



RELATÓRIO

ENVIRONMENTAL SWAB SCHEME

DISTRIBUIÇÃO Nº ES18 AMOSTRAS ES0035 e ES0036

Data do ensaio:	fevereiro 2020
Data limite de envio de resultados:	12 de março de 2020
Data do relatório:	06 de abril de 2020
Preparação de amostras e controlo da qualidade	Angela Appea, Isis Asamoah, Richard Borrill, Nicola Davies, Annis Newman, Margaret Njenga, Zak Prior e Lili Tsegaye
Dados analisados / Relatório elaborado:	Nita Patel e Manchari Rajkumar
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

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 6 LENTICULE[®] e analisadas ao longo do período de distribuição, para quantificação ou para deteção de patogénicos.

Os resultados destes ensaios de controlo de qualidade da *Food and Environmental Proficiency Testing Unit* (FEPTU) são obtidos utilizando métodos da *Public Health England: Detection and Enumeration of Bacteria in Swabs and other Environmental Samples. FNE54; version 4.* e estão incluídos nos “Resultados Esperados Preliminares”, constituindo uma orientação em relação aos valores esperados. Estes “Resultados Esperados Preliminares”, são enviados a todos os laboratórios participantes, por correio eletrónico, na semana imediatamente após a data limite de envio dos resultados por parte dos laboratórios.

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; Fax: 21 7526470
Isabel Campos Cunha – Telef.: 22 3401133/31/00
e-mail Isabel.Cunha@insa.min-saude.pt; Fax: 21 7526470

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 ES0035

Tipo de amostra: Esfregaço efetuado em área aleatória do interior de uma embalagem de material descartável onde esteve acondicionado queijo de pasta mole.

Descrição do surto: No dia 18 de fevereiro de 2020, o serviço de urgência de um hospital militar recebeu 13 pessoas que necessitavam de cuidados, manifestando sintomas de doença gastrointestinal, com início 2 a 3 horas após um almoço de trabalho. O hospital contactou a Autoridade de Saúde Local, que procedeu de imediato a uma investigação do surto, com apoio de um Instituto de Saúde Pública local.

No dia 17 de fevereiro de 2020, o departamento de *catering* do hospital tinha servido queijo de pasta mole, adquirido numa quinta local, fabricado com leite cru e armazenado à temperatura ambiente. A data de produção era 5 de janeiro de 2020.

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

Conteúdo da amostra: *Staphylococcus aureus* ($2,5 \times 10^4$ ufc/lentícula) (estirpe "selvagem"), *Lactobacillus plantarum* ($7,6 \times 10^3$) (estirpe "selvagem"), *Micrococcus* sp. ($4,5 \times 10^3$) (estirpe "selvagem") e *Pseudomonas aeruginosa* ($3,8 \times 10^2$) (estirpe "selvagem").

Resultados esperados:

Ensaio	Resultado esperado	Resultado do laboratório	PHE score para Avaliação do Desempenho	z-score
<i>Listeria monocytogenes</i>	Não detetado			
<i>Salmonella</i> spp.	Não detetado			
Estafilococos coagulase-positiva	$3,5 \times 10^3$ - $4,7 \times 10^4$ ufc/esfregaço			
<i>Escherichia coli</i> O157	Não detetado			

NE - Não examinado; NA – Não aplicável

Comentários do Desempenho:

<i>Listeria monocytogenes</i>	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Listeria monocytogenes</i>	38
Participantes que reportaram corretamente o resultado	38 (100%)

<i>Salmonella</i> spp.	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Salmonella</i> spp.	37
Participantes que reportaram corretamente o resultado	37 (100%)

