



# RELATÓRIO

## PATHOGENIC VIBRIO SCHEME

### DISTRIBUIÇÃO Nº V047 AMOSTRAS V0134 e V0135

Data do ensaio: junho 2016  
Data limite de envio de resultados: 07 de julho 2016  
Data do relatório: 14 de julho 2016

Preparação de amostras e controlo da qualidade: Ewurabena Mills, Thamayanthi Ramesh, Thomas Harper, Aneta Stranc, Zak Prior e Vincent Smith

Dados analisados / Relatório elaborado: Manchari Rajkumar e Nita Patel

Relatório autorizado: Nita Patel

Relatório traduzido, compilado e verificado: Cristina Belo Correia e Isabel Campos Cunha

Consultores: M<sup>a</sup> Isabel Santos e M<sup>a</sup> Margarida Saraiva

Este relatório não pode ser reproduzido sem a autorização dos responsáveis pelo Programa.

**POR FAVOR VERIFIQUE NO RELATÓRIO SE O NÚMERO DE IDENTIFICAÇÃO DO SEU LABORATÓRIO ESTÁ CORRETO**

**INSTITUTO NACIONAL DE SAÚDE DR. RICARDO JORGE, I.P.**  
Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade  
Microbiologia de Alimentos

Lab. Microbiologia dos Alimentos  
Av. Padre Cruz  
1649-016 Lisboa  
Tel. 217519230  
Fax 21 759 94 70 / 21 752 64 70  
e-mail: Cristina.Belo@insa.min-saude.pt

Lab. Microbiologia dos Alimentos  
Rua Alexandre Herculano, 321  
4000-055 Porto  
Tel 22 3401100/31/32/33  
Fax 22 3401189  
e-mail: Isabel.Cunha@insa.min-saude.pt

**FOOD EQA Schemes**

Informações gerais sobre o Esquema, amostras, controlo de qualidade, entre outras, estão incluídas em “**A Guide to the use of the PHE Proficiency Testing Schemes for Food and Water Microbiology**”, disponível em <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/ApoioTecnico/PNAEQ/Paginas/MicrobiologiaAlimentos.aspx> .

As estirpes de *V. cholerae* são abrangidas pelo “Anti-Terrorism, Crime and Security Act 2001”. O “Centre of Infections” detém uma licença do “United Kingdom Department of Trade and Industry” para a exportação de *V. cholerae* exclusivamente em países da União Europeia. Nenhuma das amostras conterá estirpes de *V. cholerae* O1 ou O139.

Contrariamente ao *V. cholerae* O1 e ao *V. cholerae* O139, o *V. cholerae* não O1 parece não causar surtos epidémicos, embora tenham surgido surtos de toxinfecções alimentares causados por algumas estirpes não O1.

#### **Participantes da União Europeia (UE)**

As amostras que contêm *V. cholerae* requerem uma licença para serem exportadas para fora da UE.

#### **Participantes do Reino Unido**

As amostras contêm um microrganismo (*V. cholerae*) referido no “Anti-Terrorism, Crime and Security Act 2001” e, portanto, está sujeito a controlo caso o mantenha. Recomenda-se vivamente que destrua as estirpes isoladas logo que termine a análise.

**Controlo de Qualidade FEPTU:** É analisado um mínimo de 10 amostras liofilizadas, selecionadas aleatoriamente do lote, para todos os parâmetros pedidos, utilizando métodos da *Public Health England* (PHE) baseados em métodos ISO. Os resultados obtidos nestes ensaios de controlo de qualidade são enviados a todos os participantes, por correio eletrónico, como “Resultados Esperados Preliminares” e constituem uma orientação em relação aos valores esperados.

Se detetou algum problema nos ensaios, consulte a secção “Resolução de problemas” na página 8 e solicite uma amostra de repetição.

Lembramos que uma incorreta ou incompleta identificação dos vibrios reportados em amostras alimentares podem ter sérias implicações em saúde pública. Do mesmo modo níveis de vibrios incorretamente reportados na amostra podem afetar o destino subsequente do produto.

