

Relatório Final do Ensaio de  
Proficiência em Microbiologia de  
Alimentos - 1ª Rodada - Pesquisa  
de Salmonella spp. em Alimentos

**ENSAIO DE PROFICIÊNCIA EM MICROBIOLOGIA DE ALIMENTOS – 1ª RODADA**  
**PESQUISA DE *SALMONELLA* spp. EM ALIMENTOS – MATRIZ LEITE EM PÓ**

**RELATÓRIO FINAL - Nº 003/2011**

**ORGANIZAÇÃO E COORDENAÇÃO**



Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial - Inmetro  
Diretoria de Metrologia Científica e Industrial - Dimci  
Av. Nossa Senhora das Graças, 50 – Xerém – Duque de Caxias  
RJ – Brasil – CEP: 25250-020  
E-mail para contato: pep-dimci@inmetro.gov.br



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

**COMITÊ DE ORGANIZAÇÃO**

Armi Wanderley da Nóbrega (INCQS/Fiocruz)  
Damares da Silva Santos (Inmetro/Dimci/Dicep)  
Janaína Marques Rodrigues (Inmetro/Dimci/Dquim)  
Marcus Henrique Campino de la Cruz (INCQS/Fiocruz)  
Maria Helena W. Cardoso (INCQS/Fiocruz)  
Paulo Roberto da Fonseca Santos (Inmetro/Dimci/Dicep)

**COMITÊ TÉCNICO**

Carla de Oliveira Rosas (INCQS/Fiocruz)  
Eliane Cristina Pires do Rego (Inmetro/Dimci/Dquim)  
Fernando Gustavo Marques Violante (Inmetro/Dimci/Dquim)  
Joyce Costa Andrade (Inmetro/Dimci/Dicep)  
Marcelo Luiz Lima Brandão (INCQS/Fiocruz)  
Márcia Barbosa Warnken (INCQS/Fiocruz)  
Roberto Becht Flatschart (Inmetro/Dipro)  
Sílvia Maria Lopes Bricio (INCQS/Fiocruz)  
Susana Frases Carvajal (Inmetro/Dipro)  
Valéria de Mello Medeiros (INCQS/Fiocruz)

## SUMÁRIO

1. Introdução.....	2
2. Objetivos.....	2
3. Preparo e Envio dos Itens de Ensaio .....	3
3.1. Escolha do Sorotipo e Fagotipo .....	3
3.2. Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio.....	3
3.3. Envio dos Itens de Ensaio .....	4
4. Análise dos Resultados.....	4
4.1. Resultados das Medições dos Laboratórios .....	4
4.2. Estabelecimento dos Valores Designados .....	4
4.3. Procedimentos Matemáticos e Análises Estatísticas .....	4
4.3.1. Sensibilidade, Especificidade e Exatidão dos Laboratórios.....	4
4.3.2. Avaliação da Homogeneidade dos Itens de Ensaio .....	5
5. Resultados da Avaliação da Homogeneidade e Estabilidade.....	7
5.1. Avaliação da Homogeneidade.....	7
5.2. Avaliação da Estabilidade .....	9
6. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes.....	9
6.1. Resultados dos Laboratórios Participantes .....	9
6.2. Avaliação dos Laboratórios Participantes.....	13
7. Metodologias Utilizadas pelos Laboratórios .....	15
8. Conclusões .....	16
9. Laboratórios Participantes .....	17
10. Referências Bibliográficas.....	20

## 1. Introdução

Ensaio de proficiência (EP) é uma ferramenta da qualidade utilizada em comparações interlaboratoriais que tem como objetivo avaliar a habilidade de um laboratório em realizar um determinado ensaio ou medição de modo competente. Em um contexto geral, o EP propicia aos laboratórios participantes: evidência de obtenção de resultados confiáveis; avaliação do desempenho e monitoração contínua; 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.

Como forma da avaliação da qualidade técnica de laboratórios de microbiologia de alimentos, provedores de EP disponibilizam escopos de ensaios envolvendo micro-organismos de importância em microbiologia de alimentos.

Bactérias do gênero *Salmonella* têm sido descritas como um dos principais patógenos responsáveis por Doenças de Origem Alimentar (DOA) em todo o mundo (FORSYTHE, 2002).

*Salmonella* spp. se encontra amplamente distribuída na natureza, sendo o trato intestinal do homem e dos animais o principal reservatório natural. Animais podem ser colonizados sem manifestar sintomas da doença e, ao ser utilizados como matéria-prima, resultam na produção de alimentos contaminados (DOYLE *et al.*, 2001).

Surtos de salmonelose de origem alimentar são observados e relatados com frequência. As características que favorecem a alta incidência desta enfermidade são: a baixa dose infectante em humanos, a habilidade de se multiplicar em alimentos não processados e a sobrevivência no ambiente por longos períodos (NEWELL *et al.*, 2010).

Este relatório apresenta os resultados da avaliação de desempenho dos laboratórios participantes da primeira rodada do Ensaio de Proficiência promovido em parceria pela Diretoria de Metrologia Científica e Industrial (Dimci) do Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (Inmetro) e pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), para a determinação de *Salmonella* spp. em alimentos.

