



RELATÓRIO

SHELLFISH SCHEME

DISTRIBUIÇÃO Nº SF056 AMOSTRAS SF0120 e SF0121

Data do ensaio:	fevereiro 2017
Data limite de envio de resultados:	23 de março 2017
Data do relatório:	04 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 e Nita Patel
Relatório autorizado:	Nita Patel
Relatório traduzido, compilado e verificado: Sónia Pedro (IPMA/DMRM)	Cristina Belo Correia e Isabel Campos Cunha (INSA)
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: 21 7526470
e-mail: Isabel.Cunha@insa.min-saude.pt

FOOD EQA Schemes

O PHE *Shellfish EQA Scheme* fornece amostras para avaliação externa da qualidade, aos laboratórios que examinam moluscos bivalves vivos provenientes de locais de apanha/cultivo de acordo com o Regulamento (CE) N.º 854/2004 e da cadeia de produção entre a apanha e o consumo, de acordo com o Regulamento (CE) N.º 2073/2005, relativo a Critérios Microbiológicos Aplicáveis aos Géneros Alimentícios e subsequentes alterações.

Os artigos 32 e 33 do Regulamento (CE) N.º 882/2004 definem o papel dos Laboratórios de Referência na União Europeia (EURL) e dos Laboratórios Nacionais de Referência (NRL) no qual se inclui a responsabilidade da organização de ensaios comparativos. O PHE *Shellfish EQA Scheme* é organizado em colaboração com o “Centre for Environment, Fisheries and Aquaculture Science (CEFAS)”, Weymouth, Reino Unido, designado como EURL. Em Portugal, este Esquema é organizado pelo INSA, I.P. em colaboração com o IPMA/DMRM, NRL de Portugal.

O método de referência para a contagem de *Escherichia coli* em moluscos bivalves vivos é a ISO 16649-3, *Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of β -glucuronidase-positive Escherichia coli Part 3: Most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide*.

Em 2011, o *Standing Committee on Food Chain and Animal Health (SCoFCAH)* aprovou a utilização de dois métodos alternativos para a quantificação de *E. coli*: “*Enumeration of Escherichia coli in live bivalve molluscs shellfish by the direct impedance technique using the BacTrac 4300 series analyser*” e “*Enumeration of Escherichia coli in bivalve molluscs shellfish by the colony-count technique*”. Os protocolos para aplicação destes métodos estão disponíveis em <http://eurlecefas.org>.

Controlo da Qualidade FEPTU: Para evidenciar a estabilidade da amostra são selecionadas aleatoriamente do lote um mínimo de 10 LENTICULE[®] e ensaiadas para os parâmetros indicados no Formulário de Resultados. Os resultados obtidos nos ensaios de controlo de qualidade do Laboratório da FEPTU são determinados utilizando métodos baseados nos métodos ISO. 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 9 e solicite uma amostra de repetição.

Lembramos que uma identificação incorreta ou incompleta de patogénicos em amostras de alimentos pode ter sérias implicações em saúde pública. Do mesmo modo, os níveis de microrganismos reportados na amostra podem afetar o destino subsequente do produto.

Um resultado reportado incorreto para o número mais provável (NMP) de *Escherichia coli* pode afetar a classificação das zonas de apanha/cultivo e o subsequente tratamento dos moluscos bivalves vivos.

Uma identificação incorreta de resultados para ensaios de *Salmonella* pode afetar o destino subsequente do produto e pode ter sérias implicações em saúde pública.

A finalidade do sistema de pontuação é chamar a atenção para resultados incorretos ou fora da amplitude esperada (AE). Os participantes que reportem contagens fora da AE, de uma forma esporádica, não deverão ficar excessivamente alarmados, devendo, no entanto esclarecer o(s) motivo(s) do resultado fora dos limites estabelecidos. Os resultados sumariados na folha de avaliação do desempenho incluída neste relatório, fornecem uma indicação mais eficiente relativamente à existência de problemas sistemáticos nos ensaios microbiológicos.