Não é atribuída pontuação (“SCORES”) aos resultados reportados no “Pathogenic Vibrio Scheme”.

#### **Contactos**

##### **INSA Dr. Ricardo Jorge**

Cristina Belo Correia - Tel.: 21 7519230

e-mail [Cristina.Belo@insa.min-saude.pt](mailto:Cristina.Belo@insa.min-saude.pt) ; Fax: 21 7526470

Isabel Campos Cunha – Tel: 22 3401132/33/00

e-mail [Isabel.Cunha@insa.min-saude.pt](mailto:Isabel.Cunha@insa.min-saude.pt); Fax: 22 3401189

**Acreditação:** O PHE *Pathogenic Vibrio* EQA Scheme está acreditado pelo *United Kingdom Accreditation Service* (UKAS) de acordo com a ISO/IEC 17043: 2010 - *Conformity assessment - General requirements for proficiency testing*.

## Amostra V0134

### Conteúdo da amostra:

*Vibrio parahaemolyticus* ( $1,6 \times 10^2$ ) (estirpe “selvagem”), *Vibrio cholerae* ( $7,0 \times 10^3$ ) (estirpe “selvagem”), *Enterococcus faecium* ( $3,9 \times 10^3$ ) (estirpe “selvagem”), *Escherichia coli* ( $4,9 \times 10^4$ ) (estirpe “selvagem”) e *Pseudomonas putida* ( $1,8 \times 10^4$ ) (estirpe “selvagem”).

Todas as contagens são apresentadas como unidades formadoras de colônias (ufc) por ml de amostra reconstituída.

### Resultados esperados:

Ensaio	Resultado esperado	Resultado do Laboratório	Comentário da PHE
<i>Vibrio cholerae</i>	Presente ( $2,6 \times 10^2 - 3,5 \times 10^4$ ufc g <sup>-1</sup> )		
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Presente ( $3 - 4,6 \times 10^3$ ufc g <sup>-1</sup> )		
<i>Vibrio vulnificus</i>	Não detetado		

Total de participantes que enviaram resultados para vibrios patogênicos	30
---	----

Participantes que enviaram resultados para <i>V. cholerae</i>	26
---	----

Participantes que enviaram corretamente a <b>presença</b> de <i>V. cholerae</i>	26 (100%)
---	-----------

Participantes que enviaram resultados para <i>V. parahaemolyticus</i>	29
---	----

Participantes que enviaram corretamente a <b>presença</b> de <i>V. parahaemolyticus</i>	27 (93%)
---	----------

Participantes que enviaram resultados para <i>V. vulnificus</i>	17
---	----

Participantes que enviaram corretamente a <b>ausência</b> de <i>V. vulnificus</i>	17 (100%)
---	-----------

Participantes que efetuaram a contagem de <i>V. cholerae</i>	6
--	---

Participantes que enviaram valores baixos não mensuráveis	0
---	---

Participantes que enviaram valores altos não mensuráveis	0
--	---

Valor alvo (mediana dos resultados dos participantes)	$3,0 \times 10^3$ ufc g <sup>-1</sup> (3,48 log <sub>10</sub> )
---	---

Nº de contagens fora da amplitude esperada (AE)	1 (1 < AE / 0 > AE)
---	---------------------

Média dos resultados dos participantes	$1,7 \times 10^3$ ufc g <sup>-1</sup> (3,23 log <sub>10</sub> )
--	---

Desvio padrão dos resultados dos participantes (MAD)*	0,53 log <sub>10</sub> ufc g <sup>-1</sup>
---	--

Mediana dos resultados do CQ do FEPTU	$7,0 \times 10^3$ ufc g <sup>-1</sup> (3,85 log <sub>10</sub> )
---------------------------------------	---

Participantes que efetuaram a contagem de <i>V. parahaemolyticus</i>	11
--	----

Participantes que enviaram valores baixos não mensuráveis	3
---	---

Participantes que enviaram valores altos não mensuráveis	0
--	---

Valor alvo (mediana dos resultados dos participantes)	$1,2 \times 10^2$ ufc g <sup>-1</sup> (2,09 log <sub>10</sub> )
---	---