## 2. Objetivos

O objetivo deste EP é fornecer aos laboratórios participantes uma ferramenta efetiva para verificar sua competência nos ensaios de detecção de *Salmonella* spp. em alimentos, utilizando suas metodologias de rotina. Este EP também contribui para:

- Determinar o desempenho dos laboratórios para o ensaio proposto;
- Aumentar a confiabilidade dos resultados das análises dos laboratórios;
- Propiciar subsídios aos laboratórios para a identificação e solução de problemas.
- Identificar problemas na metodologia aplicada pelo laboratório participante e iniciar ações corretivas;
- Apoiar os laboratórios na solicitação da acreditação ou sua manutenção segundo a NBR ISO/IEC 17025.

### 3. Preparo e Envio dos Itens de Ensaio

Os lotes dos materiais de referência (MR) utilizados foram preparados pelo Instituto Nacional de Controle de Qualidade e Saúde (INCQS) a partir de matriz de leite em pó estéril, que foi hidratada, esterilizada e contaminada, para posteriormente ser liofilizada. Após o preparo os frascos foram estocados a -20 °C.

Foram preparados dois lotes de MR. Um dos lotes foi contaminado com *Salmonella* spp. e o outro lote contaminado com *Citrobacter freundii*.

#### 3.1. Escolha do Sorotipo e Fagotipo

A partir de um levantamento sobre o sorotipo e fagotipo de *Salmonella* spp. de maior prevalência no Brasil nos últimos anos, foi selecionada uma cepa de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sorotipo Enteritidis (abreviada *Salmonella* Enteritidis) fagotipo PT-4, isolada de uma amostra de sobrecoxa de frango congelada. Esta foi depositada na Coleção de Pesquisa de Bactérias do INCQS, com o número P3440. A caracterização sorológica e a classificação do fagotipo foram realizadas no Laboratório de Enterobactérias do Departamento de Bacteriologia do Instituto Oswaldo Cruz da FIOCRUZ.

#### 3.2. Homogeneidade e Estabilidade dos Itens de Ensaio

##### Homogeneidade

Esta avaliação foi realizada antes do envio dos itens de ensaio aos laboratórios, utilizando como base o Protocolo Harmonizado, e sua análise foi quantitativa. O procedimento utilizado está descrito no item 4.3.2.

##### Estabilidade

Esta avaliação foi realizada uma semana antes do envio dos itens de ensaio até o prazo final de recebimento dos resultados pelos laboratórios. Neste estudo de estabilidade foram analisadas duas amostras por semana, de cada um dos lotes preparados, totalizando 12 amostras (3 semanas), consideradas como replicatas. Como o EP em questão é qualitativo, foram

considerados estáveis os itens analisados que apresentaram o resultado “SATISFATÓRIO” para a presença de *Salmonella* spp e de *Citrobacter freundii*.

### **3.3. Envio dos Itens de Ensaio**

Para cada laboratório inscrito na 1ª Rodada do Ensaio de Proficiência em Microbiologia de Alimentos foram enviados quatro itens de ensaio contendo, cada um, 1g de leite em pó devidamente homogeneizados. Dois itens de ensaio apresentavam *Salmonella* spp. e os outros dois continham *Citrobacter freundii*, em quantidade de aproximadamente  $10^2$  células.

As instruções de reconstituição do material para o uso no EP foram disponibilizadas no portal eletrônico do Inmetro aos laboratórios inscritos na Rodada.

## **4. Análise dos Resultados**

### **4.1. Resultados das Medições dos Laboratórios**

Os laboratórios receberam quatro itens de ensaio e foram orientados a proceder conforme a rotina do laboratório após a reconstituição do mesmo. Além dos resultados qualitativos, expressos como “PRESENÇA” ou “AUSÊNCIA” de *Salmonella* spp., os laboratórios participantes foram solicitados a prestar algumas informações relevantes, através do Formulário de Registro de Resultados, sobre as técnicas utilizadas nos ensaios.

### **4.2. Estabelecimento dos Valores Designados**

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

### **4.3. Procedimentos Matemáticos e Análises Estatísticas**

Neste tópico estão descritos os procedimentos matemáticos utilizados para a obtenção dos valores de sensibilidade, especificidade e exatidão dos laboratórios, bem como as análises estatísticas utilizadas para a avaliação da homogeneidade e estabilidade das amostras enviadas aos participantes.

