

INCERTEZA DE MEDIÇÃO EM RESULTADOS ANALÍTICOS DE CONTAGEM DE *BACILLUS CEREUS* EM ALIMENTOS

MEASUREMENT UNCERTAINTY IN ANALYTICAL RESULTS OF *BACILLUS CEREUS* COUNT IN FOOD

Priscilla Orso¹; André Sandmann²

^{1,2} Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR – Medianeira – Brasil
priorso@hotmail.com

Resumo

Em qualquer procedimento de medição de uma grandeza o resultado trará diversas parcelas de dúvida quanto ao valor verdadeiro do mensurando. A norma NBR ISO/IEC 17025 define que os laboratórios atendam a procedimentos de cálculos de incertezas de medição a fim de validar ou confirmar os métodos. A partir desse disposto, este trabalho objetivou desenvolver e implementar cálculo de incerteza de medição em resultados de contagem de Bacillus Cereus em alimentos, utilizando o produto polenta congelada, assim como aplicar o Controle Estatístico de Processos (CEP). O cálculo foi desenvolvido baseado em documento de caráter orientativo do Inmetro e a ISO/TS 19036. Os cálculos foram aplicados aos dados de 10 amostras de polenta congelada de um mesmo lote de produção. A incerteza expandida obtida da análise dos resultados possibilitou a determinação de intervalos a partir da média de valores obtidos nas repetições que caracterizam que o valor verdadeiro da amostra está entre esses valores. Deste modo, foi possível verificar que amplitudes baixas entre os resultados implicam em incertezas baixas, o que é relevante para o estudo como garantia da qualidade dos ensaios. Concluiu-se a partir dos resultados que o CEP pode ser utilizado para viabilizar estudos de causas para possíveis falhas na operação das análises dentro da rotina diária, a qual demonstrou resultados satisfatórios determinando através do limite de controle deste tipo de produto, a alta qualidade com referência a parâmetros microbiológicos das amostras. Os procedimentos para atendimento do cálculo de incertezas se demonstrou adequado e de relativa facilidade de aplicação, constituindo-se um meio de garantia da qualidade do resultado para tomada de decisões fundamentadas.

Palavras-chave: incerteza, credenciamento, laboratório, qualidade, NBR ISO/IEC 17025.

1 INTRODUÇÃO

Um dos grandes desafios dos últimos tempos é a adequação da produção de alimentos frente à demanda crescente da população mundial. Com a globalização, ficaram evidentes os problemas relativos à qualidade dos alimentos para consumo humano. A Organização Mundial da Saúde alerta a todo o momento para a necessidade de coibir ações sem controle com possibilidade de contaminação de alimentos por agentes biológicos com potencial de causar os mais variados danos à saúde. Para tanto, as normas e legislações estabelecem limites de presença de cada bactéria para os diversos tipos de alimentos comercializados in natura, cru e processados.

A bactéria *Bacillus cereus* é um bacilo gram positivo, produtor de esporos e que pertence à família Bacillaceae. Seu reservatório natural é o solo, daí, a sua presença é considerada ampla e

generalizada no ambiente podendo ser isolada de uma grande variedade de matérias-primas e alimentos processados (RAJKOWSKI & BENNET, 2003).

Este tipo de bactéria, assim como muitas outras, pode causar infecções e intoxicações de origem alimentar e está envolvida diretamente em surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTAs), de modo que é alertado que esta seja controlada, pois também pode causar septicemia, meningite, gangrenas, abscesso pulmonar, endocardite, infecções oculares e morte infantil (INSA, 2005). Disso, envolvem-se análises rigorosas de alimentos que possam ser contaminados por essa bactéria e a necessidade que resultados analíticos devem ser adequados com níveis de incerteza para dar uma maior garantia da conformidade da análise e conseqüentemente do produto analisado.

Em qualquer procedimento de medição de uma grandeza o resultado será uma estimativa do valor verdadeiro desta grandeza. Sendo assim, pode-se dizer que um resultado de indicação quantitativa terá diversas parcelas de dúvidas embutidas, e a ciência de quais são essas parcelas de dúvidas são necessárias para garantir a qualidade da medição em um todo.