Nº de contagens fora da amplitude esperada (AE)	0 (0 < AE / 0 > AE)
---	---------------------

Média dos resultados dos participantes	$1,3 \times 10^2$ ufc g <sup>-1</sup> (2,12 log <sub>10</sub> )
--	---

Desvio padrão dos resultados dos participantes (MAD)*	0,79 log <sub>10</sub> ufc g <sup>-1</sup>
---	--

Mediana dos resultados do CQ do FEPTU	$1,6 \times 10^2$ ufc g <sup>-1</sup> (2,20 log <sub>10</sub> )
---------------------------------------	---

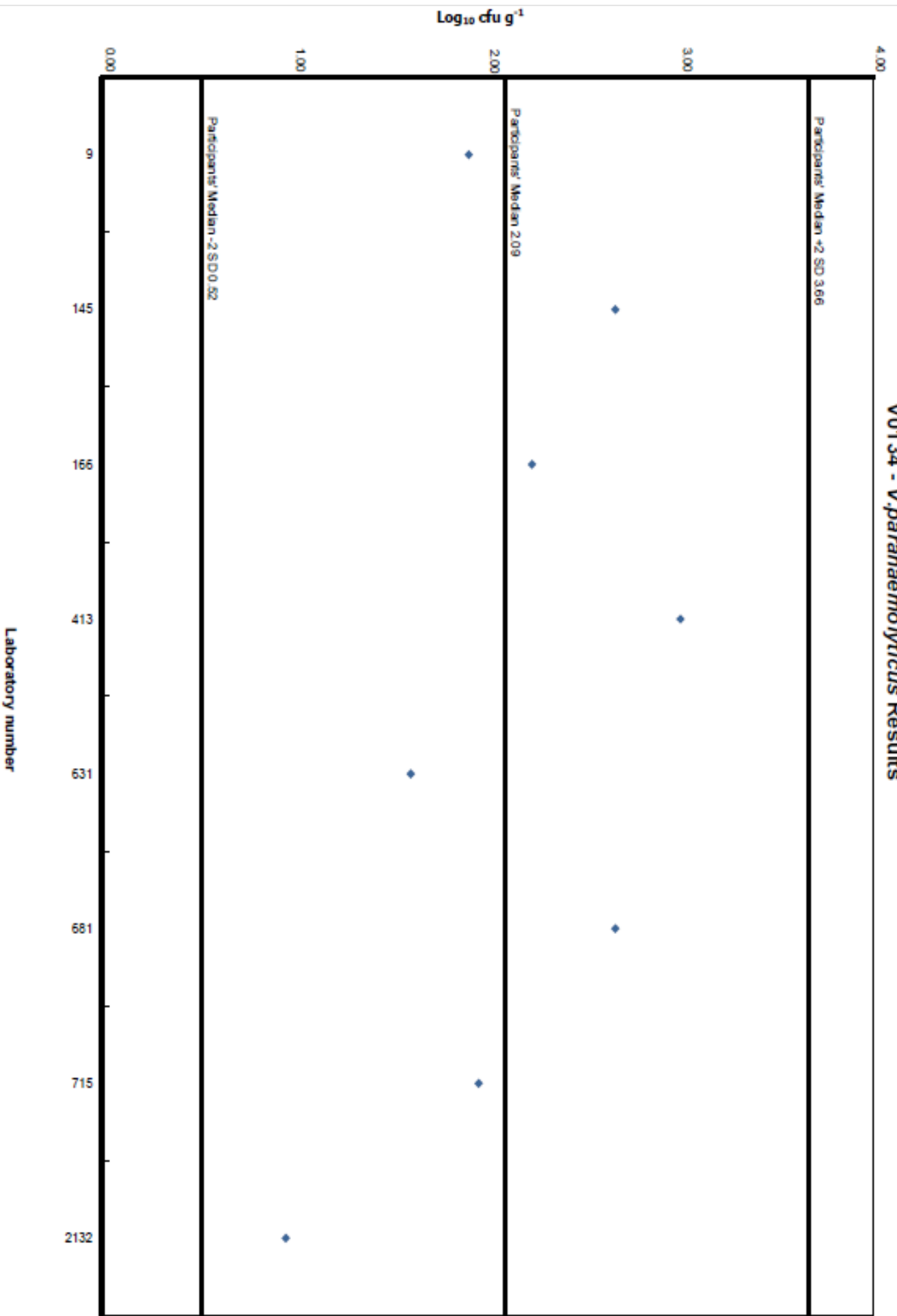
<b>Total de amostras enviadas</b>	34
-----------------------------------	----