#### **4.3.1. Sensibilidade, Especificidade e Exatidão dos Laboratórios**

Os resultados relatados pelos laboratórios foram avaliados em relação a sua sensibilidade, especificidade e exatidão como proposto por Greenhalgh (1997). O laboratório teve o seu resultado considerado “satisfatório” quando obteve os valores de sensibilidade, especificidade e exatidão de 100%. Estes valores foram calculados em função das respostas relatadas pelos laboratórios aos itens de ensaio enviados. Foram adotados os seguintes critérios:

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 considerada: “Falso Negativo”;

As Equações que descrevem os percentuais de sensibilidade, especificidade e exatidão estão descritas a seguir:

#### Sensibilidade

Este critério avaliou a capacidade do laboratório em identificar a presença de *Salmonella* spp. A sensibilidade percentual do laboratório, quanto à presença de *Salmonella* spp. no leite em pó, foi avaliada pela seguinte Equação (1):

$$\text{Sensibilidade} = \left( \frac{\text{Positivos}}{\text{Positivo} + \text{Falso\_Negativo}} \right) \times 100 \quad (1)$$

#### Especificidade

Este critério avaliou a capacidade do laboratório diferenciar outros crescimentos bacterianos no ensaio de detecção de *Salmonella* spp. A especificidade percentual do laboratório, quanto à presença de *Salmonella* spp. no leite em pó, foi avaliada pela seguinte Equação (2):

$$\text{Especificidade} = \left( \frac{\text{Negativo}}{\text{Negativo} + \text{Falso\_Positivo}} \right) \times 100 \quad (2)$$

#### Exatidão

Este critério avaliou a capacidade do laboratório em identificar corretamente a presença ou ausência de *Salmonella* spp. A exatidão percentual do laboratório, quanto à presença de *Salmonella* spp. no leite em pó, foi avaliada pela seguinte Equação (3):

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

#### **4.3.2. Avaliação da Homogeneidade dos Itens de Ensaio**

Foram retirados aleatoriamente dez itens de ensaio; após a reconstituição e homogeneização do líófilo, duas alíquotas foram transferidas para placas de Petri estéreis. As placas foram

analisadas em ordem aleatória e sob condições de repetitividade através de um método apropriado. Para verificar a ocorrência de problemas estatísticos, os dados foram dispostos num gráfico simples de resultados x número de amostra e analisados visualmente em busca de características usuais em diagnóstico, tais como:

- (a) tendências ou descontinuidades;
- (b) distribuição não-aleatória de diferenças entre o primeiro e segundo resultado de ensaio;
- (c) arredondamento excessivo; e
- (d) resultados dispersos intra-amostras.

Como não foi verificado nenhum problema estatístico, os dados foram usados para estimar as variâncias analíticas e amostral conforme descrito abaixo:

#### Valores Dispersos

Primeiramente foi aplicado o teste de Cochran aos resultados, com o propósito de eliminar possíveis valores dispersos. Assim, calculou-se a soma,  $S_i$ , e a diferença,  $D_i$ , de cada par de resultados, para  $i = 1$  até 10.

Calculou-se a soma dos quadrados  $S_{DD}$  das  $m$  diferenças a partir da Equação 4:

$$S_{DD} = \sum D_i^2 \quad (4)$$

A estatística do teste de Cochran (Equação 5) é a razão entre  $D_{\max}^2$ , a maior diferença ao quadrado, e a soma dos quadrados das diferenças:

$$C = \frac{D_{\max}^2}{S_{DD}} \quad (5)$$

Foi calculada a razão acima e comparada com o valor crítico apropriados da tabela de teste de Cochran para um nível de confiança de 95 %.

#### Não-homogeneidade significativa

A mesma soma dos quadrados das diferenças (Equação 4) foi utilizada para calcular a variância analítica,  $s_{an}^2$ , Equação 6.

$$s_{an}^2 = MS_w = (\sum D_i^2) / 2m \quad (6)$$



Onde  $D_i$  é a diferença de cada par de resultados do teste de homogeneidade e  $m$  é o número de recipientes selecionados para o teste de homogeneidade.

A seguir, calculou-se a variância  $V_S$  das somas  $S_i$  de acordo com a Equação 7:

$$v_s = 2 \times MS_B = \sum (s_i - \bar{s})^2 / (m-1) \quad (7)$$

Onde  $\bar{s}$  é a média de  $S_i$ .

Calculou-se a variância amostral,  $s_{sam}^2$ , de acordo com a Equação 8

$$s_{sam}^2 = (MS_B - MS_w) / 2 \quad (8)$$

Calculou-se a variância amostral aceitável,  $\sigma_{all}^2$ , como  $\sigma_{all}^2 = (0,3 \times \sigma_p)^2$  onde  $\sigma_p$  é o desvio padrão para avaliação da homogeneidade.

Tomando-se os valores de  $F_1$  e  $F_2$ , onde  $F_1 = \frac{\chi_{m-1;0,95}^2}{(m-1)}$  e  $F_2 = \frac{(F_{m-1;m;0,95} - 1)}{2}$ , calculou-se o valor crítico de homogeneidade para o ensaio como (Equação 9):

$$c = F_1 \times \sigma_{all}^2 + F_2 \times s_{an}^2 \quad (9)$$

Como  $s_{sam}^2 < c$ , não há evidência de que o desvio-padrão amostral na população de amostras ultrapassa a fração aceitável do desvio-padrão alvo.

## 5. Resultados da Avaliação da Homogeneidade e da Estabilidade

### 5.1. Avaliação da Homogeneidade

Um estudo de homogeneidade é necessário antes da distribuição de um lote de itens de ensaio em um EP para demonstrar que as unidades deste lote são suficientemente homogêneas entre si. O estudo da homogeneidade da amostra é um dos fatores preponderantes para a garantia da manutenção das propriedades do material estudado. A homogeneidade deve ser avaliada entre os diferentes frascos da amostra e também dentro de um mesmo frasco. Este estudo tem como objetivo determinar, através do procedimento descrito no item 4.3.2 deste relatório, se a variação na composição entre as amostras distribuídas é suficientemente pequena para o objetivo do EP.

