



RELATÓRIO

ENVIRONMENTAL SWAB SCHEME

DISTRIBUIÇÃO Nº ES8 AMOSTRAS ES0015 e ES0016

Data do ensaio:	julho 2017
Data limite de envio de resultados:	24 de agosto de 2017
Data do relatório:	15 de setembro 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 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

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:

$$Z = \frac{(X_i - X_{pt})}{\sigma_{pt}}$$

X_i = resultado do laboratório participante (valor expresso em \log_{10})
 X_{pt} = valor alvo (mediana de consenso dos resultados dos participantes - valor expresso em \log_{10})
 σ_{pt} = desvio padrão estabelecido para o ensaio (determinado pelo FEPTU)

O valor σ_{pt} 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_{pt} 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 $\pm 2,0$ 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 7.

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 ES0015

Tipo de amostra: Esfregação efetuado numa jarra em vidro vazia, não lavada, que conteve *chutney* de coco preparado a partir de coco desidratado, folhas cruas de caril e outras especiarias secas.

Descrição do surto: Na 2ª feira 31 de julho de 2017, pelo menos 28 elementos do público de um festival gastronómico realizado ao ar livre, entre 29 e 30 de julho de 2017, reportaram à Autoridade de Saúde Local, a ocorrência de uma toxinfecção alimentar com sintomas de diarreia e vómitos. Foram também colhidas sobras de alimentos para ensaios adicionais.

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

Conteúdo da amostra: *Escherichia coli* O157 (16 ufc/esfregação) (estirpe “selvagem”), *Salmonella* Crewe 11 ; z ; 1,5 (6 ufc/esfregação) (estirpe “selvagem”), *Klebsiella oxytoca* (4,3X10³ ufc/esfregação) (estirpe “selvagem”) e *Staphylococcus epidermidis* (1,5X10³ ufc/esfregação) (estirpe “selvagem”).

Resultados esperados:

Ensaio	Resultado esperado	Resultado do laboratório	PHE score para Avaliação do Desempenho	z-score
<i>Listeria monocytogenes</i>	Não detetada			
<i>Salmonella</i> spp.	Detetada			
<i>Bacillus cereus</i>	<10 ufc/esfregação			
<i>Escherichia coli</i> O157	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>	14
Participantes que enviaram corretamente a ausência	14 (100%)

<i>Salmonella</i> spp.	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Salmonella</i> spp.	26
Participantes que enviaram corretamente a presença	26 (100%)

<i>Bacillus cereus</i>	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>B. cereus</i>	10
Participantes que enviaram corretamente a ausência	8 (80%)

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

Total de amostras enviadas	35
Relatório devolvido – “amostra não analisada”	6
Relatórios não devolvidos	2

Amostra ES0016

Tipo de amostra: Esfregaço efetuado numa máquina picadora utilizada para esmagar feijões previamente cozinhados, num restaurante mexicano de *fast food*, na 3ª feira, dia 1 de agosto.

Descrição do surto: Este esfregaço foi colhido na sequência de uma queixa efetuada por 16 elementos do público que reportaram náuseas e vômitos, tendo os sintomas surgido 30 minutos a seis horas após o consumo de um taco vegetariano com salada. Todos afirmaram terem jantado no restaurante na noite de 31 de julho.

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

Conteúdo da amostra: *Bacillus cereus* ($9,0 \times 10^4$ ufc/esfregaço) (estirpe "selvagem"), *Enterococcus faecalis* ($9,6 \times 10^2$ ufc/esfregaço) (estirpe "selvagem") e *Pseudomonas putida* ($2,1 \times 10^3$ ufc/esfregaço) (estirpe "selvagem").

