



RELATÓRIO

ENVIRONMENTAL SWAB SCHEME

DISTRIBUIÇÃO Nº ES7 AMOSTRAS ES0013 e ES0014

Data do ensaio:	abril 2017
Data limite de envio de resultados:	04 de maio de 2017
Data do relatório:	19 de maio de 2017
Preparação de amostras e controlo da qualidade	Angela Appea, Richard Borrill, Thomas Harper, Zak Prior, Judith Spellar, Aneta Stranc e Lili Tsegaye
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 ^a Isabel Santos e M ^a 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 de Alimentos
Av. Padre Cruz
1649-016 Lisboa
Telef.: 21 7519230
Fax 21 7526470
e-mail: Cristina.Belo@insa.min-saude.pt

Lab. Microbiologia de 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 log₁₀)
X = valor alvo (mediana de consenso dos resultados dos participantes - valor expresso em log₁₀)
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 **satisfatório**
z = -2 a -2,99 ou +2 a +2,99 **questionável**
z = <-3,00 ou >+3,00 **não satisfatório**

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® e analisadas em duplicado, para os parâmetros que requerem quantificação; para a deteção dos patogénicos em causa são examinadas 10 LENTICULE®.

Para evidenciar a estabilidade da amostra são selecionadas aleatoriamente do lote um mínimo de 9 LENTICULE® 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 12.

Contactos

INSA Dr. Ricardo Jorge

Cristina Belo Correia - Telef.: 21 7519230

e-mail 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; 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 ES0013

Tipo de amostra: Esfregão efetuado em área delimitada (10cm x 10cm).

Exames pedidos: Examine as amostras de acordo com o protocolo de rotina do seu laboratório, para **microrganismos indicadores de higiene**.

Conteúdo da amostra: *Enterobacter aerogenes* ($1,4 \times 10^2$ ufc / cm²) (estirpe "selvagem"), *Escherichia coli* (14 ufc / cm²) (estirpe "selvagem"), *Lactococcus lactis* ($3,0 \times 10^3$ ufc / cm²) (estirpe "selvagem") e *Staphylococcus epidermidis* ($1,5 \times 10^3$ ufc / cm²) (estirpe "selvagem").

Resultados esperados:

Ensaio	Resultado esperado	Resultado do laboratório	PHE score para Avaliação do Desempenho	z-score
Contagem de aeróbios mesófilos (30 °C)	$1,3 \times 10^3 - 1,5 \times 10^4$ ufc/cm ²			
<i>Enterobacteriaceae</i>	$7 - 1,4 \times 10^3$ ufc/cm ²			
<i>Escherichia coli</i>	$2 - 4,6 \times 10^2$ ufc/cm ²			

NE - Não examinado; N/A – Não aplicável

Comentários do Desempenho:

Contagem de aeróbios mesófilos (30 °C)	
Total de participantes que enviaram resultados para Germes aeróbios mesófilos	61
Participantes que enviaram resultados altos não mensuráveis	2
Valor alvo (mediana dos resultados dos participantes)	$4,3 \times 10^3$ ufc / cm ² (3,63 log ₁₀)
Incerteza do valor alvo ($U_x = \log_{10}$ ufc/cm ²)	0,04
Nº de contagens fora da amplitude esperada (AE)	19 (10 < AE / 9 > AE)
Média dos resultados dos participantes	$4,2 \times 10^3$ ufc / cm ² (3,62 log ₁₀)
*Desvio padrão dos resultados dos participantes	0,27 log ₁₀ ufc / cm ²
Mediana dos resultados do CQ da FEPTU	$4,6 \times 10^3$ ufc / cm ² (3,66 log ₁₀)

<i>Enterobacteriaceae</i>	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Enterobacteriaceae</i>	55
Participantes que enviaram resultados baixos não mensuráveis	1
Valor alvo (mediana dos resultados dos participantes)	97 ufc / cm ² (1,99 log ₁₀)
Incerteza do valor alvo ($U_x = \log_{10}$ ufc/cm ²)	0,09
Nº de contagens fora da amplitude esperada (AE)	7 (4 < AE / 3 > AE)
Média dos resultados dos participantes	92 ufc / cm ² (1,96 log ₁₀)
*Desvio padrão dos resultados dos participantes	0,57 log ₁₀ ufc / cm ²
Mediana dos resultados do CQ da FEPTU	$1,5 \times 10^2$ ufc / cm ² (2,18 log ₁₀)

