

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

**Ensaio de Proficiência em Microbiologia  
de Alimentos 39ª Rodada –  
Contagem de Estafilococos Coagulase  
Positiva em Leite**

**EP MIB 39/21**



Ministério da Saúde

**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz



**INCQS**



**Ensaio de Proficiência em Microbiologia de Alimentos 39ª Rodada –  
Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva em Leite**

**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

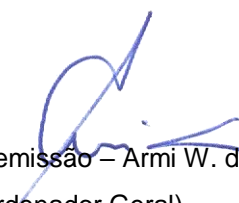
**- COMITÊ TÉCNICO**

Jéssica Soldani Couto

Katarine Coutinho Silva

Nathalia Gonçalves Santos Caldeira

Silvia Maria dos Reis Lopes

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

## SUMÁRIO

1. Introdução.....	3
2. Objetivos.....	3
3. Produção dos Itens de Ensaio .....	4
3.1. Escolha da Matriz .....	4
3.2. Preparo dos Itens de Ensaio .....	4
3.3. Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio .....	4
3.4. Armazenamento e Envio dos Itens de Ensaio .....	4
3.5. Recebimento do Itens de Ensaio .....	5
3.6. Análise dos Itens de Ensaio .....	5
4. Tratamento dos Resultados .....	5
4.1 Valor Designado ( $\bar{x}^*$ ) e suas Incertezas ( $u_{x^*}$ ).....	5
4.2 Desvio Padrão para Avaliação de Proficiência .....	5
4.3 Índice z.....	5
5. Resultados da Avaliação da Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio .....	6
6. Atribuição do Valore Designado.....	6
7. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes.....	7
7.1. Laboratórios Participantes.....	7
7.2. Resultados dos Laboratórios Participantes .....	7
7.3. Cálculo do Índice z' .....	9
8. Conclusões e Comentários .....	11
9. Confidencialidade .....	11
10. Referências Bibliográficas.....	12
11. Laboratórios Participantes.....	13

## 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, no âmbito 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 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 (Lacen). 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 e de água é fundamental para o aumento da confiabilidade dos resultados das medições realizadas, trazendo maior confiabilidade aos resultados emitidos.

Visando à promoção da saúde e à competitividade da indústria nacional, o INCQS promoveu o Ensaio de Proficiência em Microbiologia de Alimentos 39ª Rodada – Contagem de Estafilococos Coagulse Positiva em Leite - seguindo as diretrizes da [ABNT ISO/IEC 17043](#). Os resultados da avaliação de desempenho dos laboratórios participantes estão neste relatório.

## 2. Objetivos

O objetivo deste Ensaio de Proficiência é fornecer aos laboratórios participantes uma ferramenta efetiva para verificar sua competência no ensaio de Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva em Leite, 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 das normas [ABNT ISO/IEC 17043](#) e [ABNT ISO/IEC 17025](#).

#### **3.1. Escolha da Matriz**

A matriz leite foi selecionada para este EP por ser um alimento de elevado consumo pela população brasileira, principalmente por crianças e idosos.

#### **3.2. Preparo dos Itens de Ensaio**

Para este EP foi preparado um lote de item de ensaio. Foi utilizada uma cepa de *Staphylococcus aureus* identificada como P6881 e depositada na “Coleção de Pesquisa de Micro-organismos de Referência do INCQS/FIOCRUZ”.

#### **3.3. Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio**

Vinte e dois itens de ensaio foram separados, aleatoriamente, para o teste de homogeneidade. Após a reconstituição e homogeneização do líofilo, foram preparadas diluições decimais e analisadas sob condições de repetitividade.

Foi realizado o estudo de estabilidade de longa duração (referência e armazenamento).

A avaliação da homogeneidade foi realizada utilizando o procedimento descrito no Protocolo Harmonizado e a avaliação das estabilidades o procedimento descrito na ISO GUIA 35.

#### **3.4. Armazenamento e Envio dos Itens de Ensaio**

Os frascos foram armazenados em *ultrafreezer* ( $\leq -70^{\circ}\text{C}$ ) até o momento em que foram enviados aos laboratórios participantes.

Para cada laboratório inscrito no Ensaio de Proficiência em Microbiologia de Alimentos 39ª Rodada – Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva em Leite - foi enviado 1 (um) frasco contendo o micro-organismo liofilizado. O item foi lacrado e identificado com as seguintes informações: o número da rodada, o item a ser ensaiado e o código da amostra.

