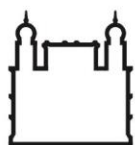


Ensaio de Proficiência em Produtos Sujeitos ao Regime de Vigilância Sanitária (EP/INCQS)

Ensaio de Proficiência em Microbiologia de Alimentos 18ª Rodada – Pesquisa de *Salmonella* spp. em Matriz Chocolate

EP MIB 18/15



Ministério da Saúde
FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz





**Ensaio de Proficiência em Microbiologia de Alimentos 18ª Rodada –
Pesquisa de Salmonella spp. em Matriz Chocolate**

RELATÓRIO FINAL

ORGANIZAÇÃO E COORDENAÇÃO



Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - INCQS
Avenida Brasil, 4365 - Manguinhos
Rio de Janeiro - RJ – Brasil - Cx. Postal 926 - CEP: 21040-900

COMISSÃO ORGANIZADORA DA RODADA

- COMISSÃO DO PROGRAMA DE ENSAIO DE PROFICIÊNCIA

Armi Wanderley da Nóbrega – Coordenador Geral
Marcus Henrique Campino de la Cruz – Coordenador Técnico
Maria Helena Wohlers Morelli Cardoso – Coordenadora da Qualidade
Lilian Verdolin Milo Collor – Técnico e da Qualidade

- COMITÊ TÉCNICO

Carla de Oliveira Rosas
Cátia Cardoso da Silva
Marcelo Luiz Lima Brandão
Maria Luiza Cabral da Silva
Sílvia Maria Lopes Bricio
Valéria de Mello Medeiros

Autorizada a emissão – Armi W. da Nóbrega
(Coordenador Geral)

SUMÁRIO

1. Introdução	3
2. Objetivos	4
3. Produção dos Itens de Ensaio	4
3.1. Escolha da Matriz	4
3.2. Preparo do Item de Ensaio	4
3.3. Faixa de Concentração Esperada.....	5
3.4. Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio	5
3.5. Armazenamento e Envio dos Itens de Ensaio.....	5
3.6. Recebimento do Item de Ensaio	6
3.7. Análise dos Itens de Ensaio.....	6
4. Tratamento dos Resultados.....	6
4.1. Resultados das Medições dos Laboratórios	6
4.2. Valores Designados.....	7
5. Resultados da Avaliação da Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio	7
5.1. Avaliação da Homogeneidade	7
5.2. Avaliação da Estabilidade.....	8
6. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes	10
6.1. Laboratórios Participantes	10
6.2. Resultados dos Laboratórios Participantes.....	10
6.3. Avaliação dos Laboratórios Participantes	13
7. Conclusões e Comentários.....	14
8. Confidencialidade	14
9. Referências Bibliográficas	15
10. Laboratórios Participantes	16

1. Introdução

Ensaio de proficiência (EP) é o uso de comparações interlaboratoriais com o objetivo de avaliar a habilidade de um laboratório em realizar um determinado ensaio ou medição de modo competente e demonstrar a confiabilidade dos resultados gerados. Em um contexto geral, o ensaio de proficiência propicia aos laboratórios participantes: avaliação do desempenho e monitoração contínua; evidência de obtenção de resultados confiáveis; identificação de problemas relacionados com a sistemática de ensaios; possibilidade de tomada de ações corretivas e/ou preventivas; avaliação da eficiência de controles internos; determinação das características de desempenho e validação de métodos e tecnologias; padronização das atividades frente ao mercado e reconhecimento de resultados de ensaios, em nível nacional e internacional.

Com a crescente demanda por provas regulares e independentes de competência pelos organismos reguladores e clientes, o ensaio de proficiência é relevante para todos os laboratórios que testam a qualidade de produtos. Além do baixo número de provedores de ensaios de proficiência na área de alimentos, os custos cobrados para a participação nestes ensaios principalmente de provedores internacionais, são normalmente muito elevados, o que inviabiliza, em muitos casos, a participação de um laboratório em um número maior de ensaios.

A qualidade microbiológica dos alimentos é uma das grandes preocupações da saúde pública em todo o mundo. O controle da qualidade dos alimentos e as análises laboratoriais em casos de surtos de toxinfecções alimentares ocorridos no território brasileiro são de responsabilidade da rede de Laboratórios Centrais de Saúde Pública (LACENs). Logo, a qualidade e confiabilidade dos ensaios realizados para o controle microbiológico dos alimentos nestes laboratórios são de suma importância para garantir que os produtos analisados sejam avaliados corretamente e não venham a causar danos à saúde do consumidor. Assim, a realização de programas de ensaio de proficiência no Brasil, na área de microbiologia de alimentos é fundamental para o aumento da confiabilidade dos resultados das medições aqui realizadas, trazendo maior confiabilidade aos resultados emitidos, facilitando o comércio internacional e prevenindo barreiras técnicas.

