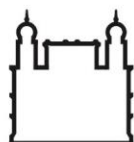


Ensaio de Proficiência em Produtos
Sujeitos ao Regime de Vigilância Sanitária
(EP/INCQS)

**Ensaio de Proficiência em Microbiologia
de Alimentos 42^a Rodada – Pesquisa de
Salmonella spp. em ovo**

EP MIB 42/22



Ministério da Saúde

FIUCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



INCQS



**Ensaio de Proficiência em Microbiologia de Alimentos 42ª Rodada –
Pesquisa de Salmonella spp. em ovo**

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

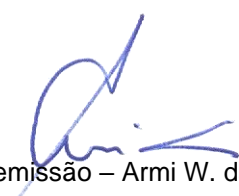
COMISSÃO ORGANIZADORA DA RODADA

- 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

Jessica Soldani Couto
Katarine Coutinho Silva
Marcielli Silva Almeida
Nathalia Gonçalves Santos Caldeira
Rodrigo Domingos Overa Tavares
Sílvia Maria dos Reis Lopes


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 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 Item de Ensaio	5
3.6. Análise dos Itens de Ensaio	5
4. Tratamento dos Resultados	5
4.1. Resultados das Medições dos Laboratórios	5
4.2. Valores de Referência (conhecidos)	6
5. Resultados da Avaliação da Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio	6
6. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes	6
6.1. Laboratórios Participantes	6
6.2. Resultados dos Laboratórios Participantes	7
Tabela 2: Valor conhecido (VC), valor relatado (VR) e resultado final.	8
6.3. Avaliação dos Laboratórios Participantes	9
Tabela 3: Especificidade (%), sensibilidade (%), exatidão (%) e desempenho do laboratório.	9
6.4. Comentários dos laboratórios participantes	9
7. Conclusões e Comentários	9
8. Confidencialidade	10
9. Referências Bibliográficas	10
10. Laboratórios Participantes	11

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 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 42ª Rodada – Pesquisa de *Salmonella* spp. em Ovo – 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 ovo, 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 ovo foi selecionada para este EP por ser um alimento de elevado consumo pela população brasileira, e por ser responsável por 213 surtos de Doenças Transmitidas por Alimentos (DTA) entre 2007 e 2019.

3.2. Preparo dos Itens de Ensaio

Para este EP foram utilizados dois lotes, preparados separadamente, de itens de ensaio distintos. Um dos lotes foi preparado exclusivamente com uma cepa de salmonela depositada na “Coleção de Pesquisa de Micro-organismos de Referência do INCQS/FIOCRUZ”, identificada como P5432 e outro lote foi produzido com uma cepa de *E. coli*, da mesma coleção do INCQS/FIOCRUZ, identificada como P4328.

3.3. Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio

Vinte itens de ensaio de cada um dos lotes preparados 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.

O critério utilizado foi presença ou ausência de *Salmonella* spp. no item de ensaio. Os itens foram considerados homogêneos ou estáveis quando **TODOS** os resultados apresentaram presença de *Salmonella* spp.

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 42^a Rodada – Pesquisa de *Salmonella* spp. em Ovo, 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. **Os laboratórios receberam combinações diferentes dos dois micro-organismos.**

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, por meio do formulário de “Instruções para Armazenamento e Preparo dos Itens de Ensaio”, disponibilizado no site do INCQS/EP.

3.5. 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”.

3.6. Análise dos Itens de Ensaio

Os laboratórios participantes foram orientados a realizar as análises para pesquisa de *Salmonella* spp. segundo a metodologia de trabalho empregada no laboratório.

Os resultados expressos como **presença** ou **ausência** de *Salmonella* spp., 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. Resultados das Medições dos Laboratórios

Os resultados encaminhados pelos laboratórios (Valor Relatado) foram comparados aos gabaritos do provedor do Ensaio de Proficiência (Valor Designado). A [Tabela 2](#) apresenta os valores designados e relatados de cada laboratório participante, para cada item de ensaio, bem como o resultado:

Foram adotados os seguintes critérios para o resultado:

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”¹ 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:

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

$$Sensibilidade = \left(\frac{Positivo}{Positivo+Falso\ Negativo} \right) \times 100 \quad (2)$$

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

Caso o laboratório participante não obtenha nenhum resultado **positivo** ou **negativo**, não será possível calcular a especificidade (no caso de nenhum valor negativo) ou a sensibilidade (no caso de nenhum valor positivo) mas sua avaliação final não será prejudicada.

4.2. Valores de Referência (Conhecidos)

Os valores de referência para este EP são os valores formulados e conhecidos pela CPEP. Assim, a composição de cada um dos itens de ensaio enviados aos participantes foi de conhecimento exclusivo da coordenação do EP e será denominado como Valor Conhecido.