A homogeneidade foi avaliada através de medições em duplicata realizadas em 10 (dez) frascos de cada um dos lotes de MR preparados. Os cálculos foram realizados com os valores já convertidos para log UFC/mL. Os resultados encontrados estão descritos nas Tabelas 1 e 2 (Lote de *Salmonella* spp.) e nas Tabelas 3 e 4 (Lote de *Citrobacter freundii*).

Tabela 1: Resultados do estudo de homogeneidade para *Salmonella* Enteritidis

Frasco	Nº de UFC/mL		Log de UFC/mL	
	Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2
1	490	450	2,69	2,65
2	320	250	2,51	2,40
3	440	520	2,64	2,72
4	260	450	2,41	2,65
5	520	570	2,72	2,76
6	430	450	2,63	2,65
7	210	310	2,32	2,49
8	390	370	2,59	2,57
9	360	430	2,56	2,63
10	390	510	2,59	2,71

Aplicando as Equações de 4 a 9 aos dados de log UFC/mL da Tabela 1, sendo o desvio padrão para a avaliação de homogeneidade ( $\sigma_p$ ) igual a 0,16107 teremos (Tabela 2):

Tabela 2: Parâmetros do estudo de homogeneidade para *Salmonella* Enteritidis

	Parâmetros							
	$s_{an}^2$	$V_s$	$s_{sam}^2$	$\sigma_{all}^2$	$F_1$	$F_2$	$c$	$s_{an} / \sigma_p$
Valores	0,00642	0,04403	<b>0,00780</b>	0,00233	1,87989	1,01019	<b>0,01087</b>	0,49726

Como  $s_{sam}^2 < c$ , considerou-se a amostra suficientemente homogênea para o EP.

Tabela 3: Resultados do estudo de homogeneidade para *Citrobacter freundii*

Frasco	Nº de UFC/mL		Log de UFC/mL	
	Placa 1	Placa 2	Placa 1	Placa 2
1	790	830	2,898	2,919
2	770	780	2,886	2,892
3	850	920	2,929	2,964
4	900	990	2,954	2,996
5	620	690	2,792	2,839
6	870	680	2,940	2,833
7	630	650	2,799	2,813
8	670	600	2,826	2,778
9	840	800	2,924	2,903
10	830	770	2,919	2,886

Aplicando as Equações de 4 a 9 aos dados de log UFC/mL da Tabela 3, sendo o desvio padrão para a avaliação de homogeneidade ( $\sigma_p$ ) igual a 0,25 teremos (Tabela 4):

Tabela 4: Parâmetros do estudo de homogeneidade para *Citrobacter freundii*

	Parâmetros							
	$s_{an}^2$	$V_s$	$S_{sam}^2$	$\sigma_{all}^2$	$F_1$	$F_2$	c	$S_{an} / \sigma_p$
<b>Valores</b>	0,00105	0,01400	0,00297	0,00563	1,88	1,01	0,01163	0,12958

## 5.2. Avaliação da Estabilidade

Para assegurar que os itens de ensaio que continham *Salmonella* spp. utilizados no ensaio de proficiência apresentariam resultado “POSITIVO” durante o período do EP, foi realizado um estudo de estabilidade. Este estudo teve como objetivo verificar a reprodutibilidade na detecção das bactérias presentes no MR ao longo do tempo. A metodologia utilizada foi a descrita no BAM-FDA (2007). Os dados obtidos pelo INCQS/Fiocruz para o estudo de estabilidade dos itens de ensaio encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5: Dados obtidos para o estudo de estabilidade

Data da análise	<i>Salmonella</i> spp.		<i>Citrobacter freundii</i>	
	Análise	Resultado	Análise	Resultado
27/09/2010	1 e 2	Satisfatório	1 e 2	Satisfatório
18/10/2010	3 e 4	Satisfatório	3 e 4	Satisfatório
25/10/2010	5 e 6	Satisfatório	5 e 6	Satisfatório

Os resultados obtidos mostraram que todas as análises de estabilidade realizadas durante o período do EP apresentaram resultados “SATISFATÓRIOS” e, dessa forma, os itens de ensaio foram considerados estáveis nas condições de estudo.

## 6. Avaliação do Desempenho dos Laboratórios Participantes

### 6.1. Resultados dos Laboratórios Participantes

Os dados relatados pelos laboratórios participantes do EP foram tratados de acordo com os procedimentos descritos na ISO/IEC 17043.