Visando a promoção da saúde e em apoio a maior competitividade da indústria nacional, o INCQS promoveu o Ensaio de Proficiência em Microbiologia de Alimentos 18ª Rodada – Pesquisa de *Salmonella* spp. em Matriz Chocolate, seguindo as diretrizes da [ABNT ISO/IEC 17043](#), apresentando neste relatório os resultados da avaliação de desempenho dos laboratórios participantes.

2. Objetivos

O objetivo deste Ensaio de Proficiência é fornecer aos laboratórios participantes uma ferramenta efetiva para verificar sua competência no ensaio de pesquisa de *Salmonella* spp. em matriz chocolate, utilizando metodologia analítica empregada na rotina. Este EP também poderá contribuir para:

- Promover o aumento da confiança nos resultados das medições dos laboratórios participantes;
- Avaliar o desempenho de laboratórios para o ensaio proposto; e
- Propiciar subsídios aos laboratórios para a identificação e solução de problemas.

3. Produção dos Itens de Ensaio

Os procedimentos de preparo dos itens de ensaio e as análises de controle foram realizados no Setor de Alimentos do Departamento de Microbiologia (DM) do INCQS/Fiocruz, seguindo os requisitos da norma [ABNT ISO/IEC 17025](#).

3.1. Escolha da Matriz

O chocolate possui grande valor nutritivo e energético, de forma que a associação entre cacau, leite e açúcar faz com que 100 g de chocolate ao leite tenha carboidratos (56 g), lipídios (34 g), proteínas (6 g), sais minerais (como potássio, cálcio, magnésio e ferro) e vitaminas (B1, B2 e PP) e 550 Kcal (CEPLAC, 2014).

O chocolate é consumido por 75% da população brasileira, sendo o 4º país de maior consumo e o 3º maior produtor desse alimento. Em 2013 as indústrias de chocolate produziram 800 mil toneladas para o setor (ABICAB, 2014).

O consumo *per capita* de chocolates no Brasil é crescente: era em torno de 300 gramas na década de 70 e atualmente está na média de 2,8 kg por pessoa ao ano (ABICAB, 2014).

A RDC nº12/2001, cita como um dos critérios microbiológicos na avaliação da qualidade de chocolates a ausência de *Salmonella* spp. em 25 g.

3.2. Preparo do Item de Ensaio

Para este EP foram utilizados três lotes de itens de ensaio distintos. Um dos lotes foi preparado exclusivamente com uma cepa de *Salmonella* spp., da “Coleção de Micro-organismos de Referência do INCQS/FIOCRUZ”, identificada como P3440. Outro lote foi produzido com uma cepa de *Citrobacter freundii*, registrada na coleção como P4511. O terceiro lote de itens de ensaio foi produzido com uma cepa de *Escherichia coli* identificada como P4328.

Os procedimentos de preparo dos itens de ensaio do lote de *Escherichia coli* estão apresentados no Relatório Final da Rodada de EP MIB 20/15, que se encontra disponível em: <https://www.incqs.fiocruz.br/ep>.

Cada lote foi preparado separadamente a partir da homogeneização de cada uma das suspensões de células em solução crioprotetora, a uma concentração conhecida e controlada.

Após a homogeneização, volumes de 0,5 mL foram distribuídos em frascos de vidro estéreis contendo a matriz chocolate. Posteriormente, os frascos foram congelados em *ultrafreezer* a aproximadamente -70°C e submetidos a um ciclo de liofilização de 24 horas.

3.3. Faixa de Concentração Esperada

Os itens de ensaio, após a etapa de liofilização, apresentaram concentrações aproximadas de 2×10^6 UFC.mL⁻¹ para a *Salmonella* spp. e 2×10^9 UFC.mL⁻¹ para a *Citrobacter freundii* e 1×10^3 UFC.mL⁻¹ para *E. coli*.

3.4. Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio

Vinte e um itens de ensaio do lote de *Salmonella* spp., dezesseis do lote de *Citrobacter freundii* e dezesseis do lote de *E. coli* foram separados, aleatoriamente, para o teste de homogeneidade. Após a reconstituição e homogeneização do líofilo, foram preparadas diluições decimais analisadas sob condições de repetitividade.

Foram realizados estudos de estabilidade de curta duração (transporte) e de longa duração (referência e armazenamento). A estabilidade de curta duração, que verificou a influência da temperatura nas condições de transporte, foi estudada por 4 dias, nas seguintes temperaturas: 4 e 35°C, utilizando-se o modelo isócrono (Lamberty, Schimmel e Pauwels, 1997). Para os estudos de longa duração foi feito o controle de estoque a -70°C (temperatura de referência) e a -20°C (temperatura de armazenamento durante o EP). Os testes da estabilidade a -70 e -20°C foram iniciados após o preparo dos lotes e abrangeram o tempo disponibilizado aos laboratórios para a análise do item de ensaio.