<b>Relatórios não devolvidos</b>	2
----------------------------------	---

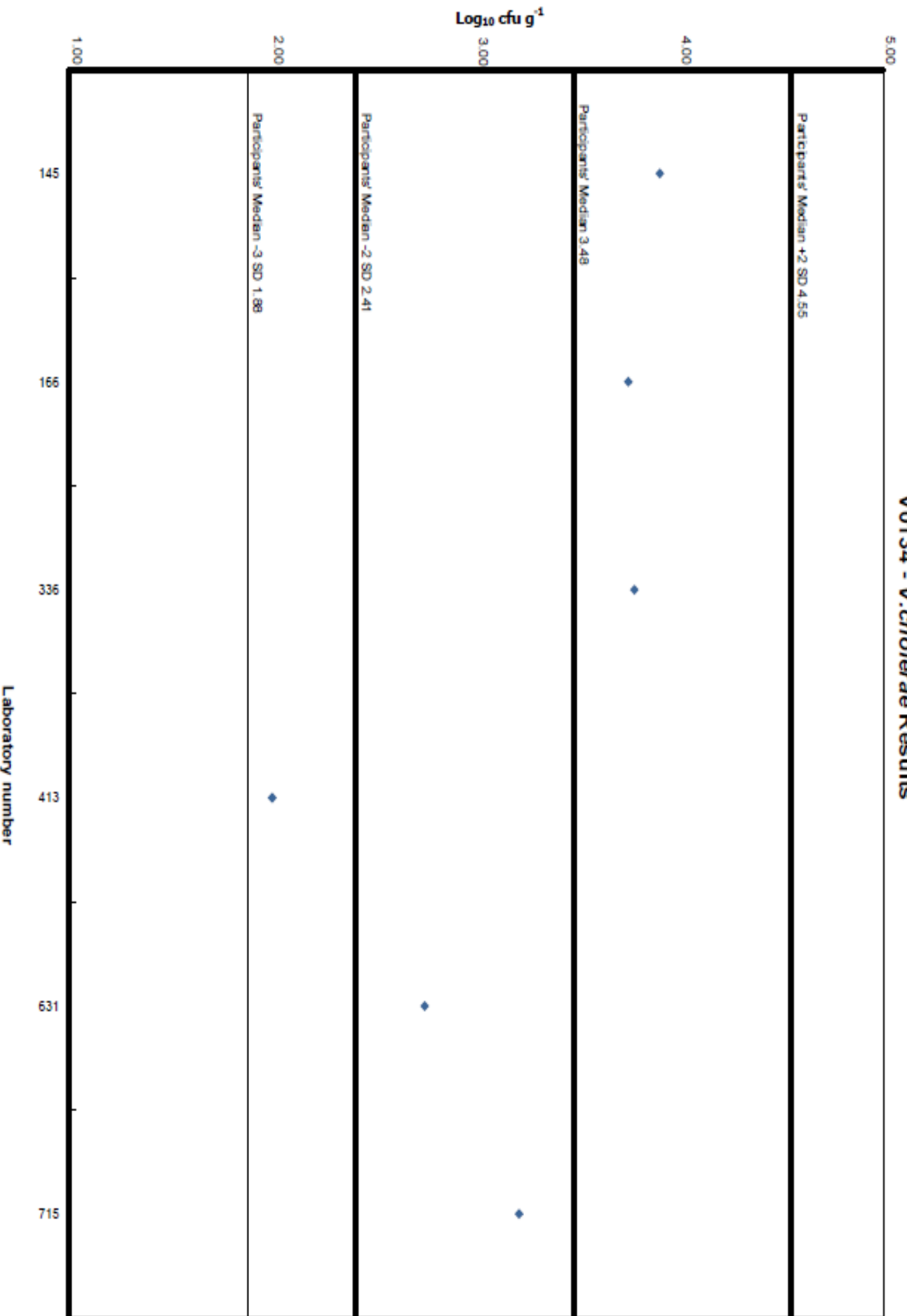
<b>Relatório devolvido – “amostra não analisada”</b>	4
--	---