Resultados esperados:

Ensaio	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			
Estafilococos coagulase-positiva	<10 ufc/esfregaço			
<i>Bacillus cereus</i>	$2,2 \times 10^4 - 3,2 \times 10^5$ ufc/esfregaço			

NE - Não examinado; NA – Não aplicável

Comentários do Desempenho:

<i>Listeria monocytogenes</i>	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Listeria monocytogenes</i>	14
Participantes que enviaram corretamente a ausência	14 (100%)

<i>Salmonella</i> spp.	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Salmonella</i> spp.	18
Participantes que enviaram corretamente a ausência	17 (94%)

Estafilococos coagulase-positiva	
Total de participantes que enviaram resultados para estafilococos coagulase-positiva	14
Participantes que enviaram resultados baixos não mensuráveis	11

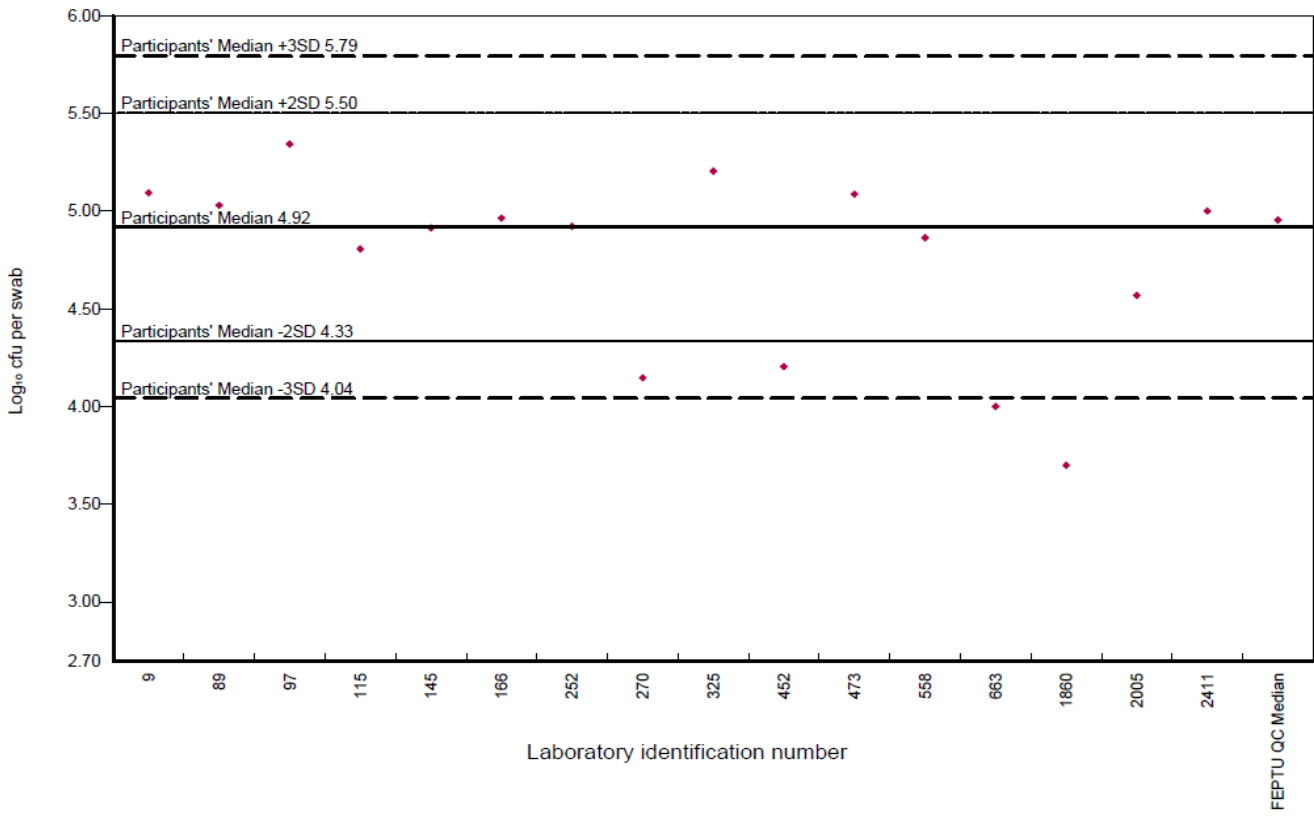
<i>Bacillus cereus</i>	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>B. cereus</i>	17
Valor alvo (mediana dos resultados dos participantes)	$8,3 \times 10^4$ ufc/esfregaço ($4,92 \log_{10}$)
Incerteza do valor alvo ($U(X_{pi})$)	$0,08 \log_{10}$ ufc/esfregaço
Nº de contagens fora da amplitude esperada (AE)	4 ($4 < AE / 0 > AE$)
Média dos resultados dos participantes	$7,4 \times 10^4$ ufc/esfregaço ($4,87 \log_{10}$)
*Desvio padrão dos resultados dos participantes	$0,29 \log_{10}$ ufc/esfregaço
Mediana dos resultados do CQ do FEPTU	$9,0 \times 10^4$ ufc/esfregaço ($4,95 \log_{10}$)