Estafilococos coagulase-positiva	
Total de participantes que enviaram resultados para Estafilococos coagulase-positiva	36
Participantes que reportaram resultados altos não mensuráveis	1
Valor alvo (mediana dos resultados dos participantes)	$1,3 \times 10^4$ ufc / esfregaço ($4,11 \log_{10}$)
Incerteza do valor alvo ($U(X_{pt})$)	$0,05 \log_{10}$ ufc / esfregaço
Nº de contagens fora da amplitude esperada (AE)	11 ($10 < AE / 1 > AE$)
Média dos resultados dos participantes	$1,1 \times 10^4$ ufc / esfregaço ($4,04 \log_{10}$)
*Desvio padrão dos resultados dos participantes	$0,28 \log_{10}$ ufc / esfregaço
Mediana dos resultados do CQ da FEPTU	$2,8 \times 10^4$ ufc / esfregaço ($4,45 \log_{10}$)

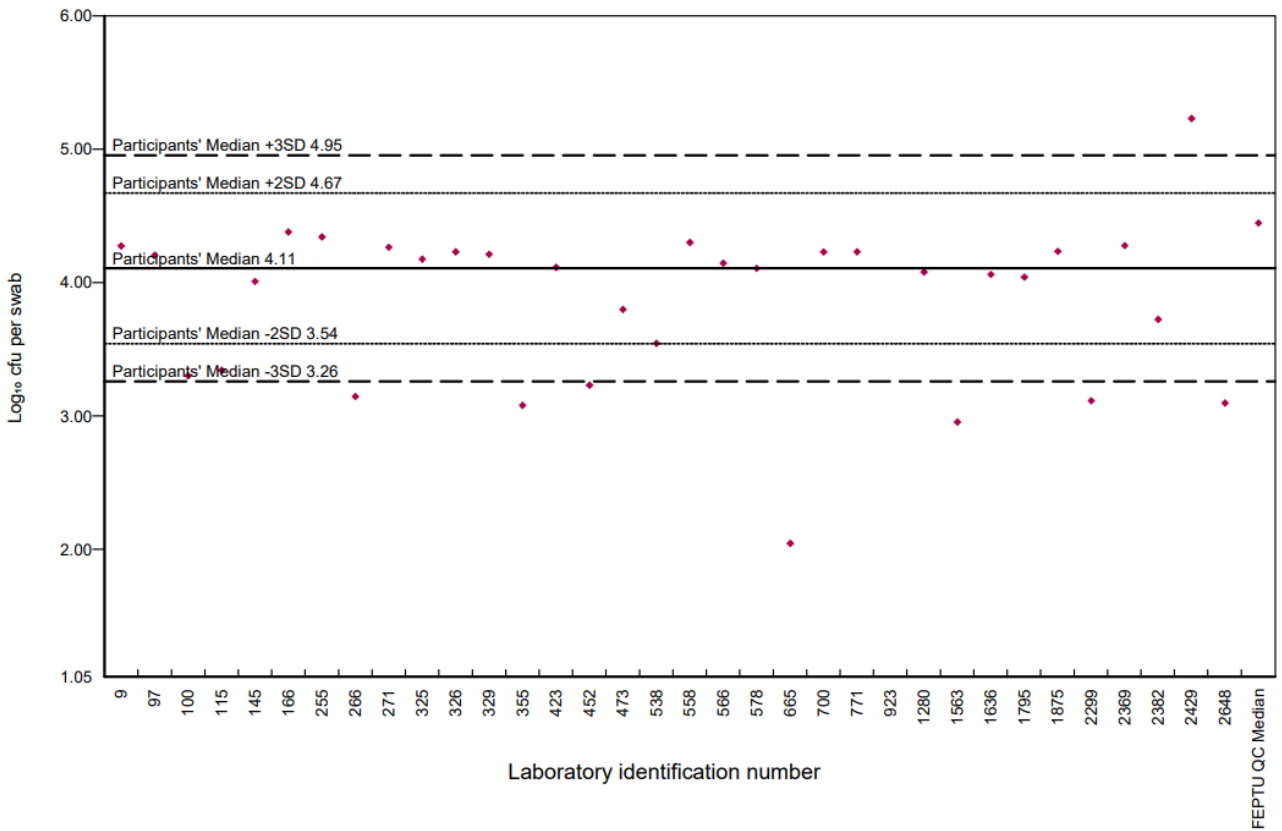
<i>Escherichia coli</i> O157	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Escherichia coli</i> O157	12
Participantes que reportaram corretamente o resultado	12 (100%)

Total de amostras enviadas	50
Formulários de Resultados não devolvidos	1
Formulário de Resultados devolvido – "amostra não analisada"	3

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

ES0035 - Coagulase-positive staphylococci

Key: ♦ Reported result



Amostra ES0036

Tipo de amostra: Esfregaço efetuado em área aleatória da vedação em metal que delimita o local onde os animais estão confinados.