A Tabela 6 apresenta os resultados dos laboratórios para a análise de cada item de ensaio recebido, bem como os resultados esperados (valores designados) e o resultado final. **Cada laboratório é identificado apenas pela numeração final do seu código de identificação.**

Tabela 6: Resultados relatados pelos laboratórios, resultados esperados e resultado final

Cód. do Laboratório	Item de Ensaio	Resultados Apresentados	Resultados Esperados	Resultado Final
07	099	Presença	Presença	Positivo
	475	Presença	Presença	Positivo
	860	Ausência	Ausência	Negativo
	927	Ausência	Ausência	Negativo
12	081	Presença	Presença	Positivo
	615	Presença	Presença	Positivo
	206	Ausência	Ausência	Negativo
	807	Ausência	Ausência	Negativo
14	272	Presença	Presença	Positivo
	757	Ausência	Ausência	Negativo
	038	Ausência	Ausência	Negativo
	737	Presença	Presença	Positivo
20	616	Presença	Presença	Positivo
	719	Presença	Presença	Positivo
	136	Ausência	Ausência	Negativo
	032	Ausência	Ausência	Negativo
27	146	Ausência	Ausência	Negativo
	553	Ausência	Ausência	Negativo
	895	Presença	Presença	Positivo
	961	Presença	Presença	Positivo
28	292	Presença	Presença	Positivo
	680	Ausência	Ausência	Negativo
	711(771) <sup>1</sup>	Presença	Presença	Positivo
	797	Ausência	Ausência	Negativo
30	074	Ausência	Ausência	Negativo
	262	Presença	Ausência	Falso positivo
	410	Presença	Presença	Positivo
	826	Presença	Presença	Positivo
32	327	Presença	Presença	Positivo
	378	Ausência	Ausência	Negativo
	408	Presença	Ausência	Falso positivo
	470	Presença	Presença	Positivo
34	100	Ausência	Ausência	Negativo
	526	Presença	Presença	Positivo
	725	Ausência	Ausência	Negativo
	761	Presença	Presença	Positivo
39	286	Presença	Presença	Positivo
	352	Ausência	Ausência	Negativo
	529	Ausência	Ausência	Negativo
	506	Presença	Presença	Positivo
42	201	Ausência	Ausência	Negativo
	204	Presença	Presença	Positivo
	301	Ausência	Ausência	Negativo
	613	Presença	Presença	Positivo

Tabela 6: Resultados relatados pelos laboratórios, resultados esperados e resultado final (Continuação)

Cód. do Laboratório	Item de Ensaio	Resultados Apresentados	Resultados Esperados	Resultado Final
43	060	Ausência	Ausência	Negativo
	131	Presença	Presença	Positivo
	374	Ausência	Ausência	Negativo
	417	Presença	Presença	Positivo
45	341	Presença	Presença	Positivo
	412	Presença	Presença	Positivo
	556	Ausência	Ausência	Negativo
	732	Ausência	Ausência	Negativo
47	306	Ausência	Ausência	Negativo
	567	Presença	Presença	Positivo
	856	Presença	Presença	Positivo
	893	Ausência	Ausência	Negativo
48	209	Presença	Presença	Positivo
	343	Ausência	Ausência	Negativo
	712	Ausência	Ausência	Negativo
	903	Presença	Presença	Positivo
51	600	Presença	Presença	Positivo
	640	Presença	Presença	Positivo
	688	Ausência	Ausência	Negativo
	911	Ausência	Ausência	Negativo
53	139	Ausência	Ausência	Negativo
	356	Ausência	Ausência	Negativo
	780	Presença	Presença	Positivo
	841	Presença	Presença	Positivo
57	240	Presença	Presença	Positivo
	015	Ausência	Ausência	Negativo
	084	Presença	Presença	Positivo
	971	Ausência	Ausência	Negativo
61	231	Presença	Ausência	Falso positivo
	274	Presença	Presença	Positivo
	779	Presença	Presença	Positivo
	959	Presença	Ausência	Falso positivo
63	334	Ausência	Ausência	Negativo
	657	Presença	Presença	Positivo
	796	Presença	Presença	Positivo
	905	Ausência	Ausência	Negativo
64	036	Presença	Presença	Positivo
	501	Ausência	Ausência	Negativo
	570	Presença	Presença	Positivo
	706	Ausência	Ausência	Negativo
65	275	Presença	Presença	Positivo
	325	Ausência	Ausência	Negativo
	427	Ausência	Ausência	Negativo
	548	Presença	Presença	Positivo

Tabela 6: Resultados relatados pelos laboratórios, resultados esperados e resultado final (Continuação)

<b>Cód. do Laboratório</b>	<b>Item de Ensaio</b>	<b>Resultados Apresentados</b>	<b>Resultados Esperados</b>	<b>Resultado Final</b>
<b>66</b>	046	Presença	Ausência	<b>Falso positivo</b>
	166	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
	187	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
	676	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
<b>67</b>	005	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
	017	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
	426	Ausência	Presença	<b>Falso Negativo</b>
	642	Ausência	Presença	<b>Falso Negativo</b>
<b>68</b>	115	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
	332	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
	735	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
	973	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
<b>69</b>	024	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
	064	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
	164	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
	636	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
<b>70</b>	174	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
	454	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
	585	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
	669	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
<b>71</b>	466	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
	488	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
	588	Ausência	Presença	<b>Falso Negativo</b>
	726	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
<b>76</b>	143	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
	245	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
	261	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
	490	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
<b>77</b>	041	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
	181	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
	580	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
	920	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
<b>78</b>	479	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
	369	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
	405	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
	762	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
<b>80</b>	285	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
	298	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
	564	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
	739	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
<b>81</b>	499	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
	546	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
	892	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
	987	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
<b>84</b>	047	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
	101	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>
	693	Presença	Presença	<b>Positivo</b>
	817	Ausência	Ausência	<b>Negativo</b>