Para os estudos da homogeneidade e da estabilidade dos lotes de *Salmonella* spp. e *C. freundii* foi empregada a metodologia de plaqueamento direto, em ágar VRBG, descrita no *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food*, 4ª Edition, 2001. Para os controles do lote de *E. coli* foi utilizada a metodologia de plaqueamento direto, em ágar VRBA, descrito por Kornachi e Johnson (2001) para a contagem de bactérias coliformes.

O critério utilizado para as avaliações da homogeneidade e estabilidade foi a presença ou a ausência de *Salmonella* spp. no item de ensaio avaliado. Os itens foram considerados homogêneos ou estáveis quando **TODOS** os resultados apresentaram presença de *Salmonella* spp.. Os resultados obtidos estão apresentados nos itens 5.1 e 5.2 deste relatório.

3.5. Armazenamento e Envio dos Itens de Ensaio

Os frascos foram armazenados em *ultrafreezer* (aproximadamente -70°C) até o momento em que foram enviados aos laboratórios participantes.

Para cada laboratório inscrito no Ensaio de Proficiência em Microbiologia de Alimentos 18ª Rodada – Pesquisa de *Salmonella* spp. em Matriz Chocolate foram enviados 4 (quatro) frascos contendo micro-organismos liofilizados. Os itens foram lacrados e identificados com as

seguintes informações: o número da rodada, o item a ser ensaiado e o código da amostra. Cada frasco continha 1 (um) grama de chocolate granulado contaminado com a suspensão bacteriana. **Dois itens de ensaio continham somente *Salmonella* spp., o terceiro item continha apenas *Escherichia coli* e o quarto item continha apenas *Citrobacter freundii*.**

Os frascos foram enviados aos laboratórios por via aérea, acondicionados em recipiente apropriado. Além disso, o recipiente foi colocado dentro de uma caixa de isopor contendo gelo seco, devidamente lacrada e identificada, para que a integridade do conteúdo fosse mantida durante o transporte.

Os laboratórios receberam as informações necessárias para realizar o armazenamento adequado dos itens de ensaio, através do formulário de “**Instruções para Armazenamento e Preparo dos Itens de Ensaio**”, disponibilizado no site do INCQS/EP.

3.6. Recebimento do Item de Ensaio

Ao receber as amostras, os laboratórios foram instruídos a inspecioná-las quanto à temperatura de recebimento, bem como a integridade da embalagem e das amostras. As informações foram registradas no “**Formulário de Recebimento de Item de Ensaio**”.

3.7. Análise dos Itens de Ensaio

Os laboratórios participantes foram orientados a realizar as análises para pesquisa de *Salmonella* spp. segundo a metodologia de trabalho empregado em seu laboratório.

Os resultados expressos como **presença** ou **ausência** de *Salmonella* spp., bem como a metodologia e o meio de cultura utilizados, foram encaminhados à Coordenação do Ensaio de Proficiência através do “**Formulário de Registro de Resultados**”.

4. Tratamento dos Resultados

4.1. Resultados das Medições dos Laboratórios

Os resultados encaminhados pelos laboratórios (Valor Relatado) foram comparados aos resultados das análises do provedor do Ensaio de Proficiência (Valor Designado). A [Tabela 7](#) apresenta os valores designados e relatados de cada laboratório participante, para cada item de ensaio, bem como o resultado final:

Foram adotados os seguintes critérios para o resultado final:

1. Onde os laboratórios **indicaram corretamente** a presença de *Salmonella* spp. o resultado foi considerado: “**Positivo**”;
2. Onde os laboratórios **indicaram erroneamente** presença de *Salmonella* spp. o resultado foi considerado: “**Falso Positivo**”;

3. Onde os laboratórios **indicaram corretamente** a ausência de *Salmonella* spp. o resultado foi considerado: “**Negativo**”;
4. Onde os laboratórios **indicaram erroneamente** a ausência de *Salmonella* spp. o resultado foi considerado: “**Falso Negativo**”.

Os resultados relatados pelos laboratórios também foram avaliados quanto à sua especificidade, sensibilidade e exatidão, como proposto por Greenhalgh (1997). O laboratório teve o seu desempenho considerado “satisfatório” quando obteve o valor de especificidade, sensibilidade e exatidão de 100%.