O frasco foi enviado aos laboratórios por via aérea, acondicionado 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, por meio do formulário de **“Instruções para Armazenamento e Preparo dos Itens de Ensaio”**, disponibilizado no site do INCQS/EP.

### 3.5. Recebimento dos Itens de Ensaio

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

### 3.6. Análise dos Itens de Ensaio

Os laboratórios participantes foram orientados a realizar a análise para contagem de Estafilococos Coagulse Positiva segundo a metodologia empregada no laboratório e expressar os resultados em **UFC.g<sup>-1</sup>**. Os resultados analíticos, bem como as informações sobre a metodologia e os meios de cultura utilizados foram encaminhados à Coordenação do Ensaio de Proficiência por meio do **“Formulário de Registro de Resultados”**.

## 4. Tratamento dos Resultados

### 4.1 Valor Designado ( $x^*$ ) e suas Incertezas ( $u_{x^*}$ )

As técnicas de estatística robusta são utilizadas para minimizar a influência de resultados extremos sobre as estimativas de média e desvio-padrão. Assim, a Coordenação deste Ensaio de Proficiência adotou como valores designados para a concentração do lote, aquele oriundo do cálculo da estatística robusta apresentado no Anexo C da norma [ISO 13528](#), norma específica de métodos estatísticos para uso em EP por comparações interlaboratoriais. Seguindo os critérios desta norma, os valores designados foram obtidos pela média robusta dos resultados emitidos por todos os laboratórios participantes.

### 4.2 Desvio Padrão para Avaliação de Proficiência

Nesta rodada de EP o desvio padrão para avaliação de proficiência dos laboratórios participantes foi calculado como recomendado no item 7.6 da norma [ISO 13528](#), isto é, **a partir do desvio** padrão robusto calculado **a partir dos** resultados dos participantes, usando o algoritmo A do anexo C desta norma. **Contudo, caso este valor fosse superior ao estipulado no protocolo da rodada, critério 6 do item 12, este último seria o utilizado.**

### 4.3 Índice z

Para a qualificação dos resultados dos laboratórios, o índice z (z-score, medida da distância relativa do resultado da medição do laboratório em relação ao valor designado do ensaio de proficiência) foi calculado de acordo com a Equação 1.

$$z = \frac{x_i - x^*}{s^*} \quad (1)$$

Onde  $x_i$  representa o valor do laboratório participante,  $x^*$  representa o valor designado (média robusta) e  $s^*$  o desvio padrão robusto.

A interpretação do valor do **índice z** está descrita abaixo:

- $|z| \leq 2$  - Resultado satisfatório
- $2 < |z| < 3$  - Resultado questionável
- $|z| \geq 3$  - Resultado insatisfatório

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

Os ensaios da avaliação da homogeneidade e do estudo da estabilidade foram realizados a partir de análises quantitativas, verificando a concentração de células diretamente do líofilo, sendo os resultados expressos em UFC.g<sup>-1</sup>.

Os resultados destes dois estudos demonstraram que o lote de *Staphylococcus aureus* apresentou-se homogêneo e estável para a presença deste micro-organismo.

## 6. Atribuição do Valore Designado

O valor designado, o seu respectivo desvio padrão e incertezas, estão apresentados na [Tabela 1](#). Em vermelho os valores utilizado para a avaliação dos laboratórios.

Tabela 1: Valor designado ( $x^*$ ), desvio padrão ( $s^*$ ), incertezas do valor designado ( $\text{Log}_{10}$  UFC.g<sup>-1</sup>).

	$x^*$	$s^*$	$u_c$	$k$	$U$	$s^*_{(EP)}$	$s'_{(EP)}$
<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>6,880</b>	<b>0,261</b>	0,090	2,23	<b>0,20</b>	<b>0,25</b>	<b>0,27</b>

\* Como  $s^*$  foi maior que 0,25, será utilizado este último valor como desvio padrão para o EP,  $s_{(EP)}$ .