\* Desvio padrão (DP) robusto baseado na mediana dos desvios absolutos relativamente à mediana dos participantes (MAD).

### V0134 - *V.parahaemolyticus* Results



V0134 - *V.cholerae* Results



## Amostra V0135

### Conteúdo da amostra:

*Vibrio cholerae* ( $1,9 \times 10^4$ ) (estirpe "selvagem"), *Vibrio alginolyticus* ( $2,0 \times 10^2$ ) (estirpe "selvagem"), *Pseudomonas fluorescens* ( $3,8 \times 10^2$ ) (estirpe "selvagem") e *Staphylococcus saprophyticus* ( $2,6 \times 10^3$ ) (estirpe "selvagem").

Todas as contagens são apresentadas como unidades formadoras de colônias (ufc) por ml de amostra reconstituída.

### Resultados esperados:

Ensaio	Resultado esperado	Resultado do Laboratório	Comentário da PHE
<i>Vibrio cholerae</i>	Presente ( $1,8 \times 10^3 - 5,9 \times 10^4$ ufc g <sup>-1</sup> )		
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Não detetado		
<i>Vibrio vulnificus</i>	Não detetado		

Total de participantes que enviaram resultados para vibrios patogênicos	30
---	----

Participantes que enviaram resultados para <i>V. cholerae</i>	26
---	----

Participantes que enviaram corretamente a <b>presença</b> de <i>V. cholerae</i>	26 (100%)
---	-----------

Participantes que enviaram resultados para <i>V. parahaemolyticus</i>	29
---	----

Participantes que enviaram corretamente a <b>ausência</b> de <i>V. parahaemolyticus</i>	28 (97%)
---	----------

Participantes que enviaram resultados para <i>V. vulnificus</i>	17
---	----

Participantes que enviaram corretamente a <b>ausência</b> de <i>V. vulnificus</i>	17 (100%)
---	-----------

Participantes que efetuaram a contagem de <i>V. cholerae</i>	6
--	---

Participantes que enviaram valores baixos não mensuráveis	0
---	---

Participantes que enviaram valores altos não mensuráveis	1
--	---

Valor alvo (mediana dos resultados dos participantes)	$1,0 \times 10^4$ ufc g <sup>-1</sup> (4,01 log <sub>10</sub> )
---	---

Nº de contagens fora da amplitude esperada (AE)	0 (0 < AE / 0 > AE)
---	---------------------

Média dos resultados dos participantes	$7,8 \times 10^3$ ufc g <sup>-1</sup> (3,89 log <sub>10</sub> )
--	---

Desvio padrão dos resultados dos participantes (MAD)*	0,38 log <sub>10</sub> ufc g <sup>-1</sup>
---	--

Mediana dos resultados do CQ do FEPTU	$1,9 \times 10^4$ ufc g <sup>-1</sup> (4,28 log <sub>10</sub> )
---------------------------------------	---