É muito frequente a apresentação de resultados de medição sem a devida confiabilidade metrológica e incerteza. A ausência dessas apresentações da qualidade de um resultado compromete a conclusão fundamentada dos resultados de medição em laboratórios sem a devida quantificação das incertezas.

Este artigo tem por objetivo desenvolver e implementar o cálculo de incerteza de medição em laboratório de ensaios em alimentos de empresa agroindustrial da região oeste do Paraná, com ênfase na análise de Contagem de *Bacillus Cereus*. Dentro deste objetivo, procura discutir os resultados encontrados e o grau de confiança nas estimativas de contagem desse tipo de bactéria e a partir deles avaliar riscos associados a decisões de aprovação ou reprovação de um resultado.

2 INCERTEZA DE MEDIÇÃO

Considerando que a necessidade de conformidade de produtos, processos e serviços devem atender à crescente demanda por resultados de medição de procedência conhecida e aceitável, com rastreabilidade metrológica comprovada, é necessário o atendimento ao uso de determinados elementos de referência (padrões rastreáveis e/ou materiais de referência), calibração e validação dos métodos de medição. Sem isso não se pode relevar a medição de forma a garantir aceitação internacional dos dados analíticos (INMETRO, 2012).

Segundo o Vocabulário internacional de Metrologia (VIM) traduzido pelo INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial – (2012) a incerteza de medição é “um parâmetro não negativo que caracteriza a dispersão dos valores que podem ser razoavelmente atribuídos a um mensurando, com base nas informações utilizadas”.

É fundamental o uso de meios e critérios objetivos por parte do laboratório para a adequada demonstração, por meio de validação, das metodologias de ensaio que executam condizentes a resultados confiáveis e adequados à qualidade pretendida (RIBANI, 2004).

Segundo a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) (2005) - NBR ISO/IEC 17025 - validar um método é confirmar via exame e fornecimento de evidência objetiva que os requisitos específicos para determinado uso estão sendo atendidos. A validação é o primeiro passo para a garantia da qualidade em laboratório de ensaios, mas há outros passos para a eficácia do controle de qualidade interno como o uso de materiais de referência, a calibração de equipamentos, controle de documentos, controle de certificados de calibração, participação em ensaios de proficiência, entre outros. Todos esses controles são necessários inicialmente para a implementação inicial do cálculo de incerteza de medição.

É obrigatória alguma indicação de qualidade do resultado de medição, se não houver essa indicação resultados não podem ser comparados sejam entre eles mesmos ou com materiais de referência (ABNT; INMETRO, 2003).

Segundo o Guia GUM 2008 – Guia para Expressão de Incerteza de Medição - publicado pelo Inmetro (2012) a incerteza de uma medição remete a falta de conhecimento do valor exato do mensurando caracterizando a dispersão dos valores que podem ser atribuídos ao que se está medindo. A incerteza expandida define um intervalo em torno de um resultado, o qual tenha um nível de confiança estabelecido para que defina a probabilidade de abrangência dos valores.

A norma NBR ISO/IEC 17025 (ABNT, 2005) descreve requisitos mínimos para laboratórios de ensaio estarem em competência com seus resultados. Dentro do rol de laboratórios aqueles que analisam alimentos estão inclusos. Além da implementação de procedimentos que validem e confirmem os métodos há também a necessidade de cálculos de estimativa de incerteza.

Se vários laboratórios conseguem chegar a um mesmo resultado analítico para um mesmo material de referência, isto mostra que as suas medições podem verdadeiramente ser comparáveis. Sem conhecimento quantitativo da “incerteza da medição” é impossível concluir se diferenças observadas entre laboratórios diferentes, por exemplo, podem ser atribuídas a diferenças de precisão ou de outras causas (ABNT, 2000).

A estimativa de incerteza de um processo ou lote é a estimativa que uma indústria deve ter e conseguir manter através de Controles Estatísticos de Processos (CEP), porém em paralelo, os laboratórios podem se voltar ao controle interno dos seus métodos de ensaios que também pode ser viabilidade por ferramentas existentes abrangendo CEP internos a rotina diária (GONÇALVES; ANTONIASSI, 2010).

Ellison e Willians (2007) destacam que para fins de decisão quanto à conformidade de produtos, a incerteza de medição garante maior segurança na verificação de conformidade ou implicação na rejeição de determinado produto.