Caso necessite de informação adicional, consulte os documentos:

“**Guide to Scoring Systems and Statistics used for the PHE Proficiency Testing Schemes for Food and Water Microbiology**” e

“**A Guide to the use of the PHE Proficiency Testing Schemes for Food and Water Microbiology**” disponíveis em <http://www.insa.min-saude.pt/microbiologia-dos-alimentos/> “Documentos para *Download*”.

Sempre que necessite de aconselhamento e/ou informação, por favor contacte-nos.

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: 21 7526470

Acreditação: O PHE *Shellfish 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 SF0120

Descrição: Moluscos bivalves vivos provenientes de uma nova zona de apanha/cultivo.

Conteúdo da amostra: *Escherichia coli* ($4,9 \times 10^2$ – $4,9 \times 10^3$) (estirpe “selvagem”), *Salmonella* Indiana 1,4,12: z: 1,7 ($1,5 \times 10^2$ / lenticula) (estirpe “selvagem”), *Bacillus pumilus* ($7,0 \times 10^2$) (estirpe “selvagem”) e *Klebsiella oxytoca* ($6,5 \times 10^2$) (estirpe “selvagem”).

Todas as contagens são apresentadas como unidades formadoras de colónias (ufc) por ml de amostra reconstituída, a não ser que seja referido algo em contrário.

* NMP por 100 ml de amostra reconstituída

Resultados esperados e do Laboratório:

Ensaio	Resultado esperado	Resultado do Laboratório		
		Réplica 1	Réplica 2	Pontuação
<i>Escherichia coli</i> (NMP)	$2,2 \times 10^2$ – $5,4 \times 10^3$ por 100g			
		Comentários:		
<i>Salmonella</i> spp.	Detetada em 25g			
		Comentários:		

NE - Não Examinado; N/A - Não Aplicável

Os valores para o NMP de *E. coli* reportados estão representados na Fig. 1.

<i>E. coli</i>	
Total de participantes que enviaram resultados em duplicado para o NMP de <i>E. coli</i>	85
Participantes que enviaram apenas um resultado simples de NMP	2
Participantes que enviaram resultados de NMP dentro da amplitude esperada para ambas as réplicas	81
Participantes que enviaram resultados de NMP fora da amplitude esperada para ambas as réplicas	3
Participantes que enviaram resultados de NMP fora da amplitude esperada apenas para uma réplica	1
Participantes que enviaram uma combinação de tubos inconsistente com o NMP reportado	21
Participantes que enviaram valores não mensuráveis para uma réplica	0
Participantes que enviaram valores não mensuráveis para ambas as réplicas	0
Valor alvo (mediana dos resultados de NMP dos participantes)	$1,1 \times 10^3$ por 100 g
Média dos resultados dos participantes (NMP)	$1,4 \times 10^3$ por 100 g
Desvio padrão (DP) dos resultados dos participantes	0,40 \log_{10} por 100 g
Mediana dos resultados do CQ do FEPTU (NMP)	$1,3 \times 10^3$ por 100 g

<i>Salmonella</i> spp.	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Salmonella</i> spp.	82
Participantes que enviaram corretamente a presença de <i>Salmonella</i> spp.	81 (99%)
Total de amostras enviadas	92
Relatórios não devolvidos	2
Relatório devolvido – “amostra não examinada”	2

Amostra SF0121

Descrição: Moluscos bivalves vivos provenientes de uma nova zona de apanha/cultivo.

Conteúdo da amostra: *Escherichia coli* ($3,3 \times 10^2 - 2,3 \times 10^3$) (estirpe "selvagem"), *Salmonella* London 3,₁₀¹⁵ : I,v : 1,6 ($3,3 \times 10^2$ / lenticula) (estirpe "selvagem"), *Micrococcus* spp. ($1,5 \times 10^4$) (estirpe "selvagem") e *Providencia rettgeri* ($1,3 \times 10^2$) (NCTC 11801).

Todas as contagens são apresentadas como unidades formadoras de colónias (ufc) por ml de amostra reconstituída, a não ser que seja referido algo em contrário.

* NMP por 100 ml de amostra reconstituída

Resultados esperados e do Laboratório:

Ensaio	Resultado esperado	Resultado do Laboratório		
		Réplica 1	Réplica 2	Pontuação
<i>Escherichia coli</i> (NMP)	1,9x10 ² – 4,6x10 ³ por 100g			
		Comentários:		
<i>Salmonella</i> spp.	Detetada em 25g			
		Comentários:		

NE - Não Examinado; N/A - Não Aplicável

Os valores para o NMP de *E. coli* reportados estão representados na Fig. 1.