A incerteza do valor designado não pode ser negligenciada visto que não atende ao critério de ser menor que  $0,3 \cdot s^*_{(EP)}$ , assim, esta incerteza será somada ao desvio padrão alvo e os laboratórios serão avaliados em função do  $z'$ . A fórmula do  $z'$  bem como os critérios de avaliação estão descritos abaixo:

$$z' = \frac{x_i - x^*}{s'_{(EP)}} \quad (2)$$

Onde  $x_i$  representa o valor do laboratório participante,  $x^*$  representa o valor designado (média robusta) e  $s'_{(EP)}$  o desvio padrão para o ensaio de proficiência.

$$\text{Sendo: } s'_{(EP)} = \sqrt{(s^*_{(EP)})^2 + (u_c)^2} \quad (3)$$

A interpretação do valor do **índice z'** está descrita abaixo:

- $|z'| \leq 2$  - Resultado satisfatório
- $2 < |z'| < 3$  - Resultado questionável
- $|z'| \geq 3$  - Resultado insatisfatório

## 7. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes

### 7.1. Laboratórios Participantes

Dezesseis laboratórios se inscreveram no Ensaio de Proficiência em Microbiologia de Alimentos 39ª Rodada – Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva em Leite. Quinze (93,4%) enviaram os resultados dentro do prazo estabelecido.

Entre os laboratórios que enviaram os resultados, dois (13,3%) são acreditados na norma [ISO/IEC 17025](#) e um laboratório (6,7 %) encontra-se em processo de acreditação na norma citada.

Quanto à natureza dos laboratórios, quatorze (93,3%) são governamentais, sendo que todos são Laboratórios Centrais de Saúde Pública – Lacens ou laboratórios vinculados às Vigilâncias Sanitárias municipais. Um laboratório privado completa a lista de participantes. A [Tabela 4](#) apresenta a listagem dos laboratórios participantes.

### 7.2. 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 2](#) apresenta os resultados e a metodologia empregada.

O gráfico da dispersão dos resultados encontra-se na [Figura 1](#). Neste gráfico, a linha central representa o valor designado e as linhas pontilhadas o intervalo da incerteza expandida (U) do valor designado.

Tabela 2: Resultados por análise e metodologia empregada.

Código dos laboratórios	<i>Staphylococcus aureus</i>		Metodologias <sup>1</sup>
	Item #	Resultado (UFC.g <sup>-1</sup> )	
MIB 39/217	202	5,2 x 10 <sup>6</sup>	APHA
MIB 39/218	207	> 3,0 x 10 <sup>7</sup>	APHA
MIB 39/219	218	3,6 x 10 <sup>7</sup>	Não Informada
MIB 39/226	212	5,6 x 10 <sup>6</sup>	APHA
MIB 39/235	213	< 1,0 x 10 <sup>2</sup>	APHA
MIB 39/246	216	4,0 x 10 <sup>6</sup>	APHA
MIB 39/247	219	8,6 x 10 <sup>6</sup>	APHA
MIB 39/248	220	11,4 x 10 <sup>5</sup>	Outros
MIB 39/257	201	1,13 x 10 <sup>7</sup>	APHA
MIB 39/263	215	7,2 x 10 <sup>6</sup>	APHA
MIB 39/266	203	27,82 x 10 <sup>6</sup>	Outros
MIB 39/267	208	9,4 x 10 <sup>6</sup>	APHA
MIB 39/276	210	5,7 x 10 <sup>6</sup>	APHA
MIB 39/297	214	7,2 x 10 <sup>6</sup>	APHA
MIB 39/299	209	8,3 x 10 <sup>6</sup>	APHA