Tabela 6: Resultados relatados pelos laboratórios, resultados esperados e resultado final (Continuação)

Cód. do Laboratório	Item de Ensaio	Resultados Apresentados	Resultados Esperados	Resposta
87	045	Presença	Presença	Positivo
	152	Ausência	Ausência	Negativo
	264	Presença	Presença	Positivo
	597	Ausência	Ausência	Negativo
89	085	Ausência	Ausência	Negativo
	495	Presença	Presença	Positivo
	552	Presença	Presença	Positivo
	977	Ausência	Ausência	Negativo
91	053	Ausência	Ausência	Negativo
	258	Presença	Presença	Positivo
	467	Ausência	Ausência	Negativo
	653	Presença	Presença	Positivo
94	023	Presença	Presença	Positivo
	304	Ausência	Ausência	Negativo
	857	Presença	Presença	Positivo
	885	Ausência	Ausência	Negativo
96	196	Ausência	Ausência	Negativo
	531	Presença	Presença	Positivo
	697	Presença	Presença	Positivo
	953	Ausência	Ausência	Negativo
97	606 (506) <sup>2</sup>	Presença	Presença	Positivo
	507	Presença	Presença	Positivo
	178	Presença	Ausência	Falso positivo
	220	Ausência	Ausência	Negativo
99	396	Presença	Presença	Positivo
	682	Presença	Presença	Positivo
	810	Ausência	Ausência	Negativo
	868	Ausência	Ausência	Negativo

1 – O laboratório 28 relatou o código 771, contudo, nenhum item de ensaio foi gerado com esta numeração.

2 – De acordo com os dados do comitê técnico, o item de ensaio de código 506 foi enviado ao laboratório

39. Para o laboratório 97 foi enviado o item de ensaio de código 606.

## 6.2. Avaliação dos Laboratórios Participantes

A avaliação de desempenho dos laboratórios participantes, expressa através da sensibilidade, da especificidade e da exatidão, está apresentada na Tabela 7.

Tabela 7: Valores de sensibilidade (%), especificidade (%), exatidão (%) e resultado do laboratório.

<b>Cód. do Laboratório</b>	<b>Sensibilidade</b>	<b>Especificidade</b>	<b>Exatidão</b>	<b>Resultado</b>
07	100	100	100	Satisfatório
12	100	100	100	Satisfatório
14	100	100	100	Satisfatório
20	100	100	100	Satisfatório
27	100	100	100	Satisfatório
28	100	100	100	Satisfatório
30	100	50	75	-
32	100	50	75	-
34	100	100	100	Satisfatório
39	100	100	100	Satisfatório
42	100	100	100	Satisfatório
43	100	100	100	Satisfatório
45	100	100	100	Satisfatório
47	100	100	100	Satisfatório
48	100	100	100	Satisfatório
51	100	100	100	Satisfatório
53	100	100	100	Satisfatório
57	100	100	100	Satisfatório
61	100	0	50	-
63	100	100	100	Satisfatório
64	100	100	100	Satisfatório
65	100	100	100	Satisfatório
66	100	50	75	-
67	0	100	50	-
68	100	100	100	Satisfatório
69	100	100	100	Satisfatório
70	100	100	100	Satisfatório
71	100	50	75	-
76	100	100	100	Satisfatório
77	100	100	100	Satisfatório
78	100	100	100	Satisfatório
80	100	100	100	Satisfatório
81	100	100	100	Satisfatório
84	100	100	100	Satisfatório
87	100	100	100	Satisfatório
89	100	100	100	Satisfatório
91	100	100	100	Satisfatório
94	100	100	100	Satisfatório
96	100	100	100	Satisfatório
97	100	50	75	-
99	100	100	100	Satisfatório

Observamos que dos 41 laboratórios que enviaram resultados, trinta e quatro (83%) apresentaram resultados de 100% para os parâmetros de sensibilidade, especificidade e exatidão, sendo considerados satisfatórios.



Salienta-se que estes resultados são apenas um indicativo do desempenho dos laboratórios neste momento, cabendo a cada laboratório participante fazer a sua interpretação e implementar as ações corretivas, caso necessário.

### 7. Metodologias Utilizadas pelos Laboratórios

Dos 41 laboratórios participantes, 38 informaram metodologias que puderam ser identificadas univocamente. A distribuição das metodologias utilizadas está apresentada no Gráfico 1.