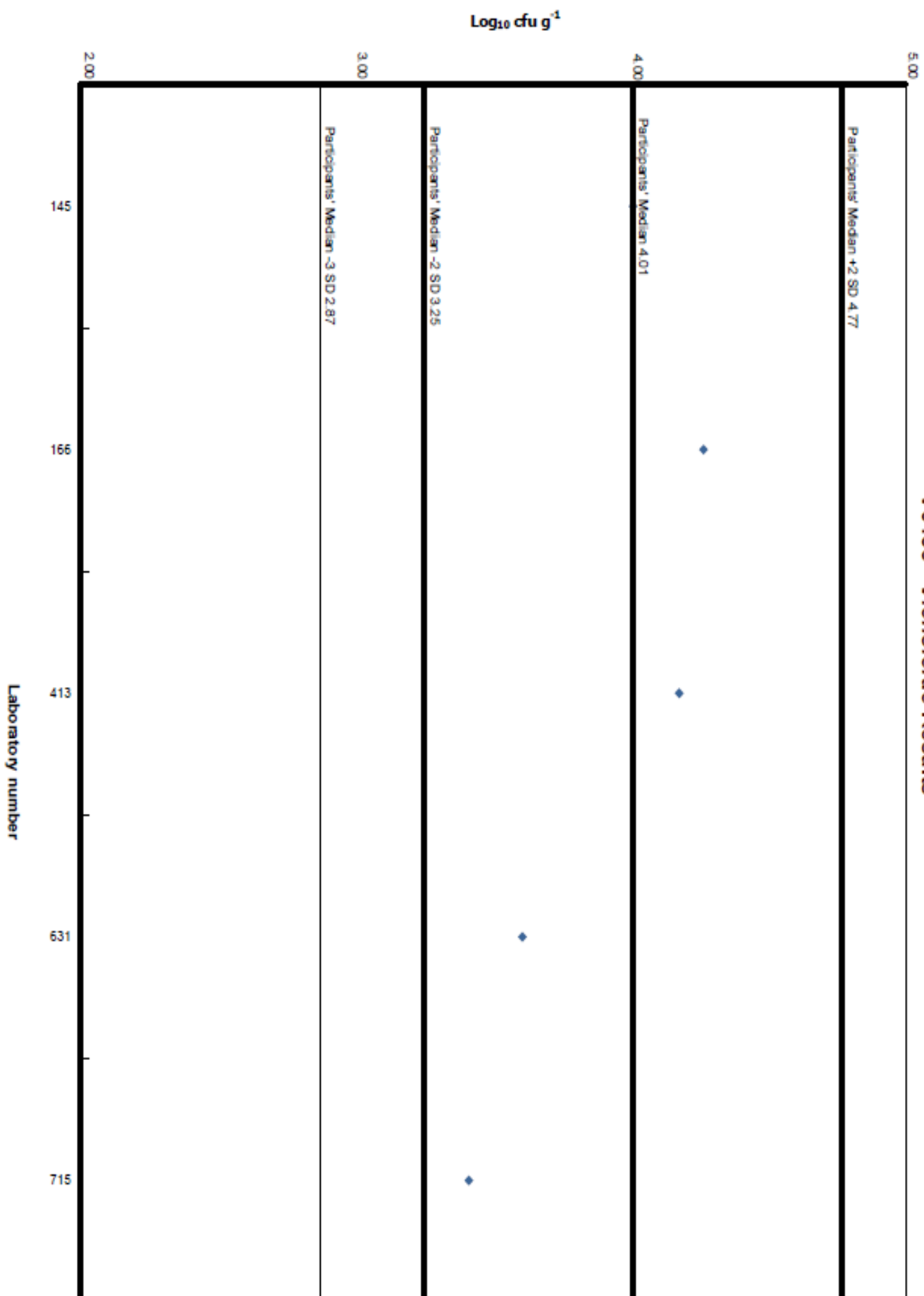
<b>Total de amostras enviadas</b>	34
-----------------------------------	----

<b>Relatórios não devolvidos</b>	2
----------------------------------	---

<b>Relatório devolvido – "amostra não analisada"</b>	2
--	---

\* Desvio padrão (DP) robusto baseado na mediana dos desvios absolutos relativamente à mediana dos participantes (MAD).

