



# RELATÓRIO

## ENVIRONMENTAL SWAB SCHEME

### DISTRIBUIÇÃO Nº ES6 AMOSTRAS ES0011 e ES0012

Data do ensaio:	fevereiro 2017
Data limite de envio de resultados:	16 de março de 2017
Data do relatório:	05 de abril de 2017
Preparação de amostras e controlo da qualidade	Angela Appea, Thomas Harper, Zak Prior, Judith Spellar, Aneta Stranc e Lili Tsegaye
Dados analisados / Relatório elaborado:	Manchari Rajkumar, Joanna Donn 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  
Telef.: 21 7519230  
Fax 21 7526470  
e-mail: Cristina.Belo@insa.min-saude.pt

Lab. Microbiologia dos Alimentos  
Rua Alexandre Herculano, 321  
4000-055 Porto  
Telef.: 22 3401132/33/00  
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.min-saude.pt/microbiologia-dos-alimentos/> “Documentos para *Download*”.

Caso necessite de informação específica sobre avaliação de desempenho, sistema de pontuação, estatística, etc, consulte o documento “**Guide to Scoring Systems and Statistics used for the PHE Proficiency Testing Schemes for Food and Water Microbiology**”, também disponível em <http://www.insa.min-saude.pt/microbiologia-dos-alimentos/> “Documentos para *Download*”.

### **z-scores – Orientações gerais**

Os resultados das contagens dos participantes são convertidos em z-scores, utilizando a seguinte fórmula:

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

x = resultado do laboratório participante (valor expresso em log<sub>10</sub>)  
X = valor alvo (mediana de consenso dos resultados dos participantes - valor expresso em log<sub>10</sub>)  
σ = desvio padrão estabelecido para o ensaio (calculado pelo FEPTU)

O valor σ expressa a diferença aceitável entre o resultado individual do laboratório participante e a mediana de consenso dos resultados dos participantes. No *Environmental Swab Scheme*, o valor σ utilizado para calcular os z-scores para todos os parâmetros é **0,35**. Embora os participantes devam interpretar os seus z-scores no contexto do seu laboratório, estes podem ser interpretados da seguinte forma:

z = -1,99 a +1,99	<b>satisfatório</b>
z = -2 a -2,99 ou +2 a +2,99	<b>questionável</b>
z = <-3,00 ou >+3,00	<b>não satisfatório</b>

De uma forma geral, recomenda-se que os z-scores que ultrapassem o valor ± 2,0 sejam investigados de forma a esclarecer a causa provável. A PHE recomenda que todos os resultados questionáveis ou não satisfatórios sejam investigados.

**Controlo da Qualidade FEPTU:** Para evidenciar a homogeneidade da amostra são selecionadas aleatoriamente do lote um mínimo de 10 LENTICULE<sup>®</sup> e analisadas em duplicado, para os parâmetros que requerem quantificação; para a deteção dos patogénicos em causa são examinadas 10 LENTICULE<sup>®</sup>.

Para evidenciar a estabilidade da amostra são selecionadas aleatoriamente do lote um mínimo de 9 LENTICULE<sup>®</sup> e analisadas ao longo do período de distribuição, para quantificação ou para deteção de patogénicos.

Os resultados obtidos nos ensaios de controlo de qualidade do Laboratório da FEPTU são determinados utilizando métodos da *Public Health England: Detection and Enumeration of Bacteria in Swabs and other Environmental Samples. Method E1; Version 2*. Estes resultados 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 6.

### **Contactos**

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

Cristina Belo Correia - Telef.: 21 7519230

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

Isabel Campos Cunha – Telef.: 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 *Environmental Swab 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 ES0011

**Tipo de amostra:** Esfregação efetuado em área aleatória no interior de uma misturadora utilizada para fazer o patê.

**Descrição do surto:** Depois de terem participado num casamento no fim de semana, a partir da 2ª feira seguinte (20 de fevereiro de 2017), dez pessoas comunicaram à mesma Autoridade de Saúde Local terem ficado doentes com uma sintomatologia que incluía dores de estômago, diarreia e vômitos. O evento incluiu um catering com refeições servidas à tarde e à noite. Na sequência de uma entrevista com um Técnico de Saúde Ambiental, identificou-se que algumas das pessoas referiram que o patê de fígado de frango parecia ter uma cor muito rosada, sugestiva de cozedura insuficiente.

