materiais;
- Monitoramento, controle e registro de condições ambientais;
- Controle e proteção de dados;
- Controle de qualidade.

Todos os POPs disponíveis podem ser acessados na “Comunidade de Aprendizagem, Trabalho e Inovação em Rede” (CATIR). Para ter acesso aos arquivos é necessário estar cadastrado na CATIR. Para isso, acesse a página <http://www.catir.sede.embrapa.br/> e clique no botão “Novo na Comunidade? Cadastre-se”. Informe seus dados, senha e confirme. Uma vez cadastrado, clique em “Comunidade e Cursos Existentes”. Procure por GESTCOL na coluna “Nome da Comunidade” e clique a direita no botão “Associar-se”. Como a comunidade não é pública, aguarde a confirmação de sua associação. Após a confirmação, a comunidade GESTCOL aparecerá na sua lista de comunidades na sua página inicial da CATIR. Para ter acesso, basta clicar na comunidade GESTCOL, depois clicar em *armazenagem de arquivo – procedimentos\_ POPs – POPs técnicos*.



## **Coleta de amostras**

Coleta é a obtenção de amostras de organismos silvestres, nativos ou exóticos - animal, vegetal ou microbiano - seja pela remoção do indivíduo do seu habitat natural, seja pela colheita de amostras biológicas. Pode ser definida também como o simples ato de obter amostras em campo. Pode ser necessário obter autorização para coleta de material biológico pertencente ao patrimônio genético nacional junto ao ICMBio, conforme a instrução normativa nº 154, de 1 de março de 2007 (IBAMA, 2007), exceto para áreas privadas, onde o proprietário é quem autoriza a coleta.

*Recomendações:* O procedimento deve conter a descrição da coleta de amostras, incluindo o detalhamento das etapas realizadas, métodos ou critérios adotados para a coleta (condições requeridas para coleta), materiais utilizados, e registro de dados pertinentes, como: data da coleta; identificação das amostras coletadas (tipo, número, espécie, código de identificação); coordenadas geográficas; município, estado e país da coleta; informações mais detalhadas do local de coleta (bairro, distrito, etc.); identificação do coletor; observações complementares. Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico abordando o passo a passo da coleta e/ou métodos utilizados para a mesma. Esse POP não é aplicável para coleções que não realizam coleta de amostras. Se pertinente, os procedimentos de coleta de amostras e amostragem (próximo tópico) podem estar descritos no mesmo POP.

## **Amostragem**

Amostragem é um procedimento definido, pelo qual uma parte de uma substância, material ou produto é retirada para produzir uma amostra representativa do todo, para ensaio ou calibração. A amostragem também pode ser requerida pela especificação apropriada para a qual a substância, material ou produto é ensaiado ou calibrado. Em alguns casos, a amostra pode não ser representativa, mas determinada pela disponibilidade. O processo de amostragem deve abranger os fatores a serem controlados, de forma a assegurar a validade dos resultados do ensaio ou calibração, e os planos de amostragem devem, sempre que viável, ser baseados em métodos estatísticos apropriados.

*Recomendações:* O procedimento deve conter a descrição da amostragem incluindo a seleção, o plano de amostragem, a retirada e a preparação de uma amostra ou amostras de uma substância, material ou produto, para produzir a informação requerida. Deve descrever também os procedimentos para registrar os dados e as operações relevantes relacionadas à amostragem, incluindo o procedimento ou método de amostragem usado, a identificação do amostrador, as condições ambientais (se pertinente), diagramas ou outros meios equivalentes para identificar o local de amostragem e, se apropriado, as estatísticas em que se basearam os procedimentos de amostragem. Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico abordando o procedimento de amostragem. Esse POP não é aplicável para coleções que não realizam amostragem. Se pertinente, os procedimentos de coleta de amostras (tópico anterior) e amostragem podem estar descritas no mesmo POP.