<i>Escherichia coli</i>	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Escherichia coli</i>	58
Participantes que enviaram resultados baixos não mensuráveis	1
Participantes que enviaram resultados altos não mensuráveis	1
Valor alvo (mediana dos resultados dos participantes)	30 ufc / cm ² (1,48 log ₁₀)
Incerteza do valor alvo (Ux = log ₁₀ ufc/cm ²)	0,09
Nº de contagens fora da amplitude esperada (AE)	11 (5<AE / 6>AE)
Média dos resultados dos participantes	27 ufc / cm ² (1,44 log ₁₀)
*Desvio padrão dos resultados dos participantes	0,59 log ₁₀ ufc / cm ²
Mediana dos resultados do CQ da FEPTU	14 ufc / cm ² (1,15 log ₁₀)

Total de amostras enviadas	68
Relatório devolvido – “amostra não analisada”	3
Relatórios não devolvidos	4

* Desvio padrão (DP) robusto baseado na mediana dos desvios absolutos relativamente à mediana dos participantes (MAD).
O valor do desvio padrão estabelecido (σ) utilizado para cálculo dos z-scores em todos os parâmetros é **0,35**.

Amostra ES0014

Tipo de amostra: Esfregação efetuado em área aleatória.

Exames pedidos: Examine as amostras de acordo com o protocolo de rotina do seu laboratório, para **microrganismos indicadores de higiene**.

Conteúdo da amostra: *Escherichia coli* ($4,8 \times 10^3$ ufc / esfregação) (estirpe "selvagem"), *Clostridium sporogenes* ($8,8 \times 10^2$ ufc / esfregação) (estirpe "selvagem"), *Micrococcus luteus* ($3,1 \times 10^5$ ufc / esfregação) (estirpe "selvagem") e *Pseudomonas aeruginosa* ($1,5 \times 10^3$ ufc / esfregação) (estirpe "selvagem").

Resultados esperados:

Ensaio	Resultado esperado	Resultado do laboratório	PHE score para Avaliação do Desempenho	z-score
Contagem de aeróbios mesófilos (30 °C)	$3,0 \times 10^4 - 6,7 \times 10^5$ ufc / esfregação			
<i>Enterobacteriaceae</i>	$5,4 \times 10^2 - 4,5 \times 10^4$ ufc / esfregação			
<i>Escherichia coli</i>	$1,7 \times 10^2 - 8,4 \times 10^4$ ufc / esfregação			

NE - Não examinado; N/A – Não aplicável

Comentários do Desempenho:

Contagem de aeróbios mesófilos (30 °C)	
Total de participantes que enviaram resultados para Germes aeróbios mesófilos	58
Participantes que enviaram resultados altos não mensuráveis	3
Valor alvo (mediana dos resultados dos participantes)	$1,4 \times 10^5$ ufc / esfregação (5,15 log ₁₀)
Incerteza do valor alvo ($U_x = \log_{10}$ ufc/esfregação)	0,05
Nº de contagens fora da amplitude esperada (AE)	18 (15 < AE / 3 > AE)
Média dos resultados dos participantes	$1,2 \times 10^5$ ufc / esfregação (5,09 log ₁₀)
*Desvio padrão dos resultados dos participantes	0,34 log ₁₀ ufc / esfregação
Mediana dos resultados do CQ da FEPTU	$3,2 \times 10^5$ ufc / esfregação (5,51 log ₁₀)

<i>Enterobacteriaceae</i>	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Enterobacteriaceae</i>	53
Participantes que enviaram resultados altos não mensuráveis	1
Valor alvo (mediana dos resultados dos participantes)	$4,9 \times 10^3$ ufc / esfregação (3,69 log ₁₀)
Incerteza do valor alvo ($U_x = \log_{10}$ ufc/esfregação)	0,08
Nº de contagens fora da amplitude esperada (AE)	9 (9 < AE / 0 > AE)
Média dos resultados dos participantes	$3,6 \times 10^3$ ufc / esfregação (3,55 log ₁₀)
*Desvio padrão dos resultados dos participantes	0,48 log ₁₀ ufc / esfregação
Mediana dos resultados do CQ da FEPTU	$7,0 \times 10^3$ ufc / esfregação (3,85 log ₁₀)