Descrição do surto: Um total de 19 pessoas (10 adultos e 9 crianças) reportaram aos médicos assistentes sintomas de diarreia sanguinolenta e cólicas abdominais. A Autoridade de Saúde Local foi informada sobre esta situação em 17 de fevereiro e, subsequentemente, iniciou uma investigação. Um adulto de 69 anos e quatro crianças foram hospitalizados, tendo sido evidenciado pelo adulto sinais de falha renal.

Numa investigação mais aprofundada, verificou-se que as 19 pessoas tinham frequentado uma quinta de aventura local, onde é permitido o contato direto com animais.

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

Conteúdo da amostra: *Escherichia coli* O157 ($1,2 \times 10^2$ ufc/lentícula) (estirpe "selvagem"), *Clostridium paraputrificum* ($3,2 \times 10^3$) (estirpe "selvagem"), *Pseudomonas fluorescens* ($8,0 \times 10^2$) (estirpe "selvagem") e *Staphylococcus hominis* ($3,3 \times 10^3$) (estirpe "selvagem").

Resultados esperados:

Ensaio	Resultado esperado	Resultado do laboratório	PHE score para Avaliação do Desempenho	z-score
<i>Listeria monocytogenes</i>	Não detetado			
<i>Salmonella</i> spp.	Não detetado			
Estafilococos coagulase-positiva	<10 ufc/esfregaço			
<i>Escherichia coli</i> O157	Detetado			

NE - Não examinado; NA – Não aplicável

Comentários do Desempenho:

<i>Listeria monocytogenes</i>	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Listeria monocytogenes</i>	33
Participantes que reportaram corretamente o resultado	33 (100%)

<i>Salmonella</i> spp.	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Salmonella</i> spp.	39
Participantes que reportaram corretamente o resultado	39 (100%)

Estafilococos coagulase-positiva	
Total de participantes que enviaram resultados para estafilococos coagulase-positiva	16
Participantes que reportaram resultados baixos não mensuráveis	11

<i>Escherichia coli</i> O157	
Total de participantes que enviaram resultados para <i>Escherichia coli</i> O157	28
Participantes que reportaram corretamente o resultado	28 (100%)

Total de amostras enviadas	50
Formulários de Resultados não devolvidos	1
Formulário de Resultados devolvido – “amostra não analisada”	3

Comentários específicos da distribuição ES18

Amostra ES0035

Esta amostra foi analisada por 47 laboratórios. O patogénico presente nesta amostra era *Estafilococos* coagulase-positiva. 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>	8	0 (1) <10 (1) <100 (4) <200 (2)
<i>Clostridium perfringens</i>	3	<100
<i>Campylobacter</i> spp.	6	Não detetado
<i>Pseudomonas</i> spp.	1	425 ufc/esfregaço

Amostra ES0036

Esta amostra foi analisada por 47 laboratórios. O patogénico presente nesta amostra era *Escherichia 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>Bacillus cereus</i>	1	<100
<i>Clostridium perfringens</i>	2	<10 (1) <100 (1)
<i>Campylobacter</i> spp.	12	Não detetado
<i>Pseudomonas</i> spp.	1	1275 ufc/esfregaço

Comentários gerais

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.

Distribuição de amostras a partir de abril de 2020 – **INFORMAÇÃO IMPORTANTE**

Informamos que, na sequência do impacto da pandemia pelo novo Coronavírus a nível global e na Europa em particular, a **Public Health England (PHE)** tomou a decisão de suspender todas as distribuições programadas a partir de abril de 2020, até que seja restabelecido o normal funcionamento.

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