## **Isolamento**

O isolamento consiste na obtenção de culturas puras que envolvem somente o organismo de interesse. O isolamento inicia com a escolha da fonte mais provável de conter o microrganismo desejado, podendo variar desde solo até água, ar, lodo, alimentos, plantas e animais. Durante o processo de isolamento, são usadas como fatores seletivos as características que um determinado organismo possui para se desenvolver em certo ambiente. Pressão seletiva é muitas vezes utilizada no isolamento de micro-organismos que se desenvolvem preferencialmente em determinado substrato, na presença de certos compostos ou no cultivo sob condições que são adversas a outros micro-organismos que não são de interesse. Quando não é possível fazer uso da pressão seletiva, utilizam-se características detectáveis como morfologia (tipo e forma da colônia) ou produção de compostos característicos de determinada espécie. Portanto, ocorre a seleção de uma colônia através da observação da produção de determinado produto ou da morfologia da colônia. Essas colônias apresentam características morfológicas diferentes, as quais permitem a distinção entre os micro-organismos. Para se conseguir uma visualização das

colônias isoladas em meio sólido, a técnica de esgotamento é a mais utilizada, sendo que as colônias de micro-organismos se originam somente de uma célula ou esporo de microrganismo. Através do esgotamento e seleção de colônias, é possível, então, isolar o microrganismo de interesse. Uma cultura livre de outros micro-organismos contaminantes onde o microrganismo de interesse está presente de forma homogênea é denominada cultura axênica. Um cultivo desse tipo dá oportunidade de investigação de características fisiológicas e genéticas sem a interferência de outros micro-organismos, e em uma densidade populacional muito maior do que a encontrada em amostras de meio ambiente.

*Recomendações:* O procedimento deve conter a descrição detalhada do isolamento dos acessos a serem depositados na coleção. Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico abordando o passo a passo do isolamento, incluindo a determinação da fonte de isolamento, quais fatores ou características são utilizados para a seleção, e os métodos e/ou procedimentos realizados para se obter o microrganismo isolado. Esse POP não é aplicável para coleções que não realizam isolamento de micro-organismos.

## **Depósito**

Depósito é a incorporação de novos isolados de micro-organismos em uma coleção de culturas. O processo de depósito é de essencial importância em uma coleção de culturas, e engloba a preservação, a caracterização e a identificação das mesmas, sendo também a etapa inicial da manutenção, que tem como objetivo garantir a sobrevivência, a estabilidade e a pureza das culturas durante períodos prolongados de tempo, conservando características genéticas e propriedades morfológicas/fisiológicas. É no momento do depósito que as culturas são checadas quanto a sua viabilidade, pureza e identidade (caracterização e identificação), e as informações resultantes dessas avaliações são registradas para utilização posterior, na ocasião da recuperação dos estoques preservados dessas culturas. Todas as informações, dados e registros gerados no depósito possibilitam,

portanto, garantir que a cultura está preservada e mantida sob suas características originais.

*Recomendações:* O procedimento deve conter os critérios e as instruções para o depósito de novos isolados nas coleções, seguindo o passo a passo para tal, e acompanhando a ordem cronológica das etapas de depósito, se possível. Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico, onde sejam abordados, pelo menos, os seguintes tópicos (quando aplicáveis) divididos em etapas:

Etapa Pré-depósito	<ul style="list-style-type: none"><li>- Critérios de recebimento ou incorporação de novos isolados</li><li>- Recebimento de novos isolados</li><li>- Registro de novos isolados</li><li>- Acondicionamento de novos isolados</li></ul>
Etapa Depósito	<ul style="list-style-type: none"><li>- Preservação (os métodos pelos quais os novos isolados serão preservados podem ser citados; para cada um será elaborado um POP)</li><li>- Caracterização (os métodos pelos quais os novos isolados serão caracterizados podem ser citados; para cada um será elaborado um POP)</li><li>- Identificação (os métodos pelos quais os novos isolados serão identificados podem ser citados; para cada um será elaborado um POP)</li></ul>
Etapa Pós-depósito	<ul style="list-style-type: none"><li>- Registro dos isolados depositados</li><li>- Guarda/Armazenamento/Acondicionamento dos isolados depositados</li></ul>