As fórmulas para o cálculo dos parâmetros de especificidade, sensibilidade e exatidão estão descritas abaixo:

$$\text{Especificidade} = \left(\frac{\text{Negativo}}{\text{Negativo} + \text{Falso_Negativo}} \right) \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Sensibilidade} = \left(\frac{\text{Positivos}}{\text{Positivo} + \text{Falso_Positivo}} \right) \times 100 \quad (2)$$

$$\text{Exatidão} = \left(\frac{\text{Positivo} + \text{Negativo}}{\text{Positivo} + \text{Negativo} + \text{Falso_Positivo} + \text{Falso_Negativo}} \right) \times 100 \quad (3)$$

4.2. Valores Designados

A composição de cada um dos itens de ensaio enviados aos participantes foi de conhecimento exclusivo da coordenação do EP.

5. Resultados da Avaliação da Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio

5.1. Avaliação da Homogeneidade

Os resultados dos testes de homogeneidade realizados com os itens de ensaio dos lotes de *Salmonella* spp. e *Citrobacter freundii* estão demonstrados na [Tabela 1](#). Para cada item de ensaio foram realizadas duas análises completas produzindo dois resultados (A e B).

Tabela 1: Dados gerados no teste de homogeneidade, em UFC.mL⁻¹.

Item de Ensaio	Lote de <i>Salmonella</i> spp.						Lote de <i>Citrobacter freundii</i>					
	Contagem		Log ₁₀		Resultado		Contagem		Log ₁₀		Resultado	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
1	1470	1060	3,17	3,03	+	+	1040	1000	3,02	3,00	+	+
2	1840	1310	3,26	3,12	+	+	1000	900	3,00	2,95	+	+
3	1630	1330	3,21	3,12	+	+	1030	1030	3,01	3,01	+	+
4	1180	920	3,07	2,96	+	+	1060	1010	3,03	3,00	+	+
5	1070	910	3,03	2,96	+	+	1390	1160	3,14	3,06	+	+
6	1200	800	3,08	2,90	+	+	1110	900	3,05	2,95	+	+
7	1340	520	3,13	2,72	+	+	950	900	2,98	2,95	+	+
8	1380	870	3,14	2,94	+	+	900	860	2,95	2,93	+	+
9	1290	950	3,11	2,98	+	+	1150	1080	3,06	3,03	+	+
10	820	810	2,91	2,91	+	+	1320	1130	3,12	3,05	+	+
11	1000	670	3,00	2,83	+	+	1350	1270	3,13	3,10	+	+
12	1590	1370	3,20	3,14	+	+	1000	1000	3,00	3,00	+	+
13	1060	1050	3,03	3,02	+	+	950	920	2,98	2,96	+	+
14	730	530	2,86	2,72	+	+	1050	1000	3,02	3,00	+	+
15	660	600	2,82	2,78	+	+	1150	1000	3,06	3,00	+	+
16	740	690	2,87	2,84	+	+	980	950	2,99	2,98	+	+
17	540	530	2,73	2,72	+	+						
18	740	640	2,87	2,81	+	+						
19	960	760	2,98	2,88	+	+						
20	570	560	2,76	2,75	+	+						
21	610	530	2,79	2,72	+	+						

“+” = Positivo

Podemos observar que **TODOS** os itens de ensaio do lote contendo apenas *Salmonella* spp. apresentaram resultados **positivos**, indicando a presença da bactéria. Desta forma, os itens de ensaio são considerados suficientemente homogêneos para a finalidade deste Ensaio de Proficiência.

5.2. Avaliação da Estabilidade

No decorrer do EP, foram avaliadas as flutuações temporais na concentração de *Salmonella* spp. e *Citrobacter freundii*, nas temperaturas de referência (-70oC) e de armazenamento (-20°C). Os resultados da estabilidade de longa duração estão apresentados na Tabelas 2 e 3. A influência da temperatura nas condições de transporte também foi estudada por 4 dias (Tabelas 4 e 5). Estas avaliações foram realizadas utilizando-se a análise de resíduos da regressão linear.

Tabela 2: Estabilidade do lote de *Salmonella* spp. nas temperaturas de referência (-70°C) e de armazenamento (-20°C).

Lote de <i>Salmonella</i> spp.					
Dias	Referência		Dias	Armazenamento	
	Replicata A	Replicata B		Replicata A	Replicata B
0	Positivo	Positivo	0	Positivo	Positivo
28	Positivo	Positivo	7	Positivo	Positivo
42	Positivo	Positivo	13	Positivo	Positivo
70	Positivo	Positivo	21	Positivo	Positivo
98	Positivo	Positivo	28	Positivo	Positivo
127	Positivo	Positivo	42	Positivo	Positivo
152	Positivo	Positivo			
182	Positivo	Positivo			

Tabela 3: Estabilidade do lote de *Citrobacter freundii* nas temperaturas de referência (-70°C) e de armazenamento (-20°C).