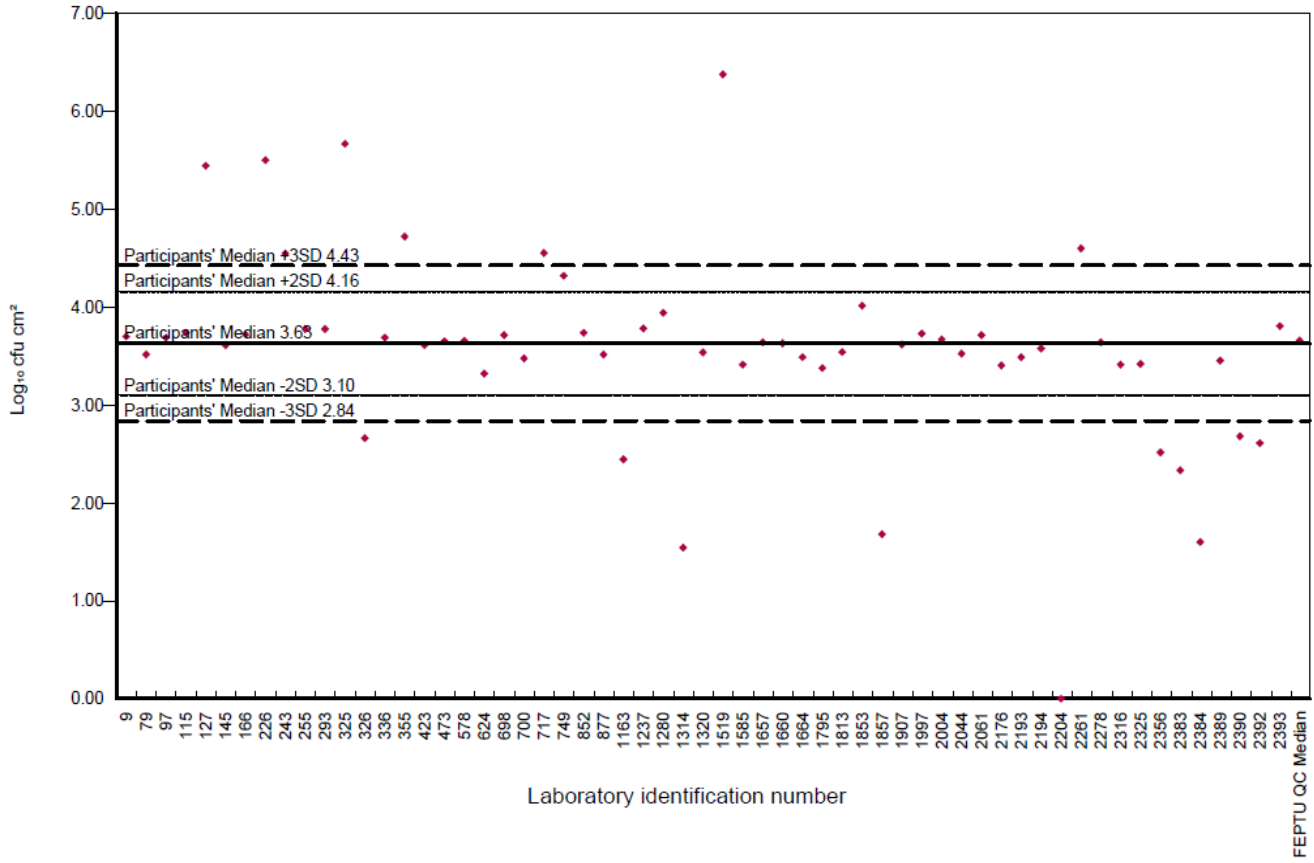
<i>Escherichia coli</i>	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Escherichia coli</i>	56
Participantes que enviaram resultados altos não mensuráveis	1
Valor alvo (mediana dos resultados dos participantes)	3,8x10 ³ ufc / esfregaço (3,58 log ₁₀)
Incerteza do valor alvo (Ux = log ₁₀ ufc/cm ²)	0,11
Nº de contagens fora da amplitude esperada (AE)	8 (7<AE / 1>AE)
Média dos resultados dos participantes	2,8x10 ³ ufc / esfregaço (3,44 log ₁₀)
*Desvio padrão dos resultados dos participantes	0,67 log ₁₀ ufc / esfregaço
Mediana dos resultados do CQ da FEPTU	4,8x10 ³ ufc / esfregaço (3,68 log ₁₀)

Total de amostras enviadas	68
Relatório devolvido – “amostra não analisada”	5
Relatórios não devolvidos	4

* Desvio padrão (DP) robusto baseado na mediana dos desvios absolutos relativamente à mediana dos participantes (MAD).
O valor do desvio padrão estabelecido (σ) utilizado para cálculo dos z-scores em todos os parâmetros é **0,35**.