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

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

O lote de *E. coli* não apresentou resultado positivo para a presença de salmonela.

Para maiores informações, consultar (Rosas, 2018).

6. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes

6.1. Laboratórios Participantes

Quatorze laboratórios se inscreveram no Ensaio de Proficiência em Microbiologia de Alimentos 42ª Rodada – Pesquisa de *Salmonella* spp. em ovo - e treze enviaram os resultados dentro do prazo estabelecido.

Entre os laboratórios que enviaram os resultados, três (23,1 %) estão em fase de acreditação na norma ISO/IEC 17025.

¹ Eventualmente, quando não foi possível calcular a especificidade pelo fato do laboratório receber somente itens contendo *Salmonella* spp., a avaliação do laboratório também foi considerada “satisfatória” caso atingisse 100% nos outros dois parâmetros.

Quanto à natureza dos laboratórios, doze (92,3 %) são laboratórios vinculados às Vigilâncias Sanitárias estaduais ou municipais. Um laboratório privado completa a lista de participantes. A [Tabela 4](#) 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 1](#) apresenta os resultados dos laboratórios para as análises dos itens de ensaio e as metodologias empregadas.

Tabela 1: Resultados por análise e metodologia empregada.

Código dos Laboratórios	Resultados								Metodologia ⁽¹⁾
	#	Relatado	#	Relatado	#	Relatado	#	Relatado	
MIB 42/004	19	+	35	+	37	-	57	-	AOAC
MIB 42/015	33	+	42	+	69	-	80	+	APHA
MIB 42/018	23	+	46	-	68	-	74	+	APHA
MIB 42/026	32	+	38	+	64	+	78	+	AOAC
MIB 42/028	31	+	34	+	48	-	55	-	Outros
MIB 42/049	27	+	53	-	60	-	72	+	APHA
MIB 42/063	02	+	09	+	15	+	22	+	APHA
MIB 42/078	12	+	29	-	51	-	76	+	APHA
MIB 42/079	25	+	63	+	67	+	77	-	APHA
MIB 42/080	26	+	43	-	52	-	70	+	APHA
MIB 42/092	11	+	24	+	65	-	66	+	Outros
MIB 42/095	05	+	18	+	49	-	71	+	AOAC
MIB 42/096	14	+	21	+	40	+	73	-	APHA

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

(1) APHA[®] → Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods: Salmonella. 5th ed. Washington, D.C; 2015; e 4th ed. Washington, D.C; 2001;

AOAC Official Method 2011.03 VIDAS Salmonella (SLM) Easy Salmonella Method. 19th ed. 2012.

Outros:

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual técnico de diagnóstico laboratorial de Salmonella spp.: diagnóstico laboratorial do gênero Salmonella;

FDA/BAM[®] → Food and Drugs Administration/Bacteriological Analytical Manual; Chapter 5. Salmonella. 2022.

A **Tabela 2** apresenta os resultados esperados (VC) e relatados (VR) pelos laboratórios para cada item de ensaio, bem como o resultado.

Tabela 2: Valor conhecido (VC), valor relatado (VR) e resultado.

Laboratórios	Resultados															
	#	VR	VC	Resultado	#	VR	VC	Resultado	#	VR	VC	Resultado	#	VR	VC	Resultado
MIB 42/004	19	+	+	POSITIVO	35	+	+	POSITIVO	37	-	-	NEGATIVO	57	-	-	NEGATIVO
MIB 42/015	33	+	+	POSITIVO	42	+	+	POSITIVO	69	-	-	NEGATIVO	80	+	+	POSITIVO
MIB 42/018	23	+	+	POSITIVO	46	-	-	NEGATIVO	68	-	-	NEGATIVO	74	+	+	POSITIVO
MIB 42/026	32	+	+	POSITIVO	38	+	-	FALSO POSITIVO	64	+	-	FALSO POSITIVO	78	+	+	POSITIVO
MIB 42/028	31	+	+	POSITIVO	34	+	+	POSITIVO	48	-	-	NEGATIVO	55	-	-	NEGATIVO
MIB 42/049	27	+	+	POSITIVO	53	-	-	NEGATIVO	60	-	-	NEGATIVO	72	+	+	POSITIVO
MIB 42/063	02	+	+	POSITIVO	09	+	+	POSITIVO	15	+	+	POSITIVO	22	+	+	POSITIVO
MIB 42/078	12	+	+	POSITIVO	29	-	-	NEGATIVO	51	-	-	NEGATIVO	76	+	+	POSITIVO
MIB 42/079	25	+	+	POSITIVO	63	+	+	POSITIVO	67	+	+	POSITIVO	77	-	-	NEGATIVO
MIB 42/080	26	+	+	POSITIVO	43	-	-	NEGATIVO	52	-	-	NEGATIVO	70	+	+	POSITIVO
MIB 42/092	11	+	+	POSITIVO	24	+	+	POSITIVO	65	-	-	NEGATIVO	66	+	+	POSITIVO
MIB 42/095	05	+	+	POSITIVO	18	+	+	POSITIVO	49	-	-	NEGATIVO	71	+	+	POSITIVO
MIB 42/096	14	+	+	POSITIVO	21	+	+	POSITIVO	40	+	+	POSITIVO	73	-	-	NEGATIVO