Lote de <i>Citrobacter freundii</i>					
Dias	Referência		Dias	Armazenamento	
	Replicata A	Replicata B		Replicata A	Replicata B
0	Positivo	Positivo	0	Positivo	Positivo
14	Positivo	Positivo	7	Positivo	Positivo
28	Positivo	Positivo	14	Positivo	Positivo
41	Positivo	Positivo	21	Positivo	Positivo
70	Positivo	Positivo	28	Positivo	Positivo
			37	Positivo	Positivo

Tabela 4: Estabilidade do lote de *Salmonella* spp. nas temperaturas de transporte.

Lote de <i>Salmonella</i> spp.				
Dias	(4°C)		(35°C)	
	Replicata A	Replicata B	Replicata A	Replicata B
0	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
1	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
2	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
3	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
4	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo

Tabela 5: Estabilidade do lote de *Citrobacter freundii* nas temperaturas de transporte.

Lote de <i>Citrobacter freundii</i> .				
Dias	(4°C)		(35°C)	
	Replicata A	Replicata B	Replicata A	Replicata B
0	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
1	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
2	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
3	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
4	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo

Considerando os resultados obtidos nos estudos de estabilidade podemos concluir que os itens de ensaio contendo apenas *Salmonella* spp. permaneceram estáveis na temperatura de referência durante todo o tempo do ensaio de proficiência, e que podem ser armazenados com segurança a -20°C por até 42 dias. É possível concluir ainda que os itens de ensaio podem ser transportados à temperatura de 35°C por no máximo 4 dias.

O lote preparado apenas com *Citrobacter freundii* também pode ser considerado estável nas temperaturas de referência e armazenamento, entretanto mostrou-se instável durante o estudo de curta duração a partir do primeiro dia do estudo na temperatura de 35°C. Contudo, a instabilidade dos itens de ensaio contendo *Citrobacter freundii* pode ser considerada irrelevante, visto que a bactéria foi utilizada como controle negativo para *Salmonella* spp.

Os resultados dos testes de homogeneidade e estabilidade realizados com os itens de ensaio do lote de *Escherichia coli* estão apresentados no Relatório Final da Rodada de EP MIB 20/15, que se encontra disponível em: <https://www.incqs.fiocruz.br/ep>.

6. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes

6.1. Laboratórios Participantes

Vinte e quatro laboratórios se inscreveram no Ensaio de Proficiência em Microbiologia de Alimentos 18ª Rodada – Pesquisa de *Salmonella* spp. em Matriz Chocolate, e todos eles (100%) enviaram os resultados dentro do prazo estabelecido.

Entre os laboratórios que enviaram os resultados, apenas um (4,16%) é acreditado na norma [ISO/IEC 17025](#) e cinco laboratórios (20,8%) estão em processo de acreditação na norma citada.

Quanto à natureza, todos os laboratórios são governamentais, entre eles 20 Laboratórios Centrais de Saúde Pública, Lacens. A [Tabela 9](#) apresenta a listagem dos Laboratórios participantes.

6.2. Resultados dos Laboratórios Participantes

Os dados reportados pelos laboratórios do EP foram tratados de acordo com os procedimentos descritos na [ISO/IEC 17043](#). A [Tabela 6](#) apresenta os resultados dos laboratórios para as análises dos itens de ensaio e a metodologia empregada.

A [Tabela 7](#) apresenta os resultados esperados (VD) e relatados (VR) pelos laboratórios para a análise de cada item de ensaio, bem como o resultado final.

Tabela 6: Resultados por análise e metodologia empregada.

Código dos Laboratórios	Resultados								Metodologia ⁽¹⁾
	#	Relatado	#	Relatado	#	Relatado	#	Relatado	
MIB 18/007	30	-	34	-	52	+	76	+	Outros ⁽²⁾
MIB 18/008	3	-	42	-	72	+	87	+	APHA
MIB 18/016	11	-	32	+	43	+	71	+	APHA
MIB 18/018	38	-	46	+	50	-	88	+	APHA
MIB 18/035	4	-	27	+	86	-	104	+	AOAC
MIB 18/038	15	-	73	+	79	-	98	+	ISO 6579
MIB 18/044	25	+	45	-	70	-	95	+	APHA
MIB 18/046	14	-	67	-	85	+	97	+	APHA
MIB 18/048	35	+	36	+	61	+	62	-	Outros ⁽²⁾
MIB 18/056	22	-	39	+	80	+	94	+	APHA
MIB 18/057	2	-	17	+	41	-	63	+	Outros ⁽²⁾
MIB 18/061	16	+	26	-	48	-	91	+	APHA
MIB 18/062	58	+	74	-	83	+	100	+	ISO 6579
MIB 18/065	23	-	49	+	54	-	112	+	FDA
MIB 18/079	8	-	29	+	55	-	77	+	APHA
MIB 18/084	5	-	47	-	82	+	93	+	APHA
MIB 18/085	7	-	28	-	64	+	99	+	APHA
MIB 18/089	20	-	21	-	37	+	96	+	APHA
MIB 18/099	13	+	51	-	75	+	89	+	FDA
MIB 18/108	9	-	56	-	57	+	92	+	FDA
MIB 18/125	10	-	19	-	84	+	108	+	APHA
MIB 18/129	6	-	12	+	44	+	59	-	FDA
MIB 18/137	31	-	40	-	68	+	101	+	APHA
MIB 18/148	1	-	24	+	33	-	78	+	Outros ⁽²⁾