## Preservação

A preservação deve possibilitar a manutenção de micro-organismos vivos, durante o período de tempo mais longo possível, e através de métodos que não permitam ou minimizem a ocorrência de mutações ou de variabilidade que possam interferir na patogenicidade, virulência ou características básicas da cultura original, ou seja, na sua estabilidade genética. No caso de bactérias, considerando que a taxa de mutações espontâneas é sempre elevada, o uso de qualquer método que permita a multiplicação do isolado, invariavelmente, envolve o risco de que

ocorram mutações e aumento da probabilidade de alterações na sua composição genética. Portanto, a escolha dos métodos de preservação é crítica, uma vez que os mesmos viabilizam o objetivo maior de uma coleção de culturas: preservar micro-organismos. Podem ser classificados em métodos de curto prazo (poucos meses), médio ou longo prazo (anos a décadas, dependendo também da espécie do micro-organismo), de acordo com o tempo estimado pelo qual podem garantir a preservação. Em coleções de cultura, comumente são utilizados métodos de médio e longo prazo, e preconiza-se que todas as culturas estejam preservadas por no mínimo dois métodos de preservação distintos (de preferência dois métodos de longo prazo), a fim de reduzir os riscos de perda. São exemplos de métodos de médio prazo a preservação em água, a preservação em óleo mineral e o congelamento a  $-20^{\circ}\text{C}$ . São exemplos de métodos de longo prazo a liofilização, a criopreservação a  $-80^{\circ}\text{C}$  e a criopreservação por nitrogênio líquido.

*Recomendações:* O procedimento deve conter a descrição detalhada do método de preservação, incluindo o princípio do método, sua classificação quanto ao tempo de preservação, e as etapas do procedimento. Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico para cada método de preservação utilizado na coleção.

## **Caracterização / identificação**

O estudo das características dos micro-organismos permite a comparação entre os mesmos e sua identificação taxonômica. Essas características podem ser definidas basicamente como características fenotípicas (morfológicas, fisiológicas, metabólicas) e características moleculares (baseadas em ácidos nucleicos, proteínas, ácidos graxos). Adicionalmente, diversas outras caracterizações podem ser realizadas, como caracterizações antigênicas, patogênicas, ecológicas, etc. Os dados gerados por um conjunto de caracterizações possibilitam enquadrar os micro-organismos taxonomicamente. É desejável que coleções utilizem métodos que identifiquem as culturas, primeiramente, em nível de gênero e espécie. Para a identificação de estirpes, organismos que se distinguem entre si dentro de uma mesma espécie,

podem ser necessários métodos mais discriminatórios ou uma maior bateria de métodos de caracterização / identificação.

*Recomendações:* O procedimento deve conter a descrição detalhada do método de caracterização / identificação, incluindo o princípio do método e as etapas do procedimento. Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico para cada método de caracterização e/ou identificação utilizado na coleção.

## **Prospecção**

A prospecção de micro-organismos é utilizada para selecionar micro-organismos que possuem alguma característica ou propriedade de interesse. A bioprospecção é um método ou uma forma de localizar, avaliar e explorar a diversidade de vida existente em determinado local. O termo bioprospecção é atualmente muito utilizado e comumente está atrelado ao valor econômico potencial, podendo ser também entendido como a busca sistemática por organismos, genes, enzimas, compostos, processos e partes provenientes de seres vivos, que tenham potencial econômico e, eventualmente, levam ao desenvolvimento de um produto. Coleções de culturas de micro-organismos podem utilizar métodos de bioprospecção para o desenvolvimento de produtos, como inoculantes para plantas, bioinseticidas, produtos para indústria alimentícia e farmacêutica, etc.

*Recomendações:* O procedimento deve conter a descrição detalhada da prospecção, incluindo o princípio do método de prospecção utilizado e sua descrição, e os parâmetros ou limites utilizados para prospecção. Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico abordando o passo a passo da prospecção e/ou métodos utilizados para a mesma. Esse POP não é aplicável para coleções que não realizam prospecção.