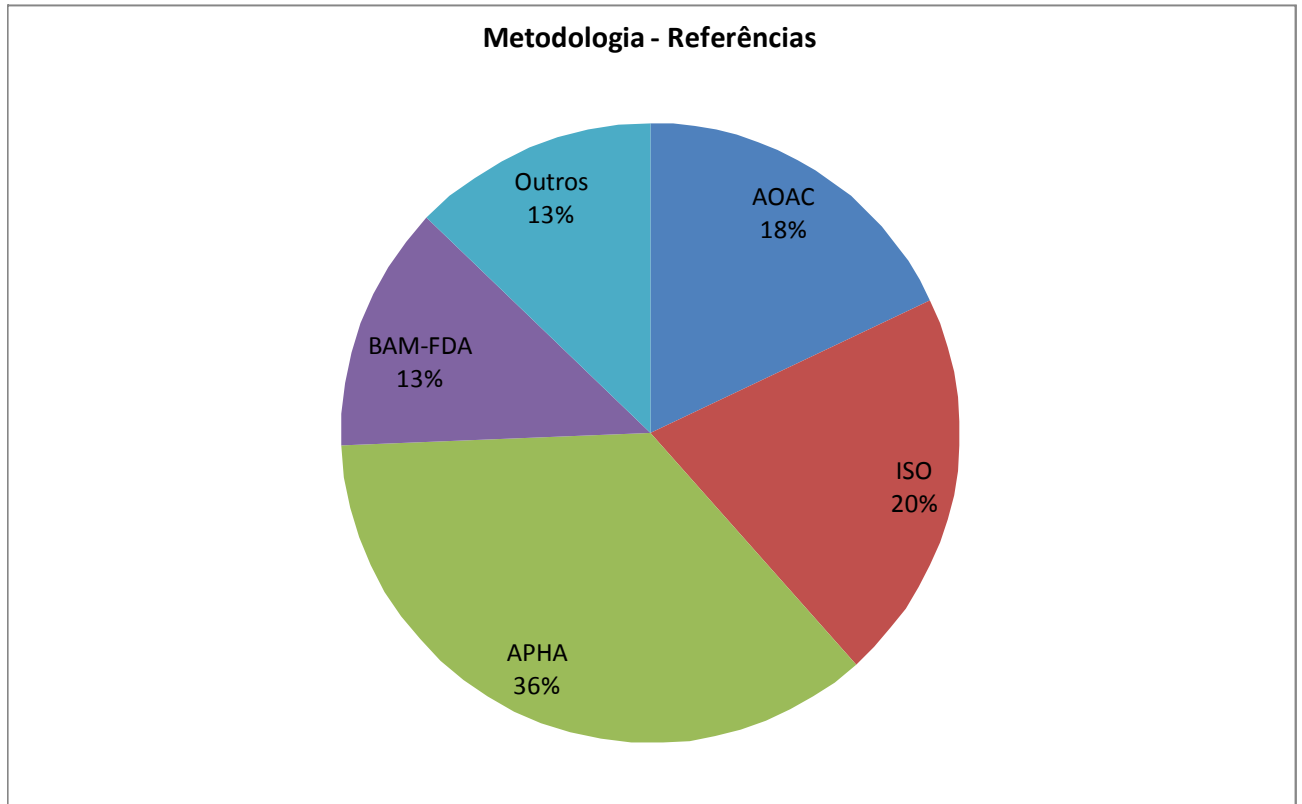


Gráfico 1 – Metodologias utilizadas

Onde:

APHA = American Public Health Association, 4<sup>th</sup> Edition, 2001;

BAM-FDA = Bacteriological Analytical Manual, 8<sup>th</sup> Edition, 2006 e 5<sup>th</sup> Edition, 1995;

ISO = International Organization for Standardization, 6579:2002;

AOAC = Association of Official Analytical Chemists, várias;

Outros = FSIS, IN(MAPA), Varela (1997), etc.

## 8. Conclusões

A organização do Ensaio de Proficiência em Microbiologia de Alimentos se constituiu num trabalho da parceria estabelecida pelo Inmetro e INCQS/Fiocruz, com o intuito de promover a melhoria da qualidade das medições realizadas em alimentos no país.

Através de uma análise criteriosa dos dados gerados neste EP, chegamos às seguintes conclusões:

- Trinta e quatro (34) laboratórios tiveram resultados considerados satisfatórios no EP;
- As diferentes metodologias empregadas pelos laboratórios foram satisfatórias para a correta detecção do analito em questão;
- Três (3) laboratórios não tiveram resultados considerados satisfatórios devido à baixa sensibilidade analítica demonstrada ao relatarem resultados falso-negativos;
- Seis (6) laboratórios não tiveram resultados considerados satisfatórios devido à baixa especificidade analítica demonstrada ao relatarem resultados falso-positivos;
- A metodologia mais amplamente empregada foi a descrita pelo American Public Health Association, 4<sup>th</sup> Edition, 2001, utilizada por 36% dos laboratórios;

Para os laboratórios que não obtiveram resultados satisfatórios, sugere-se a adoção de ações corretivas 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.

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. Laboratórios Participantes

Quarenta e três laboratórios, três acima do limite máximo<sup>1</sup> estipulado no Protocolo, se inscreveram na 1ª Rodada do Programa de Ensaio de Proficiência em Microbiologia de Alimentos - 1ª Rodada – Pesquisa de *Salmonella* spp. em Alimentos. Destes, somente quarenta e um laboratórios relataram resultados (95% dos inscritos), sendo 9 acreditados para este escopo.