= Número do item de ensaio; “+” = Positivo; “-” = Negativo

(1) APHA → AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION - *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, 3rd, 1992, 4th, 2001.

FDA/BAM → Chapter 5. Bacteriological Analytical Manual (BAM), 2007, 2011.

ISO 6579 → Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the detection of *Salmonella* spp.; ISO 6579:2002/Amd 1:2007.

(2) AOAC 2011.3 → Detection of *Salmonella* by the VIDAS® Easy *Salmonella* Assay (EasySLM) with ChromID™ *Salmonella* (SM2) Agar in a Variety of Foods. 19th ed., 2012.

MMAMAA → da Silva, N.; Junqueira, V. C. A.; Silveira, N. F.A.; *Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água* – 4th, 2010.

ISO 6887-4:2003 → Microbiology of food and animal feeding stuffs -- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination -- Part 4: Specific rules for the preparation of products other than milk and milk products, meat and meat products, and fish and fishery products. ISO 6887-4:2003/Cor 1:2004.

Tabela 7: Valor designado (VD), valor relatado (VR) e resultado final.

Código dos Laboratórios	Resultados															
	#	VD	VR	Resultado	#	VD	VR	Resultado	#	VD	VR	Resultado	#	VD	VR	Resultado
MIB 18/007	30	-	-	Negativo	34	-	-	Negativo	52	+	+	Positivo	76	+	+	Positivo
MIB 18/008	3	-	-	Negativo	42	-	-	Negativo	72	+	+	Positivo	87	+	+	Positivo
MIB 18/016	11	-	-	Negativo	32	+	+	Positivo	43	-	+	Falso (+)	71	+	+	Positivo
MIB 18/018	38	-	-	Negativo	46	+	+	Positivo	50	-	-	Negativo	88	+	+	Positivo
MIB 18/035	4	-	-	Negativo	27	+	+	Positivo	86	-	-	Negativo	104	+	+	Positivo
MIB 18/038	15	-	-	Negativo	73	+	+	Positivo	79	-	-	Negativo	98	+	+	Positivo
MIB 18/044	25	+	+	Positivo	45	-	-	Negativo	70	-	-	Negativo	95	+	+	Positivo
MIB 18/046	14	-	-	Negativo	67	-	-	Negativo	85	+	+	Positivo	97	+	+	Positivo
MIB 18/048	35	+	+	Positivo	36	-	+	Falso (+)	61	+	+	Positivo	62	-	-	Negativo
MIB 18/056	22	-	-	Negativo	39	-	+	Falso (+)	80	+	+	Positivo	94	+	+	Positivo
MIB 18/057	2	-	-	Negativo	17	+	+	Positivo	41	-	-	Negativo	63	+	+	Positivo
MIB 18/061	16	+	+	Positivo	26	-	-	Negativo	48	-	-	Negativo	91	+	+	Positivo
MIB 18/062	58	-	+	Falso (+)	74	-	-	Negativo	83	+	+	Positivo	100	+	+	Positivo
MIB 18/065	23	-	-	Negativo	49	+	+	Positivo	54	-	-	Negativo	112	+	+	Positivo
MIB 18/079	8	-	-	Negativo	29	+	+	Positivo	55	-	-	Negativo	77	+	+	Positivo
MIB 18/084	5	-	-	Negativo	47	-	-	Negativo	82	+	+	Positivo	93	+	+	Positivo
MIB 18/085	7	-	-	Negativo	28	-	-	Negativo	64	+	+	Positivo	99	+	+	Positivo
MIB 18/089	20	-	-	Negativo	21	-	-	Negativo	37	+	+	Positivo	96	+	+	Positivo
MIB 18/099	13	+	+	Positivo	51	-	-	Negativo	75	-	+	Falso (+)	89	+	+	Positivo
MIB 18/108	9	-	-	Negativo	56	-	-	Negativo	57	+	+	Positivo	92	+	+	Positivo
MIB 18/125	10	-	-	Negativo	19	-	-	Negativo	84	+	+	Positivo	108	+	+	Positivo
MIB 18/129	6	-	-	Negativo	12	+	+	Positivo	44	+	+	Positivo	59	-	-	Negativo
MIB 18/137	31	-	-	Negativo	40	-	-	Negativo	68	+	+	Positivo	101	+	+	Positivo
MIB 18/148	1	-	-	Negativo	24	+	+	Positivo	33	-	-	Negativo	78	+	+	Positivo