<i>E. coli</i>	
Total de participantes que enviaram resultados em duplicado para o NMP de <i>E. coli</i>	86
Participantes que enviaram apenas um resultado simples de NMP	2
Participantes que enviaram resultados de NMP dentro da amplitude esperada para ambas as réplicas	80
Participantes que enviaram resultados de NMP fora da amplitude esperada para ambas as réplicas	2
Participantes que enviaram resultados de NMP fora da amplitude esperada apenas para uma réplica	4
Participantes que enviaram uma combinação de tubos inconsistente com o NMP reportado	24
Participantes que enviaram valores não mensuráveis para uma réplica	0
Participantes que enviaram valores não mensuráveis para ambas as réplicas	0
Valor alvo (mediana dos resultados de NMP dos participantes)	9,4x10 ² por 100 g
Média dos resultados dos participantes (NMP)	1,2x10 ³ por 100 g
Desvio padrão (DP) dos resultados dos participantes	0,39 log ₁₀ por 100 g
Mediana dos resultados do CQ do FEPTU (NMP)	7,8x10 ² por 100 g
<i>Salmonella</i> spp.	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Salmonella</i> spp.	82
Participantes que enviaram corretamente a presença de <i>Salmonella</i> spp.	82 (100%)
Total de amostras enviadas	92
Relatórios não devolvidos	2
Relatório devolvido – “amostra não examinada”	2

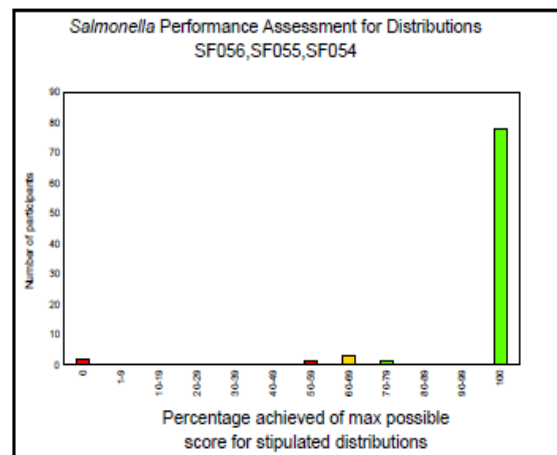
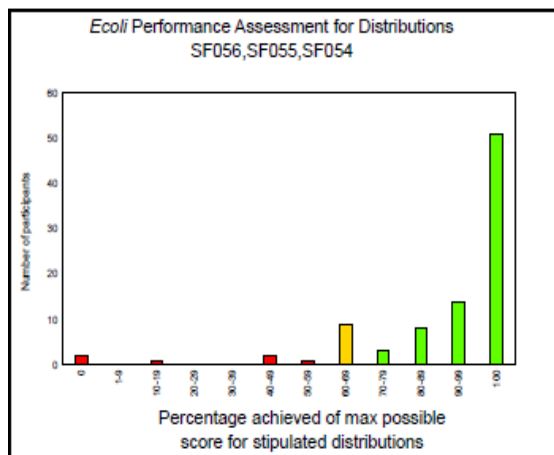
Avaliação do Desempenho

A avaliação de desempenho, efetuada após cada distribuição, tem por finalidade permitir que os laboratórios identifiquem problemas sistemáticos nos seus ensaios. É atribuída uma pontuação (“score”) aos resultados reportados para cada amostra, com o objetivo de ajudar os participantes na avaliação do seu desempenho.

É atribuída uma pontuação cumulativa (“score”) aos resultados dos ensaios de NMP de *E. coli* e de *Salmonella* de cada participante referente ao desempenho na distribuição em curso e nas duas anteriores. A pontuação cumulativa dos participantes atribuída a cada um dos ensaios referidos é comparada com a pontuação máxima possível após cada distribuição.

O seu laboratório analisou **6** amostras nas últimas três distribuições.