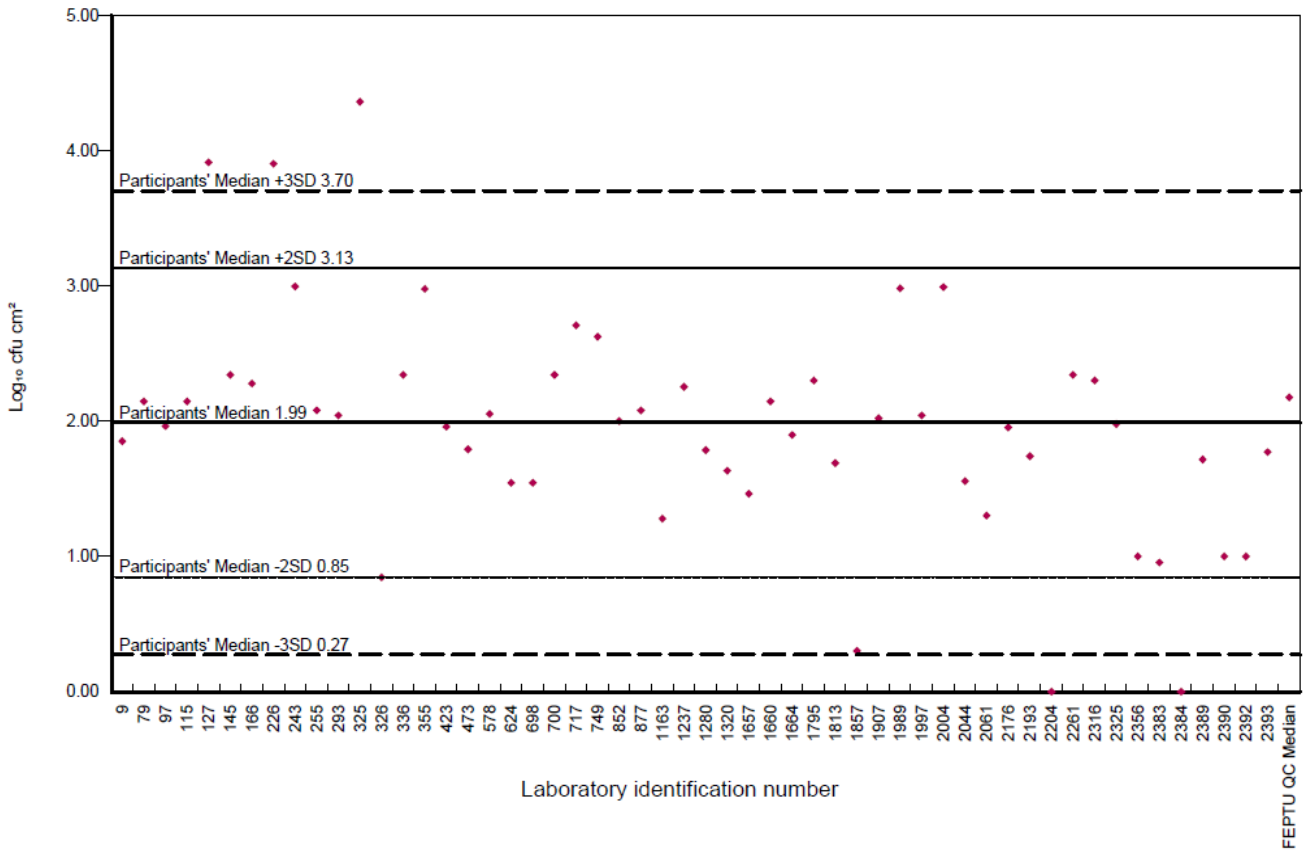
ES0013 - Aerobic Colony Count (30°C)