= Número do item de ensaio

"+" = Positivo; "-" = Negativo

Falso (+) = Falso Positivo = resultado não-conforme

Entre os 24 participantes, cinco laboratórios apresentaram resultado final **FALSO POSITIVO** para um dos quatro itens de ensaio analisados (#36, #39, #43, #58 e #75). Todos os outros laboratórios tiveram os valores relatados concordantes com os valores designados.

6.3. Avaliação dos Laboratórios Participantes

A avaliação de desempenho dos laboratórios participantes, expressa através da especificidade, da sensibilidade e da exatidão, está apresentada na [Tabela 8](#).

Tabela 8: Especificidade (%), sensibilidade (%), exatidão (%) e desempenho do laboratório.

Código dos Laboratórios	Resultados			
	Especificidade	Sensibilidade	Exatidão	Desempenho
MIB 18/007	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/008	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/016	100,0	66,7	75,0	NÃO PROFICIENTE
MIB 18/018	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/035	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/038	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/044	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/046	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/048	100,0	66,7	75,0	NÃO PROFICIENTE
MIB 18/056	100,0	66,7	75,0	NÃO PROFICIENTE
MIB 18/057	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/061	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/062	100,0	66,7	75,0	NÃO PROFICIENTE
MIB 18/065	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/079	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/084	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/085	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/089	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/099	100,0	66,7	75,0	NÃO PROFICIENTE
MIB 18/108	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/125	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/129	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/137	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 18/148	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE

Dezenove laboratórios (79,16%) tiveram seu desempenho considerado **PROFICIENTE**, pois alcançaram 100% de especificidade, sensibilidade e exatidão. Cinco laboratórios apresentaram o resultado **NÃO PROFICIENTE**.

Lembramos que o Ensaio de Proficiência é apenas um indicativo do desempenho do laboratório, cabendo a cada laboratório participante fazer a sua interpretação e implementar as ações corretivas, caso necessário.

7. Conclusões e Comentários

A análise dos dados obtidos neste EP sugere:

- O número de laboratórios inscritos neste ensaio de proficiência totalizou vinte e quatro, e todos eles (100%) encaminharam os resultados até a data prevista no protocolo;
- O desempenho dos laboratórios pode ser considerado satisfatório, visto que apenas cinco laboratórios apresentaram resultado Falso Positivo;
- O *Formulário de Registro de Resultados* foi encaminhado pelos laboratórios participantes e a maioria foi preenchida de forma adequada;
- 13 (54,16%) dos laboratórios participantes utilizaram como metodologia de escolha *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, APHA, enquanto os outros laboratórios utilizaram metodologias diversas para a análise;
- Para o laboratório que obteve resultado insatisfatório, ações corretivas podem ser adotadas para o aprimoramento das suas medições. Uma avaliação detalhada, desde o recebimento do material e seu armazenamento, até o preenchimento do *Formulário para Registro dos Resultados*, e a avaliação de todos os passos da metodologia de análise, será importante para a identificação dos pontos críticos.

Finalmente, é importante ressaltar que o estabelecimento de ações corretivas e a contínua participação em ensaios de proficiência desta natureza são ferramentas de grande contribuição para o aprimoramento das medições realizadas pelos laboratórios.

8. Confidencialidade

Os resultados deste Ensaio de Proficiência são confidenciais, isto é, cada laboratório é identificado por código individual conhecido apenas pelo participante da rodada e pela Coordenação deste Ensaio de Proficiência. Os resultados obtidos neste EP poderão ser utilizados em trabalhos e publicações do provedor mantendo a confidencialidade dos laboratórios participantes.

9. Referências Bibliográficas

ABICAB (Associação Brasileira da Indústria de Chocolates, Cacau, Amendoim, Balas e Derivados), 2013. Disponível em: <http://www.abicab.org.br/associado-chocolate-e-cacau/noticias-chocolate/brasileiro-ama-chocolate/>. Acesso em: 4 de maio de 2014.

ABNT ISO/IEC 17025. Requisitos Gerais para a Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração, Associação Brasileira de Normas Técnicas, **2005**.

ABNT ISO/IEC 17043. Avaliação de Conformidade — Requisitos Gerais Para Ensaios de Proficiência, Associação Brasileira de Normas Técnicas, **2011**.