Total de amostras enviadas	35
Relatório devolvido – “amostra não analisada”	6
Relatórios não devolvidos	2

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

ES0016 - *B.cereus*

Key: • Reported result



Comentários específicos da distribuição ES8

Amostra ES0015

Esta amostra foi analisada por **27** laboratórios. Os patogénicos presentes nesta amostra eram a *Salmonella* Crewe e a *E. coli* O157.

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>Campylobacter</i> spp.	6	Não detetado
<i>Clostridium perfringens</i>	7	0 (1) <10 (2) <100 (4)
Estafilococos coagulase-positiva	8	0 (2) <10 (3) <20 (1) <25 (1) <100 (1)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1	Não detetado

Escherichia coli O157

67% (18/27) dos laboratórios participantes não enviaram resultados para *E. coli* O157, um dos patogénicos alvo neste surto.

É importante que os laboratórios tenham em consideração todos os patogénicos que podem estar implicados num surto e que em situações raras mais do que um patogénico pode ser o responsável. Como esta foi a primeira amostra na qual foram incluídos dois patogénicos e o número de laboratórios que efetuaram a pesquisa de *E. coli* O157 foi baixo, não foi atribuída pontuação aos laboratórios que não enviaram resultados para este microrganismo.

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. Isto garantirá que é atribuída a pontuação correta ao seu laboratório.

Amostra ES0016

Esta amostra foi analisada por **27** laboratórios. O patogénico presente nesta amostra era o *Bacillus cereus*.

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>Campylobacter</i> spp.	2	Não detetado
<i>Clostridium perfringens</i>	10	0 (2) <10 (3) <100 (4) 1300 (1)
<i>Escherichia coli</i> O157	4	Não detetado
<i>Vibrio cholerae</i>	1	Não detetado

33% (9/27) dos laboratórios participantes não enviaram resultados para *B. cereus*, o patogénico alvo neste surto. Isto pode ser devido ao facto de o ensaio de *B. cereus* não fazer parte das hipóteses colocadas pelo laboratório e por esse motivo não ter sido considerado. Não foi atribuída pontuação aos participantes que não reportaram resultados para *B. cereus*.

Questionário

Foi enviado um questionário a 41 laboratórios participantes, com o objetivo de compreender melhor que microrganismos são analisados em amostras de esfregaços, em rotina, no decurso da investigação de um surto. **49%** dos participantes responderam ao questionário e as conclusões estão sumariadas na tabela seguinte:

Ensaio	Nº de laboratórios que efetuam os ensaios em rotina
<i>Bacillus cereus</i>	14
<i>Campylobacter</i> spp.	14
<i>Clostridium perfringens</i>	14
Estafilococos coagulase-positiva	20
<i>Cronobacter</i> spp.	5
<i>Escherichia coli</i> O157	12
<i>Listeria monocytogenes</i>	20
<i>Salmonella</i> spp.	22
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	9
<i>Vibrio cholerae</i>	8

Com base nas respostas acima indicadas e após consultoria técnico-científica a *Food and Environmental Proficiency Testing Unit* (FEPTU) da *Public Health England* (PHE) decidiu listar os microrganismos que serão incluídos no desenho do esquema em futuras distribuições. Isto garantirá que os participantes estão esclarecidos relativamente aos microrganismos que deverão ser considerados no âmbito da investigação e aos quais será, de futuro, atribuída pontuação. No entanto, é importante que, caso o seu laboratório não examine por rotina determinado(s) patogénico(s) que potencialmente possa(m) estar implicado(s) num surto, reporte o resultado como “Não examinado” para esse patogénico. Isto garantirá que é atribuída a pontuação correta ao seu laboratório e evidenciará também os seus conhecimentos relativamente aos microrganismos que podem estar implicados em surtos.

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