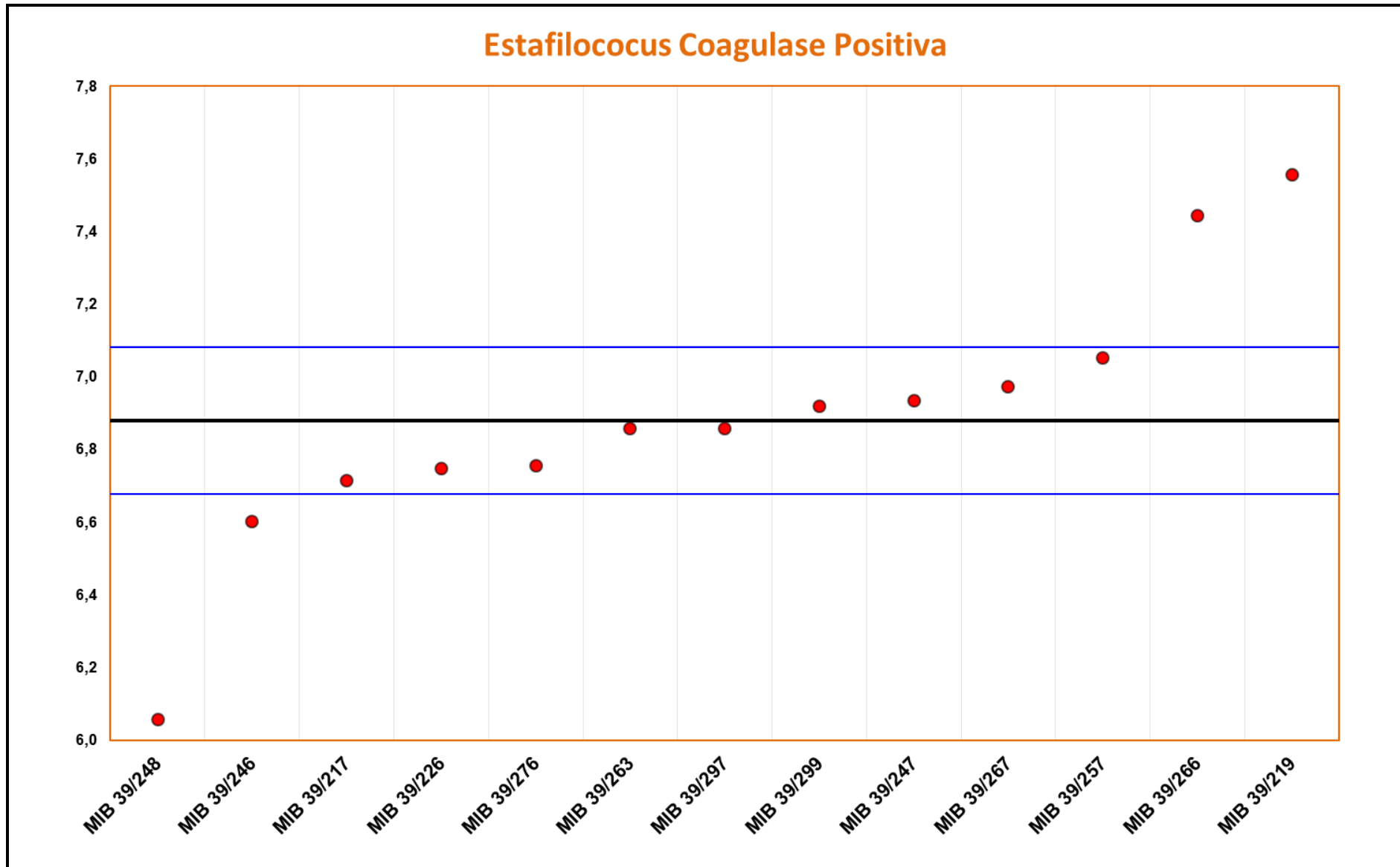
(1) APHA<sup>®</sup> → Compendium of Methods for the microbiological examination of foods. Chapter: 39 Staphylococcus aureus and Staphylococcal enterotoxins. 5<sup>ed.</sup> Washington, D.C., 2015; 4<sup>th</sup> edition, 2001.

Outros:

Manual de Microbiologia de Alimentos de Regina Silva Siqueira - EMBRAPA - 1995; Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água de Neusely da Silva e outros - 4ª edição – 2010; e Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e Água - Ital



Figura 1: Dispersão dos resultados: *Staphylococcus aureus*



### 7.3. Cálculo do Índice z'

A avaliação de desempenho dos laboratórios participantes, expressa através do índice z' (Equação 1), está apresentada na [Tabela 3](#).

Tabela 3: Valores do índice z' obtidos pelos laboratórios participantes.

Código dos Laboratórios	Número do Item	Resultados (UFC.g <sup>-1</sup> )	Índice z'
MIB 39/217	202	5,2 x 10 <sup>6</sup>	-0,6
MIB 39/218	207	> 3,0 x 10 <sup>7</sup>	NC
MIB 39/219	218	3,6 x 10 <sup>7</sup>	2,5
MIB 39/226	212	5,6 x 10 <sup>6</sup>	-0,4
MIB 39/235	213	< 1,0 x 10 <sup>2</sup>	NC
MIB 39/246	216	4,0 x 10 <sup>6</sup>	-1,0
MIB 39/247	219	8,6 x 10 <sup>6</sup>	0,2
MIB 39/248	220	11,4 x 10 <sup>5</sup>	-3,0
MIB 39/257	201	1,13 x 10 <sup>7</sup>	0,6
MIB 39/263	215	7,2 x 10 <sup>6</sup>	0,0
MIB 39/266	203	27,82 x 10 <sup>6</sup>	2,1
MIB 39/267	208	9,4 x 10 <sup>6</sup>	0,3
MIB 39/276	210	5,7 x 10 <sup>6</sup>	-0,4
MIB 39/297	214	7,2 x 10 <sup>6</sup>	0,0
MIB 39/299	209	8,3 x 10 <sup>6</sup>	0,1

N.C. = Não calculado. Em **azul**, resultados questionáveis. Em **vermelho**, resultados insatisfatórios.