2.1 INCERTEZA EM ENSAIOS MICROBIOLÓGICOS

Embora a abordagem desenvolvida para análises químicas seja bem determinada com base na estimativa de incerteza, a mesma metodologia não é aplicável para ensaios biológicos (CASTRO, 2009).

Morel et al. (2006) destaca a dificuldade de estimar incerteza em ensaios biológicos, que se utilizam de espécies animais e vegetais. Deste modo, laboratório que envolvem este tipo de crescimento estão dando mais atenção para estimar as reais incertezas de medida dos resultados produzidos (CASTRO, 2009)

De acordo com o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial - INMETRO (2014), no documento DOQ-CGCRE-053, embora o Guia GUM 2008 apresente o passo a passo para a determinação de incerteza em um processo de medição, este não se aplica adequadamente para ensaios microbiológicos, pois se torna muito difícil a definição de um modelo abrangente para este tipo de ensaio, sendo que o analito pode sofrer múltiplas variações em seu estado fisiológico. A partir disto, os ensaios microbiológicos geralmente se enquadram na categoria que dispensa o cálculo rigoroso, metrológico e estatístico válido (EA/EURACHEM, 2002).

As recomendações da ISO/TS 19036: *Microbiology of foods and Animal Feeding Stuffs – Guide on Estimation of Measurement Uncertainty for Quantitative determinations*, fundamenta que para ensaios microbiológicos o cálculo de incerteza de medição deve ser abordado baseado em cálculo de desvio padrão da reprodutibilidade dos ensaios efetuados (ISO, 2006).

Morel *et al* (2006) destaca a simplicidade do cálculo das incertezas para ensaios biológicos e define que embora seja uma medida indireta da incerteza garante o cumprimento de requisitos das normas regulamentadoras.

Embora a amostragem introduza uma significativa parte do erro total, para a estimativa de incerteza de medições microbiológicas esta não é considerada. Para os ensaios microbiológicos os principais pontos influenciadores do resultado são: equipamentos, meio de cultura, reagentes, operador e tempo. Deste modo, enfatiza-se que a estimativa da incerteza da medição só é possível quando os controles de qualidade requeridos pelo procedimento estão de acordo (ISO, 2006).

O presente estudo prevê o cálculo de incertezas em ensaios de *Bacillus Cereus*, deste modo, é importante salientar que a ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária – determina na resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001 limites para diversos tipos alimentícios,

entre eles produtos derivados de amidos, féculas e farinhas. Tais produtos tem limite aceitável de *Bacillus Cereus* até $3,0 \times 10^3$ UFC/g (considerando 10^2 como produto de qualidade intermediária). Para amostragem suficiente de um lote é considerado a quantidade ideal de cinco amostras, onde no máximo duas amostras podem estar fora do intervalo 10^2 a $3,0 \times 10^3$ UFC/g, caso sejam mais que duas amostras o lote é considerado produto com contagem inaceitável para consumo (BRASIL, 2001).

A existência de uma demanda por aplicações da metrologia pode ser descrita com origem em inovações tecnológicas, desenvolvimento de produtos, dos serviços e das normas para o comércio entre outros aspectos. Tal demanda consiste em verificar se o produto, processo ou serviço atende às características necessárias para seu uso. Essa verificação faz uso de medições e/ou outros recursos. Disso, percebe-se que as medições realizadas são para garantia de que os produtos, processos e serviços estejam em conformidade com o que foi demandado. As medições por sua vez, precisam ter qualidade, credibilidade e universalidade que possam dar caracterização a uma confiança metrológica (GONÇALVES; ANTONIASSI, 2010).

3 METODOLOGIAS UTILIZADAS

As amostras de polenta congelada, utilizadas para os ensaios, são provenientes de empresa da região oeste do Paraná, produzidas por terceiros e embaladas por ela, onde são armazenadas em câmaras frias da empresa e condicionadas em caixas com 20 pacotes cada uma. Tais amostras foram selecionadas aleatoriamente, entre caixas de um mesmo lote e analisadas para determinação de contagem de colônias de *Bacillus Cereus*.