**Exames pedidos:** Examine a amostra de acordo com o protocolo de rotina do seu laboratório para **pesquisa de patogénicos**, com base no cenário do surto descrito.

**Conteúdo da amostra:** *Campylobacter coli* (25) (estirpe “selvagem”), *Enterococcus faecium* (6,4X10<sup>3</sup>) (estirpe “selvagem”) e *Listeria ivanovii* (1,2X10<sup>2</sup>) (estirpe “selvagem”).

### Resultados esperados:

Ensaios	Resultado esperado	Resultado do laboratório	PHE score para Avaliação do Desempenho	z-score
<i>Listeria monocytogenes</i>	Não detetada			
<i>Salmonella</i> spp.	Não detetada			
<i>Campylobacter</i> spp.	Detetado			
<i>Escherichia coli</i> O157	Não detetada			

NE - Não examinado; NA – Não aplicável

### Comentários do Desempenho:

<i>Listeria monocytogenes</i>	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Listeria monocytogenes</i>	23
Participantes que enviaram corretamente a <b>ausência</b>	21 (91%)

<i>Salmonella</i> spp.	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Salmonella</i> spp.	28
Participantes que enviaram corretamente a <b>ausência</b>	27 (96%)

<i>Campylobacter</i> spp.	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Campylobacter</i> spp.	15
Participantes que enviaram corretamente a <b>presença</b>	13 (97%)

<i>E. coli</i> O157	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>E. coli</i> O157	9
Participantes que enviaram corretamente a <b>ausência</b>	9 (100%)

<b>Total de amostras enviadas</b>	35
<b>Relatório devolvido – “amostra não analisada”</b>	6
<b>Relatórios não devolvidos</b>	1

## Amostra ES0012

**Tipo de amostra:** Esfregaço efetuado em área aleatória numa superfície de corte da cozinha de produção central onde os alimentos foram confeccionados.

**Descrição do surto:** Quinze pacientes de um hospital queixaram-se de indisposição, com febre e gastroenterite. Uma investigação aos alimentos consumidos nas últimas 24 horas identificou que a maioria dos doentes tinha ingerido uma sande pré-embalada contendo camarões. Uma inspeção identificou que ocorreu um atraso na distribuição das sandes aos pacientes e que estas permaneceram à temperatura ambiente no carrinho de serviço, durante um longo período de tempo antes de serem distribuídas aos pacientes.

**Exames pedidos:** Examine a amostra de acordo com o protocolo de rotina do seu laboratório para **pesquisa de patogénicos**, com base no cenário do surto descrito.

**Conteúdo da amostra:** *Listeria monocytogenes* ( $4,5 \times 10^2$ ) (estirpe “selvagem”), *Enterobacter cloacae* ( $8,5 \times 10^3$ ) (estirpe “selvagem”), *Enterococcus durans* ( $4,9 \times 10^3$ ) (estirpe “selvagem”) e *Staphylococcus aureus* ( $9,1 \times 10^2$ ) (estirpe “selvagem”).

### Resultados esperados:

Ensaio	Resultado esperado	Resultado do laboratório	PHE score para Avaliação do Desempenho	z-score
<i>Listeria monocytogenes</i>	Detetada			
<i>Salmonella</i> spp.	Não detetada			
<i>Campylobacter</i> spp.	Não detetado			
<i>Escherichia coli</i> O157	Não detetada			

NE - Não examinado; NA – Não aplicável

### Comentários do Desempenho:

<i>Listeria monocytogenes</i>	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Listeria monocytogenes</i>	25
Participantes que enviaram corretamente a <b>presença</b>	25 (100%)

<i>Salmonella</i> spp.	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Salmonella</i> spp.	27
Participantes que enviaram corretamente a <b>ausência</b>	26 (96%)

<i>Campylobacter</i> spp.	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Campylobacter</i> spp.	7
Participantes que enviaram corretamente a <b>ausência</b>	7 (100%)

<i>E. coli</i> O157	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>E. coli</i> O157	6
Participantes que enviaram corretamente a <b>ausência</b>	6 (100%)

Total de amostras enviadas	35
Relatório devolvido – “amostra não analisada”	5
Relatórios não devolvidos	1

## Comentários específicos

### Amostra ES0011

Esta amostra foi analisada por **28** laboratórios. O patogénico presente nesta amostra era o *Campylobacter coli*.