Key: ♦ Reported result



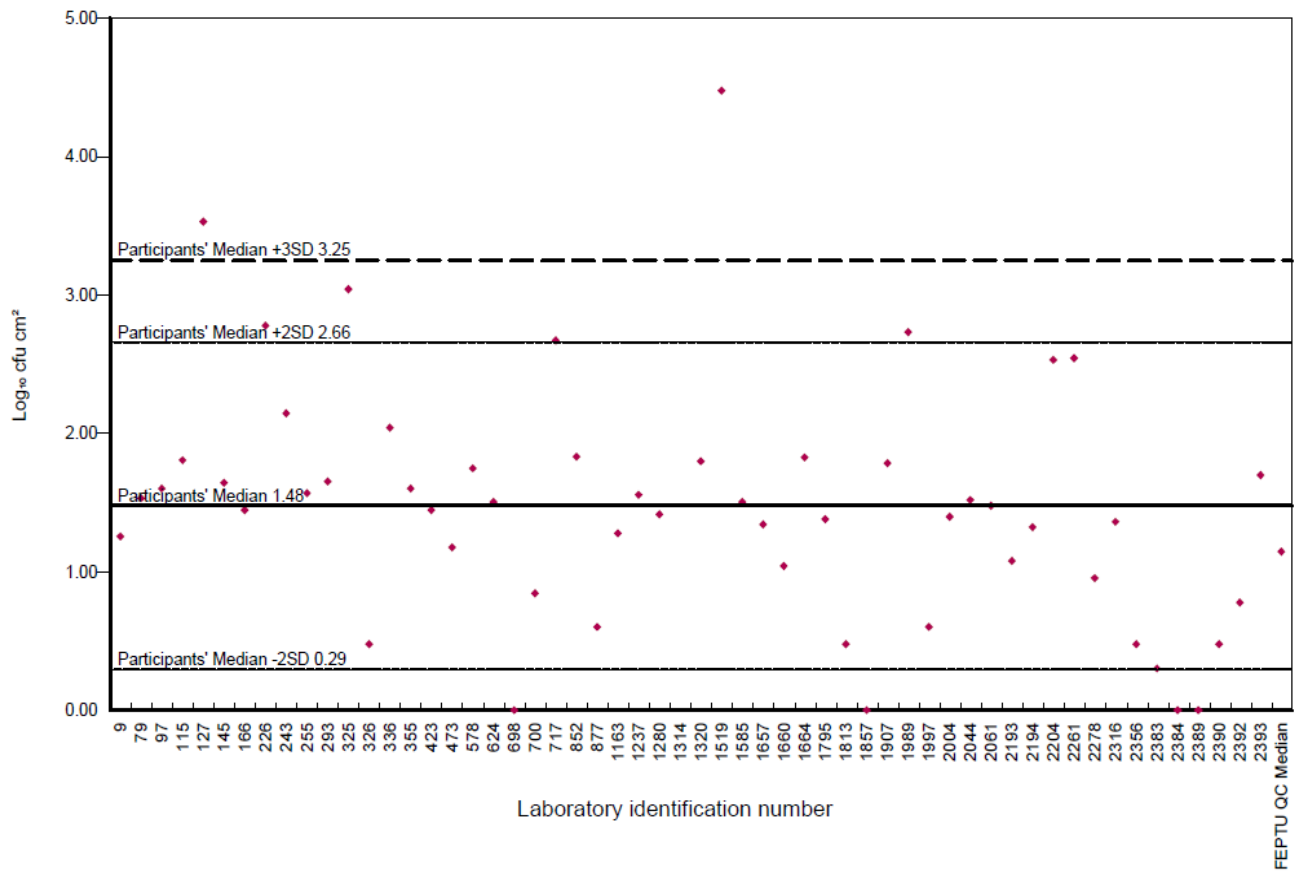
ES0013 - Enterobacteriaceae

Key: ♦ Reported result



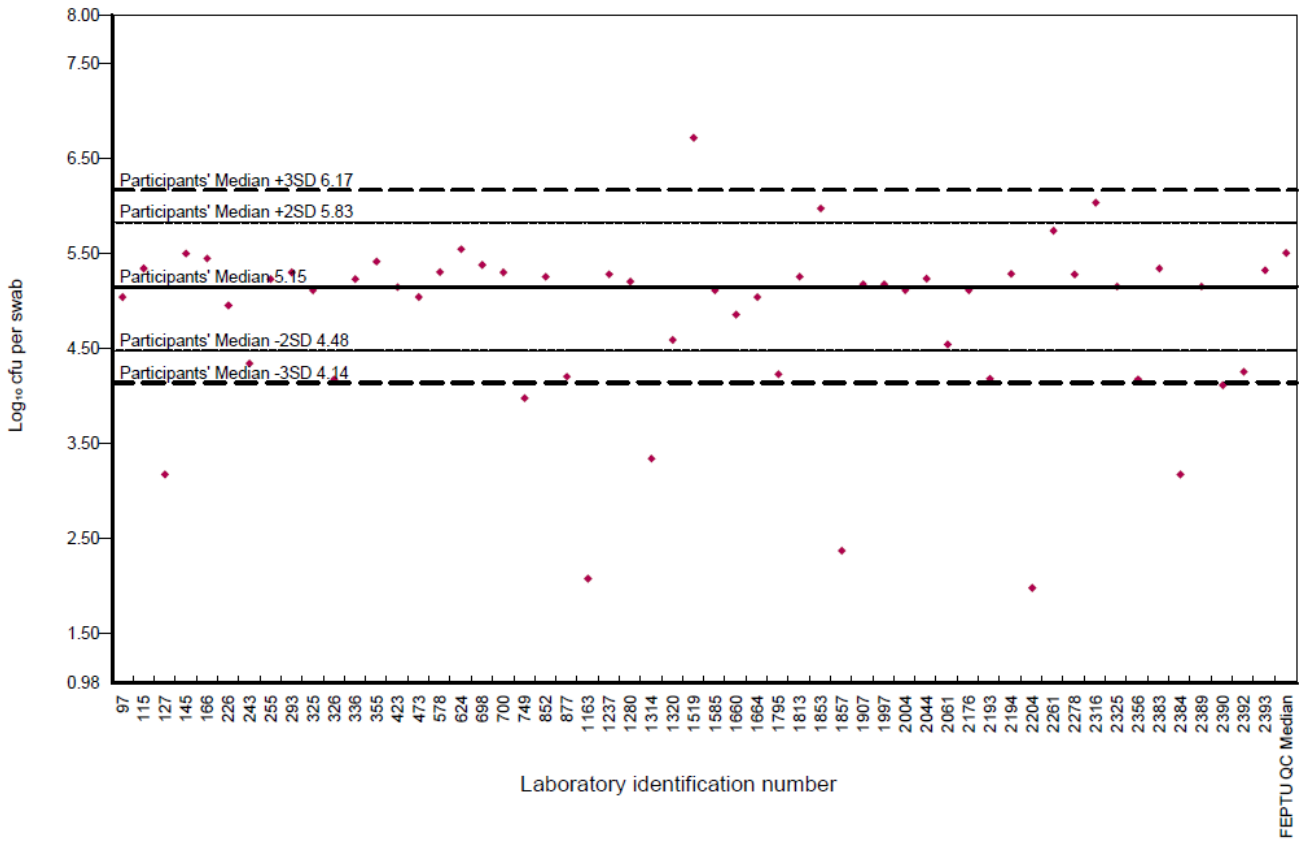