As análises foram realizadas de acordo com procedimentos internos na empresa baseados na ISO EN 7932:2004 e os resultados foram calculados conforme especificado pelo Inmetro (2014) no documento DOQ-CGCRE-053. Para tanto, foram seguidas quatro etapas distintas para determinação do objetivo deste trabalho conforme Tabela 01.

Destaca-se a etapa 04, descrita na Tabela 1 a seguir, onde os cálculos foram realizados utilizando os critérios definidos pela ISO/TS 19036 (ISO, 2006) e a Amendment1 da mesma (ISO, 2009) de modo que tais cálculos foram essenciais para a formalização da etapa 05 com intuito de calcular a incerteza expandida do estudo por completo. Após a sequência desenvolvida na Tabela 01, os dados foram analisados no software *Excel* e os resultados obtidos são apresentados na sequência.

Tabela 1 – Etapas para estudo de cálculo de incertezas em ensaios de *Bacillus Cereus* em polenta congelada

ETAPAS	DESCRIÇÃO
Etapa 01	Seleção dos dados a partir dos resultados obtidos em análises de contagem de <i>Bacillus cereus</i>
Etapa 02	Elaboração de planilha de Excel para os cálculos de incerteza referente aos dados de contagem de <i>bacillus cereus</i> em amostras determinadas
Etapa 03	Cálculo da duas repetiç geral dos dados; Continua...
Etapa 04	Cálculo do desvio padrão da reprodutibilidade Intralaboratorial S_{Ri}^2 e desvio padrão da reprodutibilidade S_R
Etapa 05	Cálculo da incerteza expandida (U)

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados do parâmetro do teste em polenta congelada e os cálculos utilizados para quantificação da incerteza de medição são apresentados na tabela 1 e descritos nas seguintes etapas:

Resultados das Etapas 1 e 2: No modelo matemático utilizado pelo documento DOQ CGCRE-053 do Inmetro (2014) é necessário que seja estabelecido um número de 10 amostras para um mesmo método e mesma matriz com análise em duplicata para as condições de uma incubadora e um técnico. Como a metodologia de análise utilizada pelo laboratório tem por referência à ISO EN 7932/2004, e por determinação da própria o cálculo de contagem de colônias é feita com base em etapa realizada em duplicata desde o início, por conveniência foi declarada a necessidade de estabelecermos análise em duplicata para um número de 10 amostras de um mesmo lote onde as condições teriam por variância somente o número de técnicos (de um para dois técnicos) e uma incubadora. Atendendo a estas condições, os dados utilizados para determinação da incerteza estão dispostos na Tabela 02 e foram obtidos a partir da análise de 10 amostras de polenta congelada, analisadas na rotina do laboratório, seguindo procedimento de análise interno.

Resultado da Etapa 3 – Foram determinadas as amplitudes máximas entre as repetições de cada amostra e a média entre as amplitudes calculadas.

Resultado da Etapa 4 – Realizado o cálculo do desvio padrão da reprodutibilidade intralaboratorial S_{Ri}^2 por meio da divisão por dois (2) do quadrado da diferença dos resultados das duas repetições em log.

$$S_{Ri}^2 = \frac{(y_{ia} - y_{ib})^2}{2}$$

A partir do desvio padrão da reprodutibilidade intralaboratorial pôde então ser determinado o desvio padrão de reprodutibilidade:

$$S_R = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{S_{Ri}^2}{n}} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(y_{ia} - y_{ib})^2}{2n}}$$

Resultado da Etapa 5 – O resultado do desvio da reprodutibilidade S_R obtido na fórmula anterior foi utilizado para a obtenção da incerteza expandida, disso temos:

$$U = k \cdot S_R$$

O valor S_R neste caso foi multiplicado por um fator de abrangência $k = 2,37$ (para nível de confiança de 95,45% de acordo com a tabela de *t* de *student* para oito graus de liberdade).