Na tabela seguinte encontram-se os ensaios adicionais realizados pelos participantes assim como os resultados reportados:

Ensaio adicional	Nº de laboratórios que efetuaram os ensaios	Resultados reportados
<i>Bacillus cereus</i>	1	Não detetado
<i>Clostridium perfringens</i>	2	Não detetado
Estafilococos coagulase-positiva	8	Não detetado
<i>Cronobacter sakazakii</i>	1	Não detetado

**46% (13/28)** dos laboratórios participantes não enviaram resultados para *Campylobacter* spp., o patogénico alvo desta amostra. A estes laboratórios foi atribuída a pontuação “0”.

Têm ocorrido, recentemente, surtos de toxinfecções alimentares por *Campylobacter* frequentemente associados ao consumo de fígado de aves, principalmente devido a uma cozedura insuficiente da carne<sup>6</sup>, no Reino Unido<sup>1,2,3</sup> e em outros países, nomeadamente Austrália<sup>4</sup> e Estados Unidos<sup>5</sup>,

Poderá consultar informação adicional sobre *Campylobacter* no website da *European Food Safety Authority* (EFSA), em <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/campylobacter>

No decurso do isolamento de *Campylobacter* a partir de esfregaços, a FEPTU considera que os participantes devem ter em atenção que há limitações na utilização do meio de enriquecimento Bolton quando não é adicionada uma matriz alimentar sólida.

Caso o seu laboratório não examine por rotina determinado patogénico que potencialmente possa estar implicado num surto, deverá reportar o resultado como “Não examinado” para esse patogénico.

1. Wensley A, Coole L. Cohort study of a dual-pathogen point source outbreak associated with the consumption of chicken liver pate, UK, October 2009. *Journal of Public Health* 2013; 35:585-589
2. Inns T, Foster K, Gorton R. Cohort study of a campylobacteriosis outbreak associated with chicken liver parfait, United Kingdom, June 2010. *Eurosurveillance* 2010; 15
3. Edwards DS, et al. Campylobacteriosis outbreak associated with consumption of undercooked chicken liver pate in the East of England, September 2011: identification of a dose-response risk. *Epidemiology and Infection* 2014; 142:352-357
4. Parry A, Fearnley E, Denehy E. 'Surprise': Outbreak of campylobacter infection associated with chicken liver pâté at a surprise birthday party, Adelaide, Australia, 2012. 2012 3:16-19
5. Tompkins BJ, et al. Multistate outbreak of *Campylobacter jejuni* infections associated with undercooked chicken livers – Northeastern United States, 2012. *CDC Morbidity and Mortality Weekly Report*; 62:44
6. Whyte R, Hudson JA, Graham C. Campylobacter in chicken livers and their destruction by pan frying. *Letters in Applied Microbiology* 2006; 43:591-595

### Amostra ES0012

Esta amostra foi analisada por **29** laboratórios. O patogénico presente nesta amostra era a *Listeria monocytogenes*. A amostra continha também um nível baixo de *Staphylococcus aureus* ( $9,1 \times 10^2$ ).

Na tabela seguinte encontram-se os ensaios adicionais realizados pelos participantes assim como os resultados reportados:

Ensaio adicional	Nº de laboratórios que efetuaram os ensaios	Resultados reportados
<i>Bacillus cereus</i>	3	Não detetado
<i>Clostridium perfringens</i>	2	Não detetado
Estafilococos coagulase-positiva	11	Detetado
<i>Cronobacter sakazakii</i>	1	Detetado
<i>Vibrio cholerae</i>	2	Não detetado (1) Não examinado (1)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	3	Não detetado (2) Não examinado (1)

Informam-se os participantes que a partir de abril de 2017, as amostras simuladas de esfregaços das distribuições onde são fornecidos detalhes de cenários dos surtos, incluirão a quantificação de patogénicos. Com base no cenário fornecido para o surto, será necessário que os participantes decidam qual o patogénico que deverá ser investigado. Podem ser reportados até 4 resultados, que serão analisados e aos quais será atribuído um *score* e evidenciado no relatório.

## 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