## **Preparo de meios de cultura, soluções, vidrarias e materiais**

Vidrarias, consumíveis de laboratório, soluções e meios de cultura preparados a partir de reagentes adquiridos comercialmente são alguns dos insumos mais utilizados nos laboratórios. O preparo, lavagem,

limpeza, esterilização dos mesmos deve ser controlada, uma vez que garante a qualidade dos resultados, e registrada sempre que necessário.

*Recomendações:* O procedimento deve conter a descrição do preparo de meios de cultura, soluções e materiais, incluindo o passo a passo do preparo e as formulações de meios de cultura e soluções, e a descrição dos métodos de limpeza e esterilização utilizados. Cuidados com o uso e demais informações complementares podem ser adicionadas. Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico de preparo de meios de cultura, contendo a formulação de todos os meios de cultura utilizados, e a elaboração de 1 (um) POP técnico de preparo de soluções, contendo a formulação de todas as soluções utilizadas. No caso de vidrarias e materiais, os POPs podem conter a descrição de procedimentos de lavagem, preparo e esterilização. Exemplos: Preparo de meios de cultura, preparo de soluções, lavagem e esterilização de vidrarias, preparo e esterilização de materiais.

### **Monitoramento, controle e registro de condições ambientais**

As condições ambientais nas instalações do laboratório ou área experimental devem propiciar a realização correta dos ensaios.

Quando houver evidência da influência das condições ambientais na qualidade dos resultados ou sobre as amostras, as mesmas devem ser monitoradas e controladas, e registradas quando necessário. Exemplos de condições ambientais que podem influenciar nos resultados de métodos e experimentos são temperatura, umidade, luminosidade e fotoperíodo, pressão, poeira ou sujidades, composição de gases, etc.

*Recomendações:* O procedimento deve conter a descrição do monitoramento, controle e registro de condições ambientais que influenciam na qualidade dos resultados. Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico abordando todas as condições ambientais que podem influenciar os resultados, a descrição de como o monitoramento / controle é realizado, e de como são registrados os dados gerados a partir desses.

## **Controle e proteção de dados**

O laboratório deve possuir procedimentos que garantam o controle e a proteção de dados físicos e eletrônicos, incluindo e não se limitando a: integridade e confidencialidade da entrada e saída de dados, armazenamento, transmissão e processamento dos dados. Os cálculos e as transferências de dados devem ser submetidos a verificações apropriadas de uma maneira sistemática. Os computadores e equipamentos automatizados devem ser conservados de forma a assegurar o funcionamento adequado, estando em condições ambientais e operacionais necessárias para a manutenção da integridade dos dados.

*Recomendações:* Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico abordando todas as medidas de controle e proteção de dados físicos e eletrônicos. Embora a necessidade de procedimentos para controle de dados esteja descrita no item 5.4.7 de Requisitos Técnicos da Norma ABNT ISO/IEC 17025, esse POP pode ser considerado como procedimento gerencial, abrangendo não só questões dos dados técnicos, como também o gerenciamento e controle dos mesmos no laboratório. Para tanto, seguir as informações no documento “Orientações para a Elaboração de Documentos Gerenciais de um Sistema de Gestão da Qualidade”.

## **Controle de qualidade**

Métodos ou procedimentos para controle de qualidade devem ser implementados para garantir a qualidade dos ensaios, possibilitando a detecção de tendências e desvios, cujos dados resultantes devem ser registrados. Quando aplicável, devem ser aplicadas técnicas estatísticas para a análise crítica dos resultados. O laboratório pode incluir o uso regular de materiais de referência certificados e/ou controle interno da qualidade, utilizando materiais de referência secundários; participação em programas de comparação interlaboratorial ou de ensaios de proficiência; ensaios replicados, utilizando-se os mesmos métodos ou métodos diferentes; reensaio de itens retidos; correlação de resultados de características diferentes de um item. Os dados de



controle de qualidade devem ser analisados e, quando estiverem fora dos critérios predefinidos, devem ser tomadas ações planejadas para corrigir o problema. Para coleções de culturas, o controle de qualidade é entendido como um conjunto de procedimentos para checagem da viabilidade, pureza e identidade da cultura, realizados antes do depósito de uma dada cultura, e após o mesmo, na recuperação dos seus estoques. Preconiza-se que seja realizado também o controle de qualidade do total de culturas preservadas de uma coleção, utilizando as mesmas checagens pré e pós depósito, porém abrangendo todas as culturas depositadas, através da avaliação de um número representativo das mesmas. Portanto, o controle de qualidade pode ser específico para um método ou procedimento determinado, ou pode ser mais abrangente, indicando a qualidade de um processo global, como no caso do controle de qualidade da coleção, exemplificado acima.