Tabela 02 – Resultados e cálculos utilizados para a estimativa da incerteza de medição de contagem de *Bacillus cereus* em 10 amostras de polenta congelada

Amostras	Repetições em UFC/g		Repetições em log ₁₀		Média (log ₁₀)	Amplitude (log ₁₀)	S_{Ri}^2 = $\frac{(y_{ia} - y_{ib})^2}{2}$
	x _{ia}	x _{ib}	y _{ia}	y _{ib}			
1	180	220	2,25	2,34	2,30	0,09	0,0032
2	160	170	2,20	2,23	2,22	0,03	0,0005
3	140	150	2,15	2,18	2,17	0,03	0,0005
4	170	140	2,23	2,15	2,19	0,08	0,0032
5	290	230	2,46	2,36	2,41	0,10	0,0050
6	40	40	1,60	1,6	1,60	0,00	0,0000
7	130	110	2,11	2,04	2,08	0,07	0,0025
8	50	40	1,7	1,6	1,65	0,10	0,0050
9	40	40	1,6	1,6	1,60	0,00	0,0000
10	50	100	1,7	2	1,85	0,30	0,0450
Amplitude Média						0,08	
Soma do desvio padrão de reprodutibilidade intralaboratorial (S_{Ri})						0,065	
Desvio Padrão da reprodutibilidade (S_R)						0,0065	
Incerteza expandida calculada						0,01540	
Incerteza expandida arredondada						0,02	

A partir dos dados apresentados na Tabela 02, verifica-se uma amplitude média baixa, e também que as diferenças de leituras entre os dois técnicos foi significativamente baixa. Deste modo, o desvio padrão da reprodutibilidade pôde determinar uma baixa incerteza expandida. Neste caso a incerteza expandida obtida a partir dos cálculos foi de 0,01540, e como a ISO/TS 19036

fundamenta que os resultados para incerteza sejam arredondados, a $U = 0,02$ corresponde a incerteza expandida arredondada e pode denotar a partir disso que o resultado da amostra 1, por exemplo, pode ser entendido como $2,30 \pm 0,02 \log_{10}$ (UFC/g), ou até mesmo, $200 \pm 1,05$ UFC/g. A Tabela 03 mostra o delineamento dos dados obtidos a partir dos ensaios realizados.

Tabela 03 – Limites inferiores e superiores segundo a média das leituras realizadas e incerteza expandida calculada

Amostras	Média Repetições (UFC/g)	Limite Inferior (UFC/g)	Limite Superior (UFC/g)
1	200	198,95	201,05
2	165	163,95	166,05
3	145	143,95	146,05
4	155	153,95	156,05
5	260	258,95	261,05
6	40	38,95	41,05
7	120	118,95	121,05
8	45	43,95	46,05
9	40	38,95	41,05
10	75	73,95	76,05

A definição da incerteza expandida surge como conclusão importante do intervalo de valores de limites inferiores e superiores em UFC/g classificados de acordo com o valor médio obtido das leituras das repetições. Isso foi possível devido à baixa amplitude entre as repetições, e conseqüente baixo valor médio da amplitude entre os 10 ensaios.

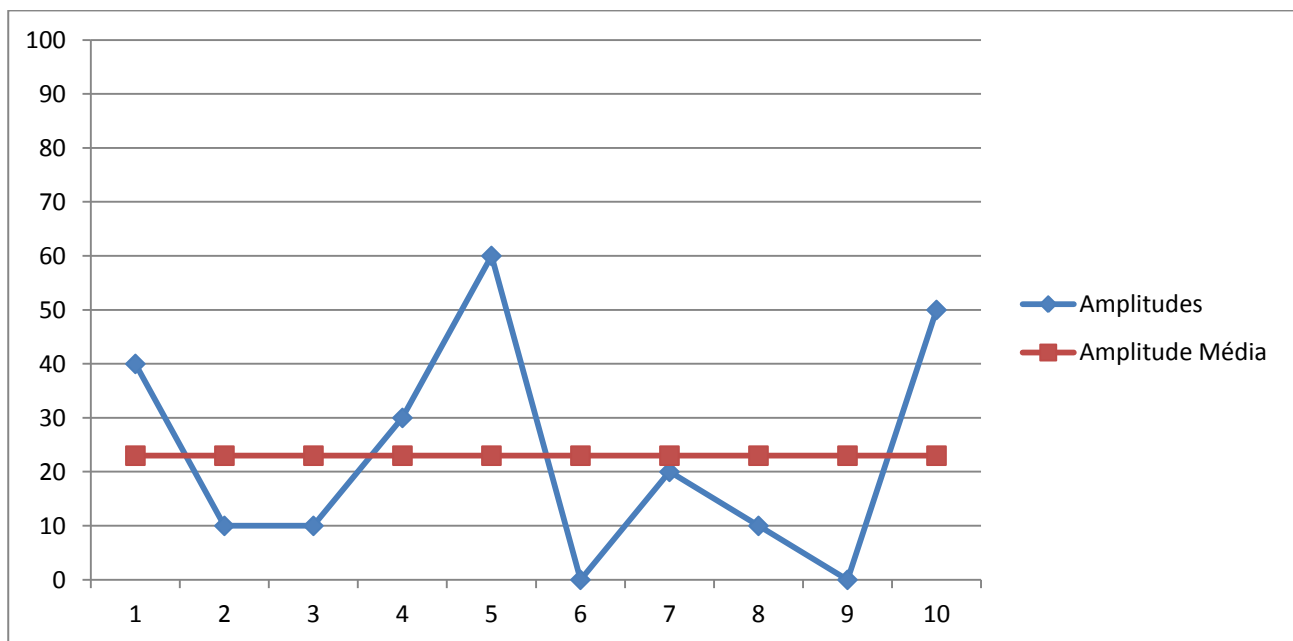
Vale salientar que a informação da incerteza da medição, embora não prevista em legislação brasileira, serve como ferramenta de avaliação do próprio controle de qualidade do laboratório, e mais ainda, o controle de fontes de erro é imprescindível. Castro (2009) destaca alguns aspectos importantes que devem ser considerados, tais como: capacitação da equipe de analistas nas técnicas utilizadas; manutenção e calibração de equipamentos; controle e registro das condições ambientais.