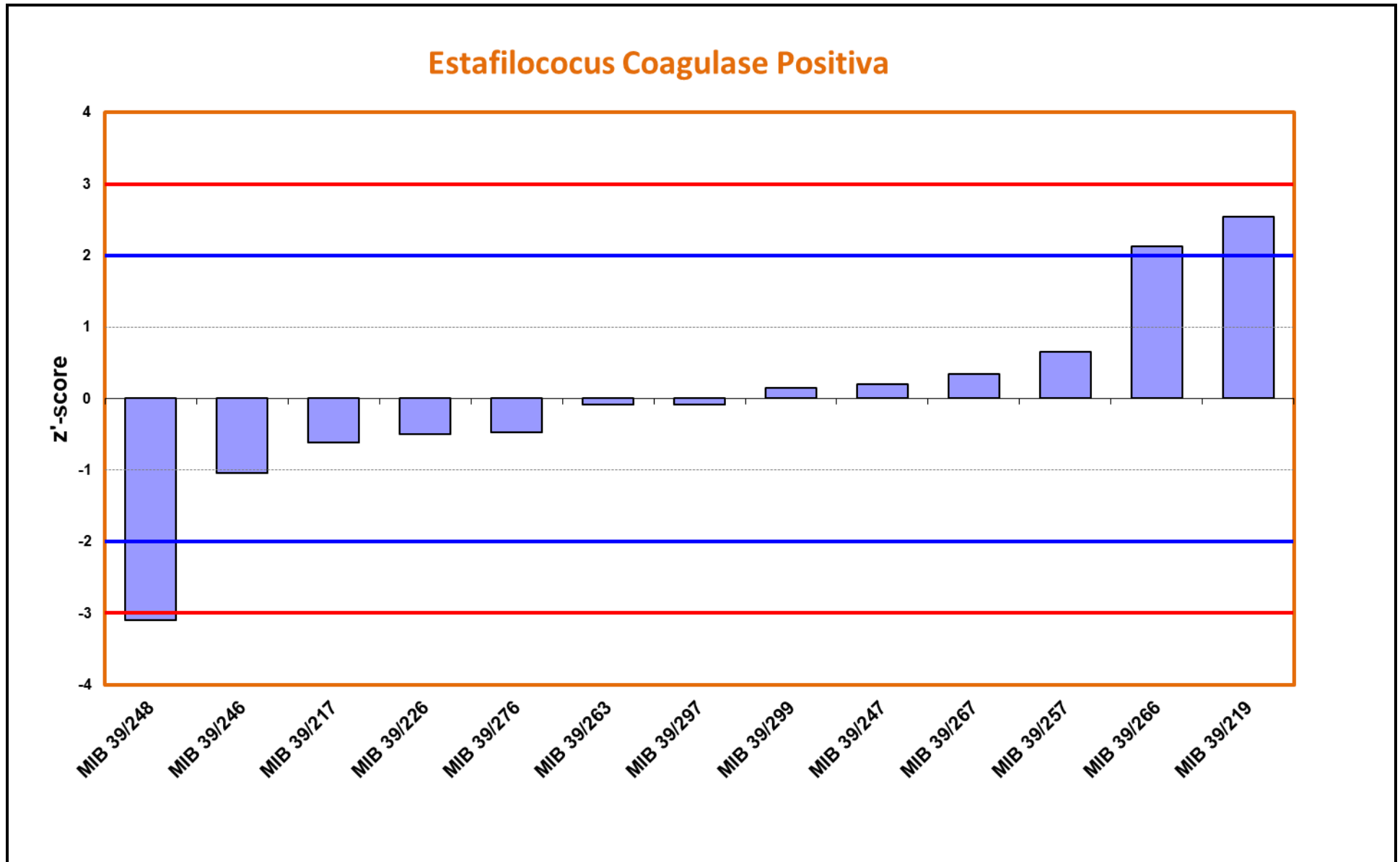
A [Figura 2](#) apresenta o resultado de índice z' obtido pelos laboratórios participantes para o item de ensaio. O índice z' foi calculado apenas para os laboratórios que enviaram resultados numéricos.