*Recomendações:* Recomenda-se, no caso de um método específico que possua POP individual, que o controle de qualidade esteja descrito no próprio POP técnico (no item controle de qualidade ou, quando não houver, no item descrição). No caso de controle de qualidade da coleção, recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico com a descrição detalhada do procedimento de controle de qualidade, incluindo, se aplicável, a base de cálculo utilizada para seleção do número representativo de culturas, as avaliações realizadas, o estabelecimento dos critérios de qualidade predefinidos, e a avaliação dos resultados.

## **POPs técnicos mínimos para as coleções componentes de Centro de Recurso Biológico (CRB)**

Os CRBs, além dos POPs técnicos mínimos recomendados para CTs e CIs, demandam a elaboração e implementação de demais procedimentos para as atividades práticas elencadas abaixo e discutidas no próximo tópico, seguindo o modelo estabelecido para procedimentos técnicos pelo setor de qualidade de cada unidade ou coleção.

Dependendo das atividades que a coleção realiza, alguns POPs podem não ser aplicáveis.

- POPs para CTs e CIs;
- Transporte, recebimento, manuseio, proteção, armazenamento, retenção e/ou remoção dos itens de ensaio;
- equipamentos;
- transferência de material biológico;
- limpeza, descontaminação e monitoramento de contaminação;
- recepção e armazenamento de material biológico perigoso;
- estimativa da incerteza de medição;
- validação de métodos;
- controle dos padrões de referência e materiais de referência.

Todos os POPs disponíveis podem ser acessados na “Comunidade de Aprendizagem, Trabalho e Inovação em Rede” (CATIR). Para ter acesso aos arquivos é necessário estar cadastrado na CATIR. Para isso, acesse a página <http://www.catir.sede.embrapa.br/> e clique no botão “Novo na Comunidade? Cadastre-se”. Informe seus dados, senha e confirme. Uma vez cadastrado, clique em “Comunidade e Cursos Existentes”. Procure por GESTCOL na coluna “Nome da Comunidade” e clique a direita no botão “Associar-se”. Como a comunidade não é pública, aguarde a confirmação de sua associação. Após a confirmação, a comunidade GESTCOL aparecerá na sua lista de comunidades na sua página inicial da CATIR. Para ter acesso, basta clicar na comunidade GESTCOL, depois clicar em *armazenagem de arquivo – procedimentos\_ POPs – POPs técnicos*.

### **Transporte, recebimento, manuseio, proteção, armazenamento, retenção e/ou remoção dos itens de ensaio**

O laboratório deve dispor de procedimentos descritos aplicados aos itens de ensaio (micro-organismos, no caso das coleções), incluindo e não se limitando a: transporte, recebimento, manuseio, proteção, armazenamento, retenção e/ou remoção dos itens de ensaio.

*Recomendações:* Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico abordando todos os procedimentos citados aplicáveis, incluindo nos mesmos todas as providências necessárias para a proteção da integridade do item de ensaio.

## **Equipamentos**

O laboratório deve possuir procedimentos para efetuar em segurança o manuseio, transporte, armazenamento, uso e manutenção planejada dos equipamentos de medição, de forma a assegurar seu correto funcionamento e prevenir contaminação e deterioração.