Além disso, outros pontos importantes a considerar são cuidados necessários ao adquirir e também manusear materiais, reagentes, controlar as condições de esterilidade dos meios de cultura e água utilizada para análise.

Considera-se que o desenvolvimento desta proposta facilite o estudo de limites de detecção de *bacillus cereus* em alimentos diversos. Sendo assim, importante ferramenta que contribui para a implantação de controles laboratoriais e atendimento a exigências de normas regulamentadoras, entre elas a NBR/ISO/IEC 17025, que incentiva procedimentos que deem segurança aos resultados analíticos.

Albano e Raya-Rodriguez (2009) destacam a importância de análises críticas de resultados, principalmente quando identificadas variações significativas, para viabilizar a identificação da causa e sanar o problema. Tais resultados, com variações significantes, são importantes para diagnosticar falhas no desempenho da execução das atividades diárias dentro do laboratório e identificar pontos a serem melhorados no processo de análise. O Controle Estatístico de Processos (CEP) através das cartas de controle pode ser um método para controle das tendências de resultados. Deste modo o Gráfico 01 apresenta os resultados

Gráfico 01 – Carta de Controle da precisão intermediária para o teste de bacillus cereus em 10 amostras de polenta congelada



É possível observar no gráfico que não foi possível ajustar a linha de limite de controle, devido ao limite ser de $3,0 \times 10^3$ UFC/g. Deste modo seguindo o disposto pela ANVISA os valores obtidos para o produto analisado está bem abaixo do especificado como limite mínimo que é de 10^2 UFC/g e caracteriza produto de qualidade intermediária. A carta de controle possibilita o estudo dos dados frente a qualidade do produto e também em paralelo a qualidade do ensaio devido a variação de analistas e possíveis falhas de processo por natureza humana ou não (BRASIL, 2001).

Este método, foi utilizado por Maag et al (2013) em proposta para a estimativa de incertezas em testes de germinação de sementes, e os resultados de sua utilização foram satisfatórios de modo que estudando a carta de controle onde possuindo uma incerteza alta já indicaria a necessidade de uma análise crítica dos dados para determinar causas da variação e propor de modo rápido ações corretivas, e também preventivas para possíveis próximos episódios.

Com os resultados obtidos e a relativa facilidade na aplicação dos cálculos, sugere-se a disseminação dessa metodologia de estimativa de incerteza para ensaios microbiológicos também para outras variedades de microrganismos neste e em outros laboratórios de alimentos.