Distribution	Sample	<i>E.coli</i> score	Your % per distribution	<i>Salmonella</i> sp. score	Your % per distribution
SF056	SF0120				
	SF0121				
SF055	SF0118				
	SF0119				
SF054	SF0116				
	SF0117				
Total maximum possible score					



Comentário da avaliação do desempenho:

Os laboratórios que obtenham menos do que 70% da pontuação máxima possível, têm, provavelmente, problemas significativos nos seus ensaios e são aconselhados a

- a) consultar os “comentários específicos” dos relatórios b) consultar os documentos disponíveis em <http://www.insa.min-saude.pt/microbiologia-dos-alimentos/> c) contactar os organizadores para aconselhamento.

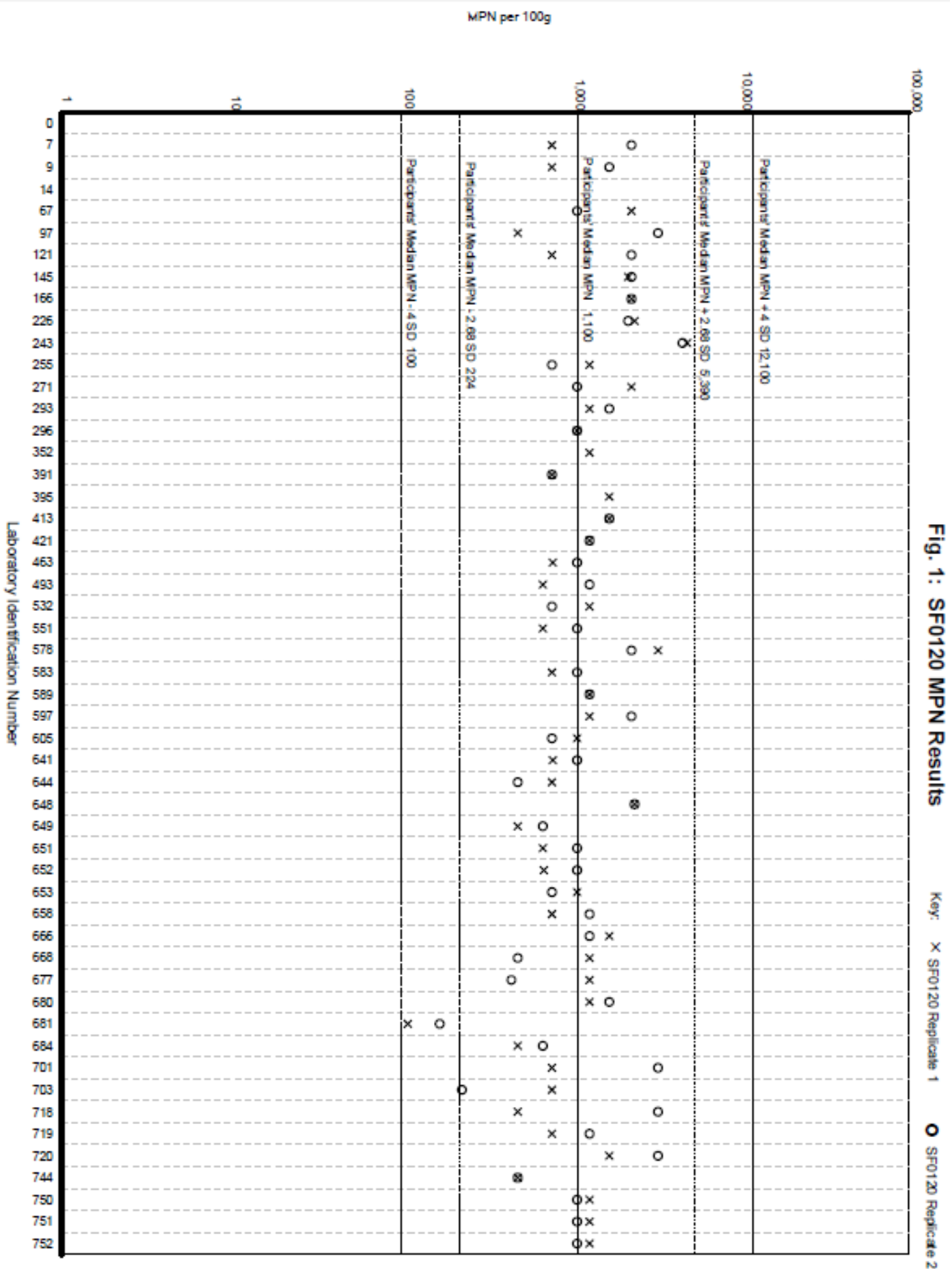
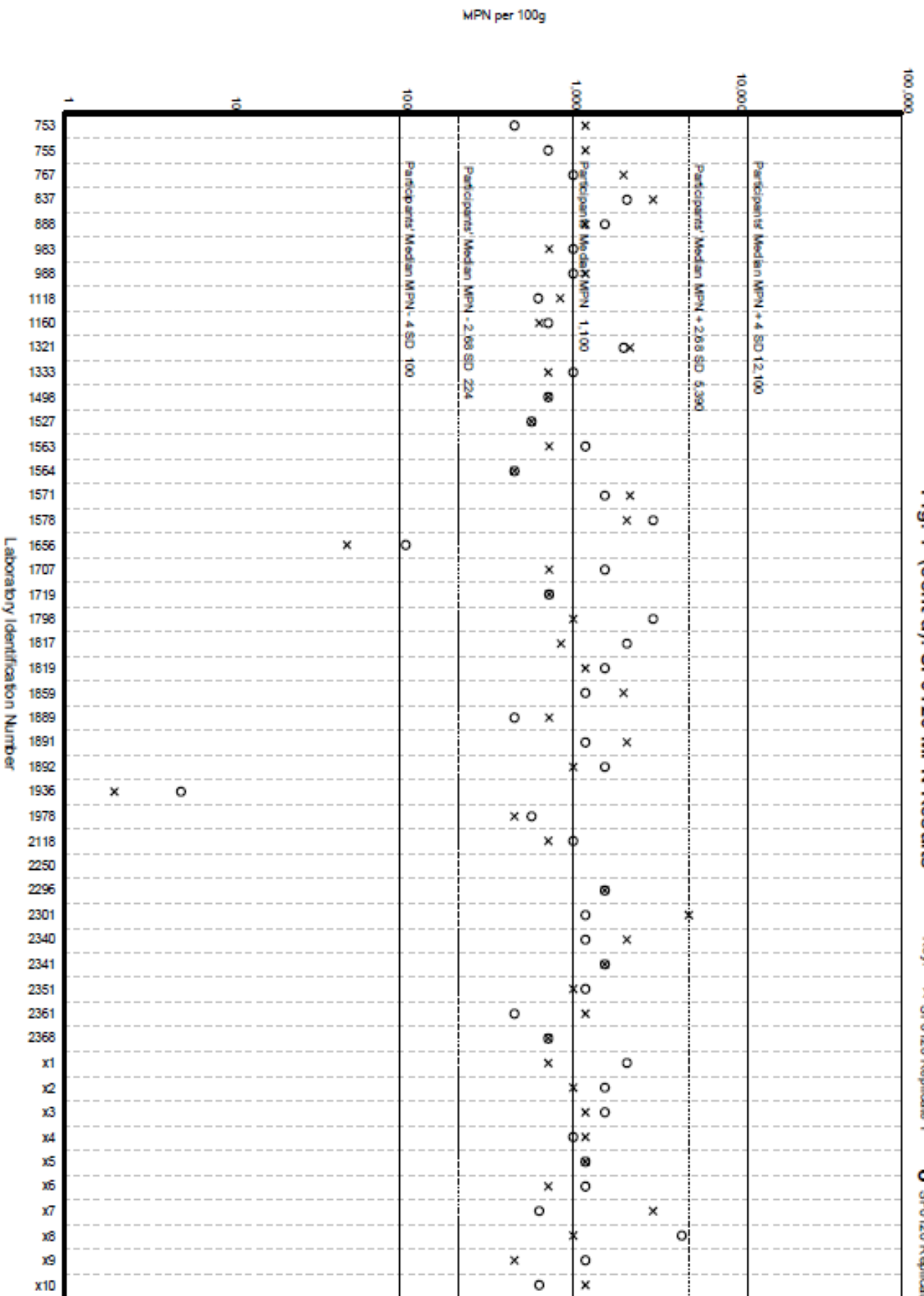
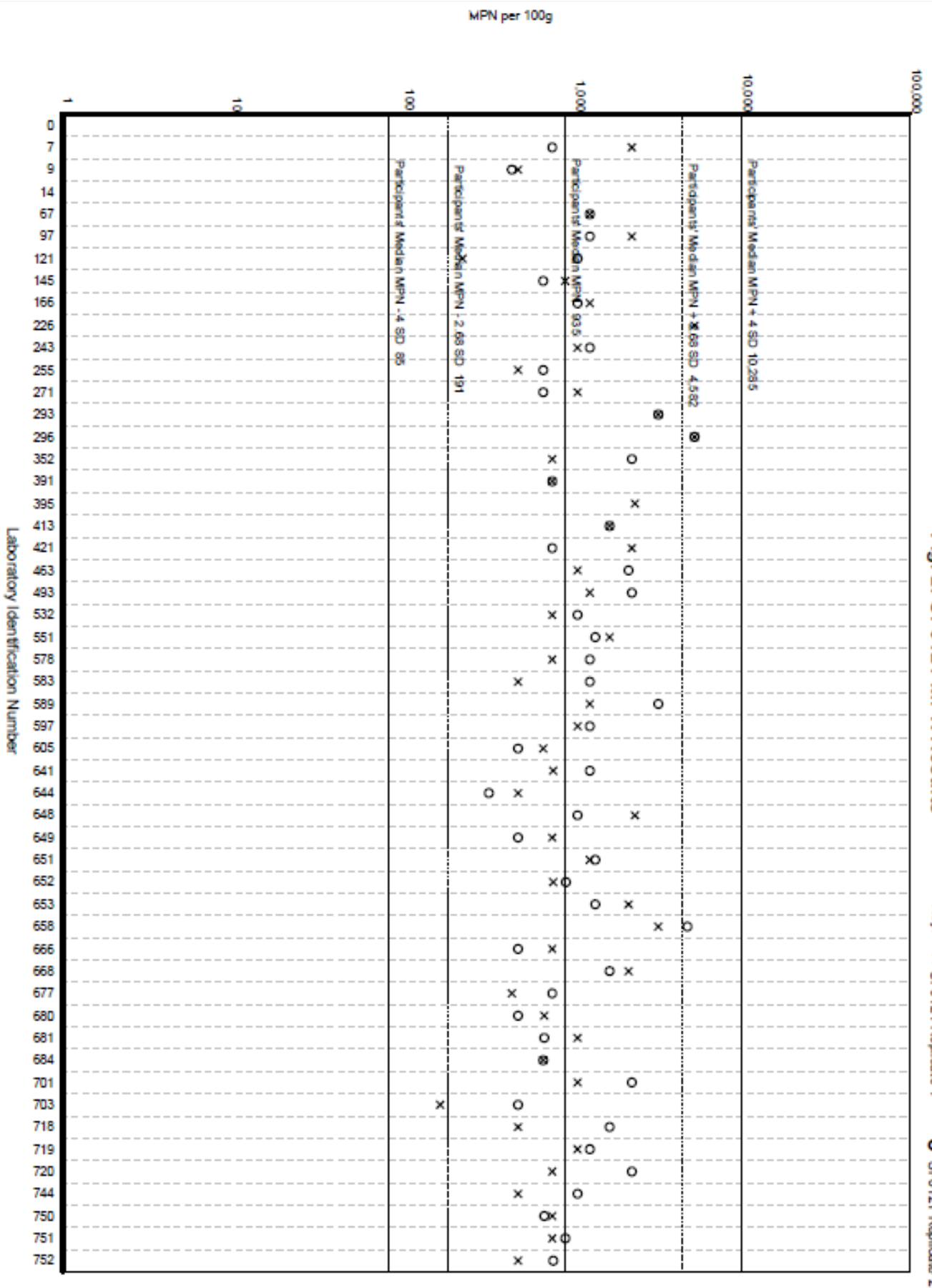