*Recomendações:* Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico abordando todos os procedimentos citados, podendo incluir, quando aplicável, procedimentos para calibração de equipamentos (os mesmos também podem estar descritos no próprio POP do equipamento). Um plano de calibração/verificação também é recomendável, podendo estar documentado neste POP. Embora a necessidade de procedimentos para equipamentos esteja descrita no item 5.5 de requisitos técnicos da norma ABNT ISO/IEC 17025, esse POP pode ser considerado procedimento gerencial, abrangendo não só questões técnicas dos equipamentos, uso e manutenção, como também o gerenciamento dos mesmos no laboratório. Para tanto, seguir as informações no documento “Orientações para a Elaboração de Documentos Gerenciais de um Sistema de Gestão da Qualidade”.

## **Transferência de material biológico**

O laboratório do CRB deve documentar os procedimentos realizados para a remessa de material biológico para outras instituições, bem como do recebimento de material biológico, ou seja, deve dispor de procedimentos para quaisquer transferências de micro-organismos. É caracterizada como remessa todo o envio, permanente ou temporário, de amostra de componente do patrimônio genético para fins de pesquisa científica ou desenvolvimento tecnológico, no qual a responsabilidade pela amostra é transferida da instituição remetente para a instituição destinatária. O CRB deve manter registros de todas as solicitações de transferência de material, com registros individuais no caso de material perigoso, incluindo solicitações negadas, desta forma possibilitando o rastreamento das transferências.

*Recomendações:* Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico abordando separadamente cada categoria de transferência de material biológico (remessa ou recebimento), para melhor descrição de suas particularidades. Se aplicável, esses procedimentos podem estar descritos em POPs separados.

### **Limpeza, descontaminação e monitoramento de contaminação**

O laboratório deve dispor de procedimentos de limpeza, de descontaminação (também no caso de contaminação acidental), e de monitoramento de contaminação ambiental do ar e superfícies. A limpeza de bancadas e equipamentos do laboratório de ensaio do CRB deve ser realizada por pessoal autorizado e treinado, utilizando equipamentos de proteção individual adequados e seguindo procedimentos documentados. Um programa de monitoramento de contaminação deve ser estabelecido para incluir o monitoramento ambiental do ar e das superfícies do laboratório.

*Recomendações:* Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico abordando os procedimentos de limpeza e descontaminação, e o programa de monitoramento de contaminação. Se aplicável, esses procedimentos podem estar descritos em POPs separados.

### **Recepção e armazenamento de material biológico perigoso**

O laboratório de ensaio do CRB deve documentar e implementar procedimentos de segurança para recepção e armazenamento adequados ao tipo de material biológico manipulado, de acordo com a classificação de risco biológico da Organização Mundial da Saúde (OMS). Todas as remessas (pacotes) recebidas que contenham materiais biológicos, conhecidos ou desconhecidos, devem ser abertas no laboratório com contenção adequada ou em cabines de segurança biológica apropriadas, com instalações locais para uma manipulação e descarte seguro de materiais biológicos. O CRB deve manter registros individuais de todas as solicitações de material perigoso, incluindo pedidos negados, possibilitando o rastreamento das solicitações.

*Recomendações:* Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico específico para recepção e armazenamento de materiais biológicos patogênicos/perigosos. No entanto, esses procedimentos podem estar descritos no POP de depósito (etapa de pré-depósito), ou no POP de transporte, recebimento, manuseio, proteção, armazenamento, retenção e/ou remoção dos itens de ensaio. Esse POP não é aplicável para coleções que não depositam materiais biológicos perigosos.

### **Estimativa da incerteza de medição**

O laboratório deve descrever os procedimentos para a estimativa das incertezas de medição. A natureza do método de ensaio pode impedir o cálculo rigoroso, metrológica e estatisticamente válido da incerteza de medição. Nesses casos, o laboratório deve pelo menos tentar identificar todos os componentes de incerteza e fazer uma estatística razoável. O cálculo de incerteza de medição pode não ser aplicável para muitos métodos utilizados em coleções de culturas, uma vez que constituem-se em métodos qualitativos.

*Recomendações:* Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico de estimativa da incerteza de medição para métodos quantitativos utilizados na coleção.