= Número do item de ensaio "+" = Positivo; "-" = Negativo
 Falso Positivo ou Falso Negativo = resultados não-conforme

VR = Valor relatado

VC = Valor conhecido

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 3](#).

Tabela 3: Especificidade (%), sensibilidade (%), exatidão (%) e desempenho do laboratório.

Código dos Laboratórios	Resultados			
	Especificidade	Sensibilidade	Exatidão	Desempenho
MIB 42/004	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 42/015	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 42/018	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 42/026	0,0	100,0	50,0	NÃO PROFICIENTE
MIB 42/028	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 42/049	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 42/063	NC	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 42/078	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 42/079	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 42/080	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 42/092	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 42/095	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE
MIB 42/096	100,0	100,0	100,0	PROFICIENTE

ND. = Não determinado. Laboratório recebeu todos os itens “Positivos” e não foi possível calcular a especificidade.

Dos treze laboratórios avaliados, doze (92,3 %) tiveram seus desempenhos considerados **Proficientes**, pois alcançaram 100% de especificidade², sensibilidade e exatidão.

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.

6.4. Comentários dos laboratórios participantes

O Laboratório **MIB 42/026** informou que “As amostras 032 e 078 apresentaram-se puras mas as 038 e 064 apresentaram-se contaminadas com E.coli”.

7. Conclusões e Comentários

A análise dos dados obtidos neste EP sugere:

- O número de laboratórios inscritos neste ensaio de proficiência diminuiu em relação ao ano anterior. Um laboratório não enviou os resultados;
- O desempenho dos participantes pode ser considerado **bom**, visto que doze dos laboratórios foram considerados ‘satisfatórios’;

² Eventualmente, quando não foi possível calcular a especificidade pelo fato de o laboratório receber somente itens contendo *Salmonella* spp., a avaliação do laboratório também foi considerada “satisfatória” caso atingisse 100% nos outros dois parâmetros.

- O *Formulário de Registro de Resultados* foi encaminhado pelos laboratórios participantes e a maioria preenchida de forma adequada;
- A maior parte dos laboratórios, 8 (61,5 %) utilizou o *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods: Salmonella*. 5th ed. Washington, D.C; 2015 e 4th ed. Washington, D.C; 2001;

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

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 Ensaio 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**.

ANDREWS, W. H., JACOBSON, A., HAMMACK, T. Salmonella. In: *Bacteriological Analytical Manual Online*; FDA, **2018**. Chapter 5.

FENG, P.; WEAGANT, S.D.; GRANT, M.A; BUTKHARDT, W. Enumeration of *Escherichia coli* and Coliform Bacteria. In: *Bacteriological Analytical Manual online*. FDA, **2002**. Chapter 4.

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

ROSAS, C. O. **Desenvolvimento de Materiais de Referência Microbiológicos Certificados por Métodos Fenotípicos e Moleculares**. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária) – Pós Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, p. 186. **2018**.

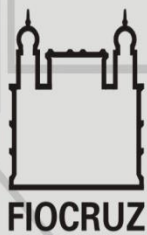
10. Laboratórios Participantes

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

Tabela 4: Laboratórios participantes do Ensaio de Proficiência em Microbiologia de Alimentos 42ª Rodada – Pesquisa de *Salmonella spp.* em ovo.

Laboratórios Participantes
Instituto Adolfo Lutz – CLR Araçatuba I
Instituto Adolfo Lutz – CLR Santos IX
Laboratório Central de Saúde Pública Noel Nutels
Laboratório de Bromatologia de Belo Horizonte
Laboratório de Microbiologia de Alimentos – LASP/IVISA-Rio
Laboratório de Segurança Microbiológica em Alimentos – IMA
Lacen – DF
Lacen – GO Laboratório Estadual de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros
Lacen – MS
Lacen – PR Laboratório Central do Estado do Paraná
Lacen – RN Laboratório Central Dr. Almino Fernandes
Lacen – RS
Lacen – SC Laboratório Central de Saúde Pública

- Total de participantes: 13 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