Os resultados reportados como “menor que 100” e “maior que 30.000.000” não foram considerados para o cálculo de z'-score e foram ambos considerados **insatisfatório** pois estavam fora do intervalo<sup>1</sup> de  $x^* \pm 2.s^*_{(EP)}$ , isto é, estavam além dos limites de z'-score satisfatórios ou questionáveis.

Lembramos que o **índice z'** é apenas um indicativo do desempenho do laboratório, cabendo a cada participante fazer a sua interpretação e implementar, caso necessário, as ações corretivas.

<sup>1</sup> Intervalo de  $2.s^*_{(EP)} 2,2 \times 10^6 - 1,4 \times 10^7$  UFC.g<sup>-1</sup>

Figura 2: Gráfico de z'-score: Estafilococos Coagulase Positiva (Item de Ensaio de menor #)



## 8. Conclusões e Comentários

A análise dos dados obtidos neste EP sugere:

- O número de laboratórios inscritos neste ensaio de proficiência totalizou dezesseis. Quinze (93,8%) encaminharam os resultados até a data prevista no protocolo;
- Dos quinze laboratórios que enviaram o resultado, dez (66,7%) atingiram o valor de índice  $z' \leq |2|$ , considerado **satisfatórios**, dois laboratórios foram considerados **questionáveis** e outros dois laboratórios tiveram ao menos um resultado **insatisfatório**;
- O *Formulário de Registro de Resultados* foi encaminhado pelos laboratórios participantes e a maioria foi preenchida de forma adequada;
- Doze (80,0 %) dos laboratórios participantes utilizaram como metodologia o *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, APHA, enquanto os outros utilizaram metodologias diferentes para a análise;
- Para os laboratórios que obtiveram resultados insatisfatórios ou questionáveis, ações corretivas podem ser adotadas para o aprimoramento das suas medições. Fatores importantes para a identificação dos pontos críticos vão desde uma avaliação detalhada do recebimento do material, de seu armazenamento, do preenchimento do *Formulário para Registro dos Resultados* e da avaliação da metodologia de análise.

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.

## 9. 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.

## 10. Referências Bibliográficas

ABNT ISO/IEC 17025. Requisitos Gerais para a Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração, Associação Brasileira de Normas Técnicas, **2017**.

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 — Guia para Caracterização e Avaliação da Homogeneidade e Estabilidade, Associação Brasileira de Normas Técnicas, **2020**.

BRASIL. Instrução Normativa N.º 60 de 23 de dezembro de 2019. Estabelece as listas de padrões microbiológico para alimentos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, n.249, p.133, 26 dez. **2019**. Seção1.

BRASIL. Resolução RDC n.º 331 de 23 de dezembro de 2019. Dispõe sobre os padrões microbiológicos de alimentos e sua aplicação. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, n.249, p.96, 26 dez. **2019**. Seção1.

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.

International Organization for Standardization – ISO 13528 - Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons, 2005.

The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories. Pure Appl. Chem; Vol. 78, No. 1, pp. 145–196, 2006.

## 11. Laboratórios Participantes

A lista dos laboratórios que enviaram os resultados à coordenação do Programa é apresentada na [Tabela 4](#).

Tabela 4: Laboratórios participantes do EP em Microbiologia de Alimentos 39ª Rodada – Contagem de Estafilococos Coagulase Positiva em Leite.

Laboratórios Participantes
BioQuality
Instituto Adolfo Lutz – Centro de Laboratório Regional de Bauru – Laboratório de Microbiologia de Alimentos
Instituto Adolfo Lutz – CLR IAL Sorocaba XI
Laboratório Central do Estado do Paraná – Unidade Alto da XV – Curitiba
Laboratório de Bromatologia – Secretaria Municipal de Belo Horizonte
Laboratório de Microbiologia de Águas e Alimentos – Lacen RS
Laboratório de Microbiologia de Alimentos
Laboratório de Microbiologia de Alimentos – Lacen BA
Laboratório Municipal de Saúde Pública Dr. Jeferson Ignacio de Araújo
Lacen – DF
Lacen – RJ
Núcleo de Ciências Químicas Bromatológicas – CLR – IAL – Araçatuba I
Seção de Análises Microbiológicas – Laboratório Central do Estado do Pará
Seção de Microbiologia de Alimentos – Lacen GO
Serviço de Microbiologia de Produtos do Lacen MG

- Total de participantes: 15 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](http://www.incqs.fiocruz.br)