Abstract

In any measurement procedure of a quantity, the result will bring several parts of doubt about the real value of the measuring. The standard NBR ISO/IEC 17025 defines that the laboratories attend to measurement uncertainty calculation procedures in order to validate or confirm methods. From this, this study aimed to develop and implement measurement uncertainty calculation in results of counting of Bacillus Cereus in food, using the product frozen polenta, as well as apply the statistical process control (CEP). The calculation was developed based in documento of guidance character of Inmetro and ISO/TS 19036. Calculations were applies to 10 data samples of frozen polenta of the same production lot. The expanded uncertainty obtained from the result analysis allowed the determination of intervals from the mean values obtained in the repetitions that characterize the real value of the sample that is between this values. In that way, verifying low amplitude among the low uncertainties. It was concluded from the results that CEP can be used to enable causes study to possible failure in analysis operation within the daily routine, wich demonstrate satisfactory results determining through the control limit of this type of product, the high quality with reference to microbiologic parameters of the samples. The procedure to attend to measurement uncertainty calculation was demonstrated adequate and relative easy of application, constituting means of quality assurance of the result to taken decisions.

Keywords: uncertainty, accreditation, laboratory, quality, NBR ISO/IEC 17025.

Referências Bibliográficas

ABNT. **NBR / ISO / IEC 17025**: Requisitos gerais para competência de laboratórios de ensaio e calibração. Rio de Janeiro, 2005.

ABNT. **ISO Guia 32**: Calibração em química analítica e uso de materiais de referência certificados. Rio de Janeiro, 2000. 7 p.

ABNT/INMETRO. **Guia para expressão da incerteza de medição**. 3 ed. rev. Rio de Janeiro: ABNT;INMETRO, 2003.

ALBANO, F. M.; RAYA-RODRIGUEZ, M. T. R. Validação e garantia da qualidade de ensaios laboratoriais. Porto Alegre: Rede Metrológica RS, 2009.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC nº 12 de 02 de janeiro de 2001: Regulamento Técnico Sobre Os Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial. Brasília, DF. 2001.

CASTRO, V. L. S. S. Aspectos gerais da validação de métodos químicos, biológicos e computacionais na gestão da qualidade de resultados de pesquisa. Embrapa Meio Ambiente. Jaguariúna: 2009.

EA/EURACHEM. **EA-04/10**: Accreditation for microbiological laboratories. Paris: EA, 2002.

ELLISON, S. L. R.; WILLIAMS, A. **EURACHEM / CITAC Guide**: Use of uncertainty information in compliance assessment. Teddington: EURACHEM, 2007.

GONÇALVES, E. B.; ANTONIASSI, R. Incerteza em resultados analíticos e verificação de conformidade de qualidade de alimentos. Revista Ciência e Tecnologia em Alimentos, v. 30, n. 4, p. 917-927, out-dez. Campinas, 2010.

INMETRO. Vocabulário Internacional de Termos Fundamentais e Gerais de Metrologia, 1995.

INMETRO. GUM 2008: Guia para a expressão de incerteza de medição – avaliação de dados de medição. Rio de Janeiro. 2012.

INMETRO. Vocabulário internacional de metrologia: conceitos fundamentais e gerais e termos associados. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial.. Luso-Brasileira. Rio de Janeiro: INMETRO, 2012.

INMETRO. DOQ-CGCRE-053 – Exemplos de Estimativa de Incerteza de Medição em Ensaio Microbiológicos. Coordenação Geral de Acreditação, fevereiro. 2014.

INSA. Valores guia para a avaliação da qualidade dos alimentos prontos a comer preparados em estabelecimentos de restauração. Instituto Nacional Dr. Ricardo Jorge, Lisboa: 2005.

ISO. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO/TS 19036**: Microbiology of food and animal feeding stuffs – guidelines for the estimation of measurement uncertainty for quantitative determinations. Geneva: ISO, 2006.

ISO. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. **ISO/TS 19036/Amd 1**: Measurement uncertainty for low counts. Geneva: ISO, 2009.

MOREL, P.; ARRUDA, T. L.; BOHRER-MOREL, M. B. C. Calculation of uncertainties in influence quantities in biological essays. Brazilian Archives of Biology and Technology, v. 49. 2006.

RAJKOWSKI, K. T.; BENNETT, R. W. **Bacillus cereus**. In: Miliotis M.D., Bier J. W., International Handbook of Foodborne Pathogens, New York: Marcel Dekker Inc., 2003.

RIBANI, M. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.