ABNT ISO GUIA 35. Materiais de Referência — Princípios Gerais e Estatísticos para Certificação, Associação Brasileira de Normas Técnicas, **2012**.

BRASIL. Resolução RDC nº 12 de 2 de janeiro de 2001. Aprova o Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos e seus anexos I e II. Diário Oficial [da República Federativa do Brasil], Brasília, n. 7-E, p.45, 10 jan. **2001**. Seção 1.

CEPLAC. Comissão Executiva do Plano de Lavoura Cacaueira. Disponível em: <http://www.ceplac.gov.br/radar/radar_cacau.htm>. Acesso em: 01 de setembro 2014.

Greenhalgh, T. “How to Read a Paper - Papers That Reports Diagnostic or Screening Tests”. BMJ, v315, p.540 -3, 1997.

Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Vocabulário Internacional de Metrologia: Conceitos Fundamentais e Gerais e Termos Associados (VIM 2012). Edição Luso-Brasileira. Rio de Janeiro, 2012.

Kornachi, J.L.; Johnson, J.L. Enterobacteriaceae, Coliformes and Escherichia coli as Quality and Safety Indicators. In: Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food, 4º ed., 2001. Washington, D.C.: APHA – Chapter 8, p. 69-82.

Lambert, A., Schimmel, H., Pauwels, J., “The study of the stability of reference materials by isochronous measurements”, Fresenius J. Anal. Chemistry, 360 (1997), pp 359-361.

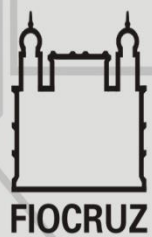
10. Laboratórios Participantes

A lista dos laboratórios que enviaram os resultados à coordenação do Programa é apresentada na [Tabela 9](#).

Tabela 9: Laboratórios participantes do Ensaio de Proficiência em Microbiologia de Alimentos 18ª Rodada – Pesquisa de *Salmonella* spp. em Matriz Chocolate.

Laboratórios Participantes
Centro de Laboratório Regional – Instituto Adolfo Lutz – Bauru CLR – IAL – Bauru II
Centro de Laboratório Regional – Instituto Adolfo Lutz – IAL Núcleo de Microbiologia
Centro de Laboratório Regional – Instituto Adolfo Lutz de Ribeirão Preto VI Núcleo de Ciências Químicas e Bromatológicas – Laboratório de Microbiologia de Alimentos
Centro de Laboratório Regional – Instituto Adolfo Lutz de Santo André VIII Microbiologia Alimentar - NCQB
Centro de Laboratório Regional XII – Taubaté Laboratório de Microbiologia Alimentar
Instituto Adolfo Lutz – Santos Laboratório de Microbiologia Alimentar
Laboratório Central de Pernambuco - LACEN - PE
Laboratório Central de Saúde Pública – FVS - LACEN – AM
Laboratório Central de Saúde Pública – LACEN – AC Divisão de Produtos – Laboratório de Microbiologia
Laboratório Central de Saúde Pública – LACEN – AL
Laboratório Central de Saúde Pública – LACEN – CE
Laboratório Central de Saúde Pública – LACEN – MG Fundação Ezequiel Dias – Laboratório de Microbiologia de Alimentos
Laboratório Central de Saúde Pública – LACEN – MT Microbiologia de Alimentos
Laboratório Central de Saúde Pública – LACEN – SC Setor de Microbiologia de Alimentos - MICRA
Laboratório Central de Saúde Pública do Tocantins - LACEN – TO
Laboratório Central do Estado do Pará – LACEN – PA Setor de Microbiologia de Alimentos
Laboratório Central do Estado do Paraná – LACEN – PR Seção de Microbiologia de Alimentos
Laboratório Central Dr. Almino Fernandes – LACEN - RN
Laboratório Central Noel Nutels – LACEN – RJ Microbiologia de Alimentos
Laboratório de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros - LACEN - GO
Prefeitura de Belo Horizonte – Secretaria Municipal de Saúde Laboratório de Bromatologia/GERSA – CS/SMSA/PBH
Prefeitura do Município de São Paulo Secretaria Municipal de Saúde – Coordenação de Vigilância em Saúde (COVISA)
Prefeitura Municipal de Guarulhos Laboratório Municipal de Saúde Pública Dr. Jefferson de Araújo
SUBVISA – Laboratório de Controle de Produtos Laboratório de Controle de Produtos

- Total de participantes: 24 laboratórios
- O código de cada participante **não** está associado à ordem da lista de participantes.



FIOCRUZ - Fundação Oswaldo Cruz
INCQS - Instituto Nacional de Controle da Qualidade em Saúde

Av. Brasil 4365 • Manguinhos • CEP 21040 900
Rio de Janeiro • RJ • Brasil
www.incqs.fiocruz.br