ES0013 - *Escherichia coli*

Key: ♦ Reported result



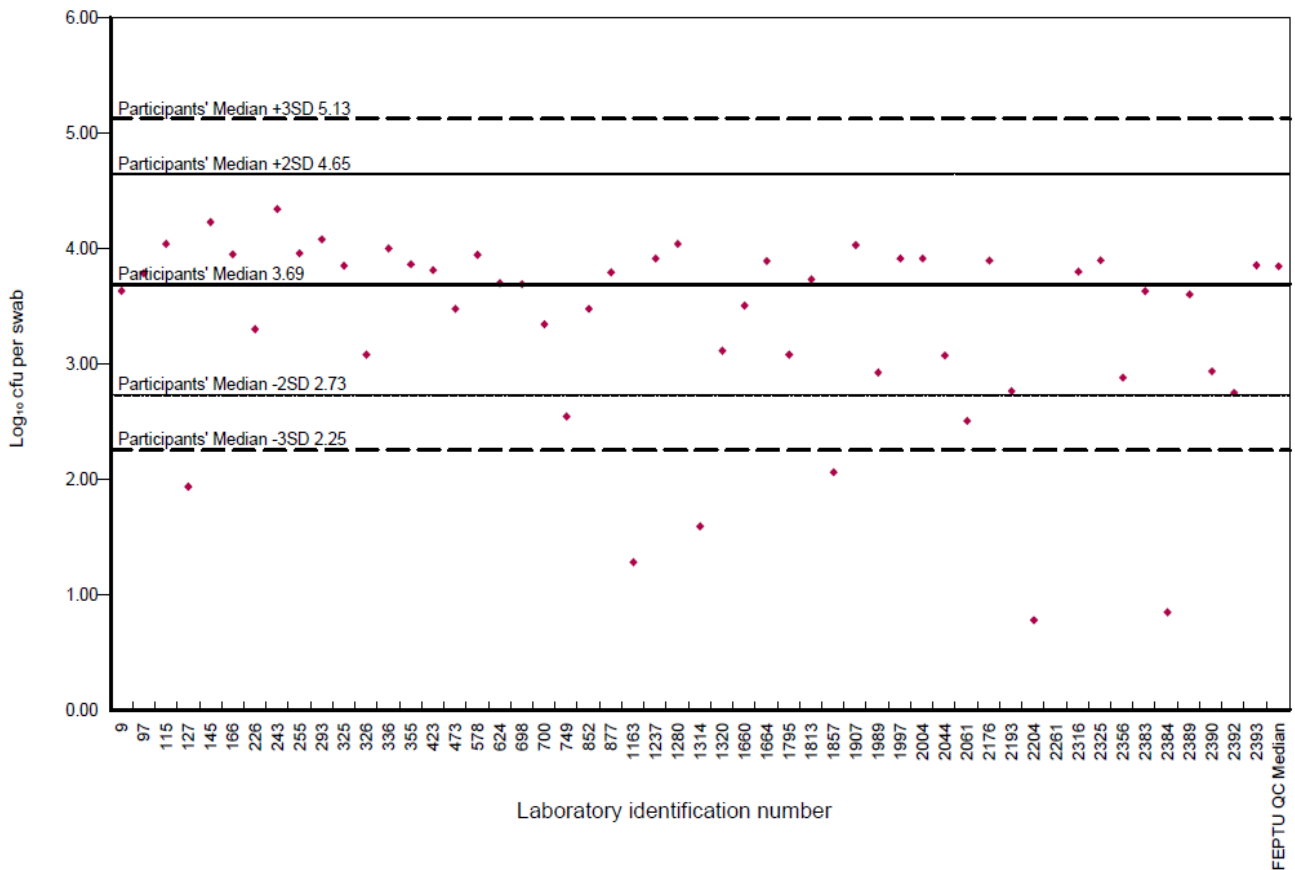
ES0014 - Aerobic Colony Count (30°C)