Fig. 1: SF0120 MPN Results

Fig. 1 (cont'd): SF0120 MPN Results

Key: X SF0120 Replicate 1 O SF0120 Replicate 2





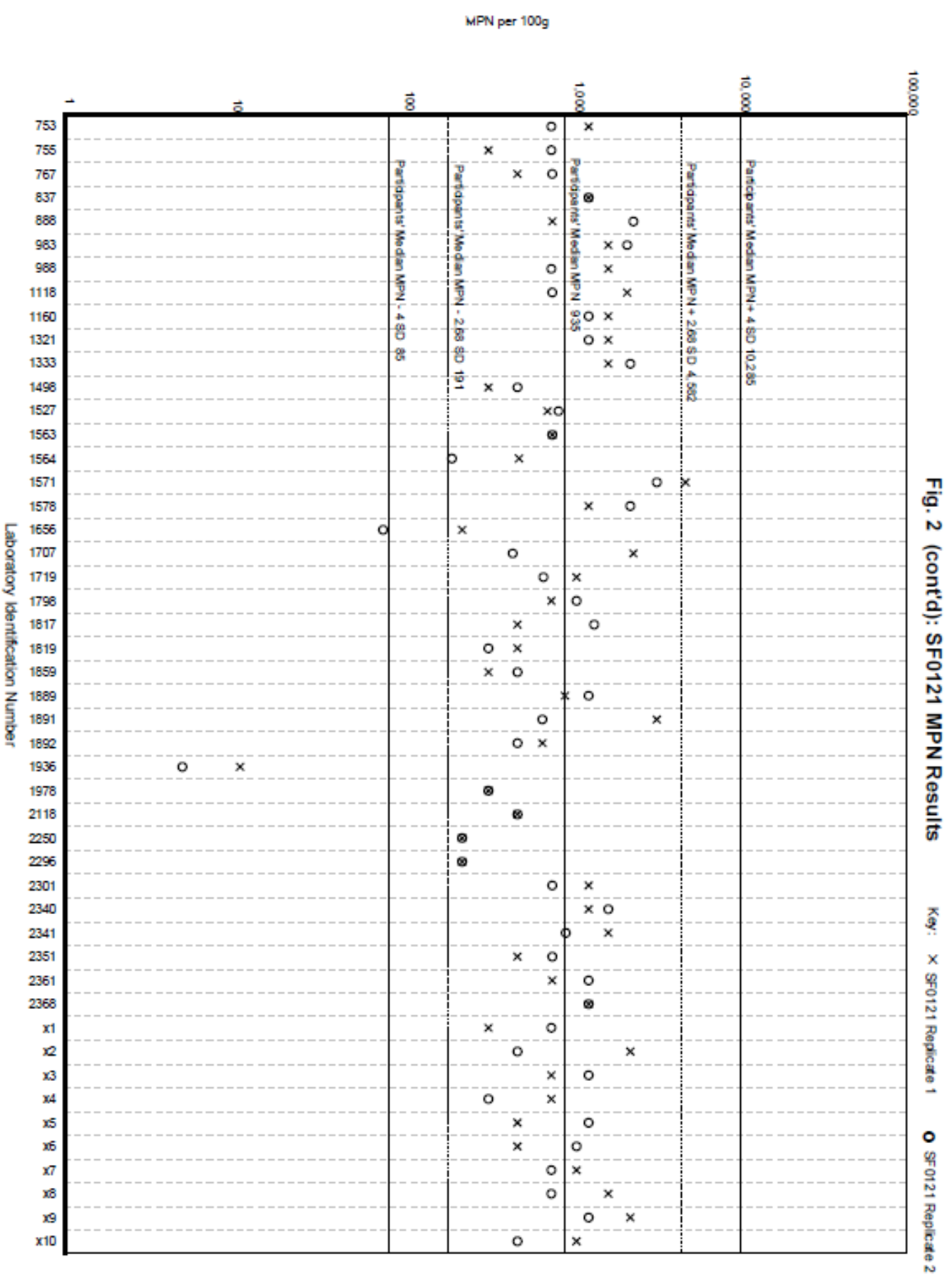


Fig. 2 (cont'd): SF0121 MPN Results

Key: X SF0121 Replicate 1 O SF0121 Replicate 2

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