# V0135 - V.cholerae Results



## **Comentários gerais**

### **Avaliação estatística**

Relembrem-se os participantes que para efetuar uma avaliação estatística robusta é necessário que haja pelo menos 20 resultados reportados para um determinado parâmetro. Quando os cálculos estatísticos se baseiam em 10 a 19 resultados, a interpretação deve ser efetuada cuidadosamente, uma vez que podem ser excessivamente influenciados por resultados fora da amplitude esperada. Quando há menos do que 10 resultados reportados, a avaliação estatística não é considerada suficientemente robusta. Este é o motivo pelo qual o desvio padrão dos resultados das contagens reportadas é elevado.



## Resolução de Problemas

### “Checklist” para Garantia da Qualidade

#### 1. Métodos

*Utiliza métodos normalizados ou validados, claramente documentados para pesquisa, identificação e contagem?*

#### 2. Meios de cultura

*Os meios de cultura que utiliza permitem um ótimo isolamento dos microrganismos alvo? Tem implementados procedimentos de controlo de qualidade?*

#### 3. Equipamento

*O equipamento utilizado (estufas, frigoríficos, instrumentos de medição, etc.) está calibrado e é monitorizado regularmente?*

#### 4. Equipa / Pessoal

*Todo o pessoal do laboratório está habilitado e familiarizado com todos os procedimentos?*

#### 5. Controlo Interno de Qualidade (CIQ)

*Tem implementados procedimentos adequados para CIQ, assim como linhas de orientação documentadas para tratamento de não conformidades?*

#### 6. Boas Práticas de Laboratório (BPL)

*Todo o pessoal adere de uma forma sistemática às BPL?*

*Se ocorrer contaminação cruzada com amostras de Avaliação Externa da Qualidade (AEQ), o mesmo pode acontecer com as amostras de rotina.*

#### 7. Procedimentos administrativos

*Os procedimentos de numeração e de escrita do seu laboratório são adequados?*

*Se reportar incorretamente resultados AEQ, o mesmo pode acontecer nas amostras de rotina.*

### Resultados Falsos Positivos

Os resultados falsos positivos podem ser devidos a contaminação cruzada (a partir de outras amostras ou estirpes de controlo), má identificação de microrganismos presentes na amostra ou erros no registo de resultados. Este tipo de resultados pode originar uma desnecessária eliminação do produto com sérias implicações financeiras.

### Resultados Falsos Negativos

Existem inúmeras causas para os resultados falsos negativos incluindo falhas do equipamento ou meios de cultura, métodos insuficientemente sensíveis, má identificação de microrganismos na amostra, equipa técnica inadequadamente treinada ou erros no registo de resultados. Este tipo de resultados pode ter sérias implicações em saúde pública.

### Contagens – Resultados fora da amplitude esperada (AE)

Os resultados fora da amplitude esperada podem ser devidos a problemas com meios de cultura ou condições de incubação, erros na preparação de diluições, amostra reconstituída mantida à temperatura ambiente por um período de tempo superior ao recomendado, erros na contagem de colónias, no cálculo, ou no registo de resultados. Aconselham-se os participantes a investigar as causas destes resultados incorretos, particularmente se estes ocorrerem repetidamente. Tais resultados podem originar uma apreciação errada do alimento sob o ponto de vista microbiológico.

### Amostras de Repetição

Os participantes devem, sempre que possível, determinar a(s) causa(s) dos resultados falsos positivos ou falsos negativos e dos resultados fora da AE e solicitar amostras de repetição de forma a garantir que a causa do erro foi eliminada. As amostras de repetição são livres de encargos e serão enviadas na distribuição seguinte à receção do pedido. Se forem pedidas para envio imediato, terão custos de expedição.

### Aconselhamento e Comentários

Os organizadores do Programa estão disponíveis para ajudar na resolução de questões relacionadas com a análise microbiológica de amostras de alimentos. Quaisquer comentários devem ser dirigidos aos organizadores.

### Fim do relatório