Key: ♦ Reported result



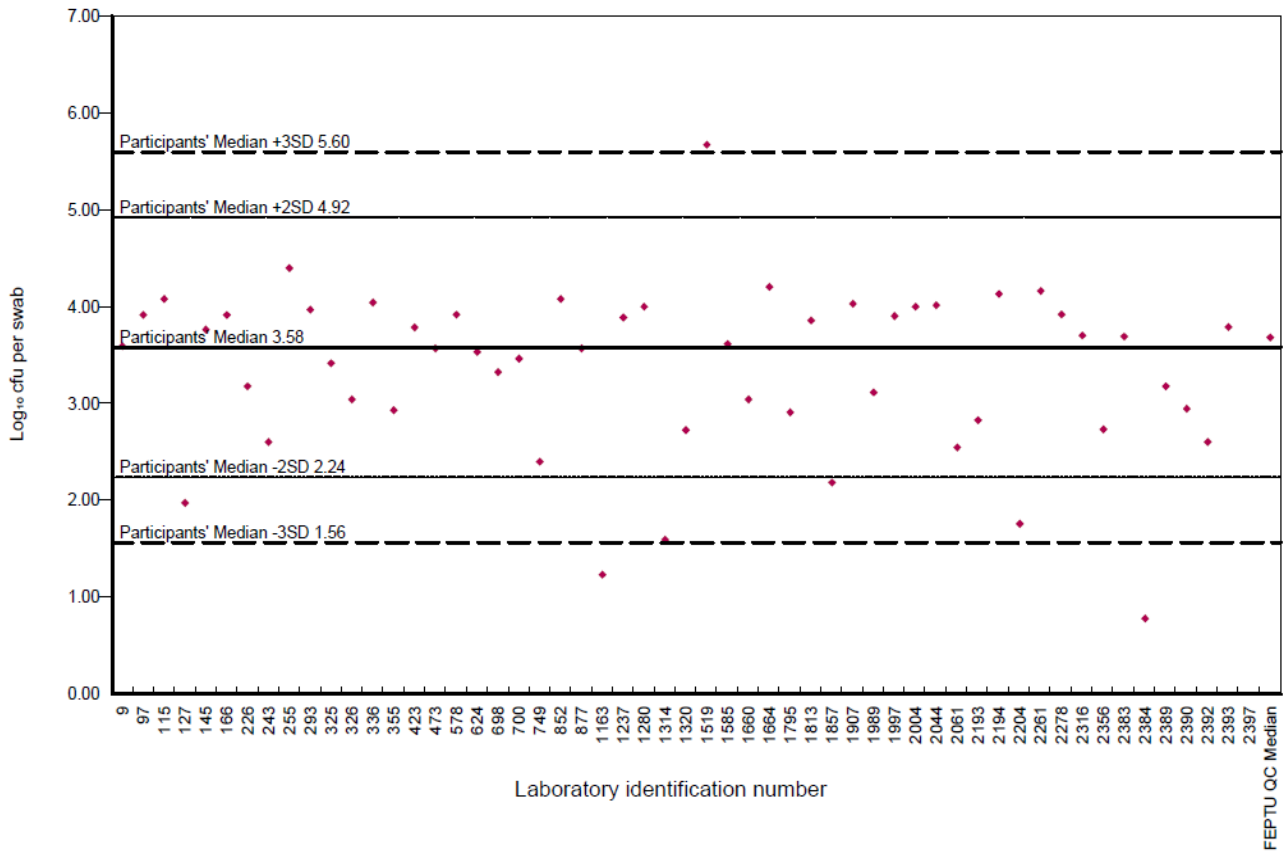
ES0014 - Enterobacteriaceae

Key: ♦ Reported result



ES0014 - *Escherichia coli*

Key: ♦ Reported result



Comentários gerais da distribuição

Amostra ES0013

Sete laboratórios participantes efetuaram ensaios adicionais para esta amostra, nomeadamente para coliformes (4), *Staphylococcus aureus* (1), estafilococos coagulase positiva (1) e *Listeria* spp. (1).

Amostra ES0014

Oito laboratórios participantes efetuaram ensaios adicionais para esta amostra, nomeadamente para coliformes (4), e *Pseudomonas* spp. (4).

Comentários específicos das amostras

Amostra ES0013 - Contagem de aeróbios mesófilos (CAM)

19/61 (31%) laboratórios participantes reportaram resultados de contagens fora da Amplitude Esperada (AE) para CAM.

Amostra ES0014 - Contagem de aeróbios mesófilos (CAM)

18/58 (31%) laboratórios participantes reportaram resultados de contagens fora da AE para CAM.

Oito destes laboratórios reportaram uma contagem de CAM fora da AE em ambas as amostras.

Não foi atribuída pontuação a este parâmetro, em ambas as amostras, dado que menos de 80% dos resultados se encontravam dentro da AE (de acordo com o “*Guide to Scoring Systems and Statistics used for the PHE Proficiency Testing Schemes for Food and Water Microbiology*”, disponível em <http://www.insa.min-saude.pt/microbiologia-dos-alimentos/> “Documentos para Download”).

Numa análise complementar dos resultados de CAM, é evidente que uma grande parte dos resultados reportados pelos laboratórios participantes se encontram alinhados e próximos do valor da mediana dos resultados, indicando que os níveis são consistentes. Os participantes que reportaram um resultado fora da AE são aconselhados a rever os procedimentos e os cálculos.