### **Validação de métodos**

O laboratório deve descrever o procedimento utilizado para a validação de um método novo ou modificado, sendo que métodos normalizados não necessitam ser validados. Preconiza-se que o laboratório do CRB deve documentar todos os métodos e procedimentos utilizados na validação de novos métodos, sendo conveniente que os resultados da validação do método e do procedimento sejam registrados. Para coleções de culturas, a validação dos métodos e procedimentos utilizados para a preservação dos micro-organismos deve ser realizada para assegurar sua reprodutibilidade e confiabilidade, além da conformidade geral durante o controle da qualidade do material biológico da coleção. Essa validação pode ser realizada através das seguintes abordagens: realização de testes cegos, comparação de

resultados do mesmo método em tempos distintos (reprodutibilidade); comparação de resultados obtidos por diferentes métodos (confiabilidade); comparação de resultados obtidos pelo mesmo método por diferentes profissionais.

*Recomendações:* Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico de validação dos métodos utilizados pela coleção, no caso de métodos novos ou modificados, incluindo a validação dos métodos de preservação da coleção.

### **Controle dos padrões de referência e materiais de referência**

Padrão de referência (PR) é um padrão concebido para a calibração de outros padrões de grandezas da mesma natureza numa dada organização ou num dado local, e devem ser calibrados por um organismo que possa prover rastreabilidade ao “Sistema Internacional de Unidades” (SI). Material de referência (MR) é um material suficientemente homogêneo e estável em determinadas propriedades, que foi preparado para uma utilização prevista numa medição ou para o exame de propriedades nominais, e que podem ser usados na calibração de equipamentos, no controle e atribuição de valores a outros materiais e para o desenvolvimento de metodologias. Os MRs devem, sempre que possível, ser rastreáveis às unidades de medida SI ou aos materiais de referência certificados (MRC). Um MRC é o material de referência acompanhado de documentação emitida por uma entidade qualificada fornecendo valores de uma ou mais propriedades especificadas e as incertezas e rastreabilidades associadas, usando procedimentos válidos. De acordo com esses conceitos, são mais comumente utilizados nos procedimentos de rotina das coleções de culturas os materiais de referência, sendo que estirpes tipo de bactérias podem ser consideradas como tal. Preconiza-se que o laboratório deve possuir procedimentos para efetuar em segurança o manuseio, transporte, armazenamento e uso dos padrões de referência ou materiais de referência, de forma a prevenir sua contaminação ou deterioração e proteger sua integridade.

*Recomendações:* Recomenda-se a elaboração de 1 (um) POP técnico de controle dos padrões de referência e/ou dos materiais de referência, incluindo a descrição dos procedimentos para manuseio, transporte, armazenamento e uso dos mesmos, podendo conter especificidades em relação aos demais acessos da coleção.

## Referências Bibliográficas

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT ISO guia 34**: requisitos gerais para a competência de produtores de material de referência. Rio de Janeiro, 2004. 25 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **ABNT NBR ISO/IEC 17025**: requisitos gerais para a competência de laboratórios de ensaio e calibração, 2005.

EMBRAPA. **Modelo corporativo de gestão para as coleções de microrganismos da Embrapa**. Brasília, DF, 2012. Não publicado.

INMETRO. **NIT-DICLA-061**: requisitos sobre a acreditação dos laboratórios de ensaio e dos produtores de materiais de referência dos centros de recursos biológicos. Rio de Janeiro, 2012.

IBAMA. **Instrução normativa nº 154, de 1 de março de 2007**. Brasília, DF, 2007.

KLEIN, C. H.; ZIMMER, L. E. **Orientações para elaboração de documentos gerenciais de um sistema de gestão de qualidade**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2014. 77 p. (Embrapa Suínos e Aves. Documentos 168).



OECD. Organisation for Economic Co-operation and Development. **Best Practice Guidelines for Biological Resource Centres**. Paris, 2007.

OMS. Organização Mundial da Saúde. **Manual de segurança biológica em laboratório**. 3.ed. Genebra. 2004. Disponível em: <<http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/BisLabManual3rdwebport.pdf>> .





**Embrapa**

---

**Agrobiologia**

Ministério da  
**Agricultura, Pecuária  
e Abastecimento**

GOVERNO FEDERAL  
**BRASIL**  
PÁTRIA EDUCADORA