Na sequência dos resultados obtidos nesta distribuição para CAM, e de acordo com a opinião do consultor Nick Andrews, estatístico da PHE, foram reavaliados os critérios de pontuação. De futuro será atribuída uma pontuação aos ensaios de quantificação, mesmo que menos de 80% dos resultados dos laboratórios se encontrem dentro da AE, desde que os resultados reportados dentro da amplitude esperada estejam consistentemente bem alinhados com a mediana dos resultados dos participantes. De modo a refletir esta mudança será efetuada uma alteração ao documento “*Guide to Scoring Systems and Statistics used for the PHE Proficiency Testing Schemes for Food and Water Microbiology*”.

Procedimento e cálculos da FEPTU - exemplo para orientação

Após a reidratação, o conteúdo da Lenticula (LENTICULE®) é absorvido pela esponja que é colocada na embalagem que contém 10 ml de tampão neutralizante e adiciona-se 90 ml de meio de cultura. Uma vez que o esfregaço inicial se encontra humedecido em 10 ml de tampão neutralizante, obtém-se um volume total de 100 ml e uma diluição de 10^{-2} . Inoculam-se 50µl em *Plate Count Agar* por espalhamento em espiral e incuba-se a 30 °C durante 72 horas.

Após incubação, o número de colónias contadas na totalidade da placa foi 129. Assim, 1 ml corresponde a uma contagem de $2,6 \times 10^3$ por cm^2 .

Para um esfregaço efetuado em área aleatória é necessário multiplicar este resultado por 100, obtendo-se uma contagem final de $2,6 \times 10^5$ por esfregaço.

É importante que os participantes se baseiem em métodos publicados, tal como a norma “ISO 18593: 2004 - *Microbiology of Food and animal feeding stuffs – Horizontal methods for sampling techniques from surfaces using contact plates and swabs*”.

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