A lista dos laboratórios que enviaram os resultados à coordenação do Programa é apresentada na Tabela 8. É importante ressaltar que a numeração da tabela é apenas indicativa do número de laboratórios participantes deste EP, não estando, em hipótese alguma, associada à identificação dos laboratórios na apresentação dos resultados.

Os resultados do EP são confidenciais. Cada resultado está identificado por um código individual que somente é conhecido pelo próprio laboratório e pela coordenação deste EP. Os resultados poderão ser utilizados em trabalhos e publicações pelo Inmetro e INCQS respeitando a confidencialidade dos laboratórios.

Tabela 8: Laboratórios participantes

Instituição	
1.	Bioagri Análises de Alimentos Ltda Laboratório Bioagri Análises de Alimentos
2.	Eurofins do Brasil Análises de Alimentos Ltda Laboratório Eurofins do Brasil Análises de Alimentos Ltda
3.	Fundação de Vigilância em Saúde do Estado do Amazonas Laboratório Central de Saúde Pública
4.	Fundação Ezequiel Dias Laboratório de Microbiologia de Alimentos
5.	Instituto Adolfo Lutz Núcleo de Microbiologia
6.	Instituto Adolfo Lutz Centro de Laboratório Regional de Ribeirão Preto – VI
7.	Instituto Adolfo Lutz Centro de Laboratório Regional – IAL Campinas III
8.	Instituto Adolfo Lutz Centro de Laboratório Regional de São José do Rio Preto
9.	Instituto Adolfo Lutz Centro de Laboratório Regional – IAL – Santo André

<sup>1</sup> A Organização deste EP procurou atender a todos os laboratórios governamentais e privados acreditados, como descrito no protocolo.

10.	Instituto Adolfo Lutz Centro de Laboratórios Regionais – CLR-IAL – Bauru II
11.	Instituto Adolfo Lutz Centro de Laboratório Regional de Santos – IX
12.	Instituto de Tecnologia de Alimentos Laboratório ULR Microbiologia
13.	Instituto Latino Americano de Avaliação Tecnológica ILAT
14.	Instituto Mineiro de Agropecuária Laboratório de Segurança Microbiológica em Alimentos
15.	Instituto Municipal de Medicina Veterinária Jorge Vaitsman Seção de Controle Microbiológico de Produtos
16.	Instituto Oswaldo Cruz /LACEN /MA Bromatologia e Química
17.	Laboratório Central de Saúde Pública
18.	Laboratório Central de Saúde Pública LACEN/AP
19.	Laboratório Central de Saúde Pública – LACEN-TO Laboratório Central de Saúde Pública – TO
20.	Laboratório Central de Saúde Pública de Roraima LACEN-RR
21.	Laboratório Central de Saúde Pública de Santa Catarina LACEN-SC
22.	Laboratório Central de Saúde Pública do Distrito Federal NBAA – Laboratório de Microbiologia de Alimentos
23.	Laboratório Central de Saúde Pública do Rio Grande do Sul – IPB-LACEN/RS Seção de Microbiologia de Água e Alimentos
24.	Laboratório Central de Saúde Pública Estadual Laboratório de Microbiologia de Alimentos
25.	Laboratório Central de Saúde Pública Prof. Gonçalo Moniz – LACEN/BA Laboratório de Microbiologia de Alimentos
26.	Laboratório Central Dr. Almino Fernandes – LACEN/RN Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Água
27.	Laboratório Central Noel Nutels/SVS/SESDEC RJ Setor de Microbiologia de Alimentos
28.	Laboratório de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros – Secretaria Estadual de Saúde LACEN/GO – Microbiologia de Alimentos
29.	Laboratório Nacional Agropecuário LANAGRO-MG
30.	Laboratório Nacional Agropecuário – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento LANAGRO-PA

31.	LACEN-MT / MT-LABORATÓRIO Gerência de Análises de Vigilância Ambiental e Sanitária
32.	NUTEC – Fundação Núcleo de Tecnologia Industrial do Ceará LABCAJU – Lab. de Análises para Certificação de Produtos do Cajú
33.	Prefeitura Municipal de Guarulhos Laboratório de Saúde Pública Dr. Jefferson Ignácio de Araújo
34.	SADIA S.A SADIA Jundiáí
35.	Secretaria de Estado da Saúde Laboratório Central de Saúde Pública Dra. Telma Lobo
36.	Secretaria de Estado da Saúde de Alagoas LACEN / ALAGOAS
37.	Secretaria de Estado de Saúde do Paraná / Fundo Estadual de Saúde do Paraná Laboratório Central do Estado
38.	Secretaria de Saúde do Estado de Pernambuco Laboratório Central de Saúde Pública Dr. Milton Bezerra Sobral
39.	Universidade Federal de Pernambuco Laboratório de Experimentação e Análise de Alimentos – LEA
40.	Universidade Federal do Ceará Laboratório de Microbiologia de Alimentos/DTA/CCA/UFC
41.	Universidade Federal do Paraná Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos

Total de participantes: 41 laboratórios

## 10. Referências Bibliográficas

ANDREWS, W. H.; HAMMACK, T. S. *Salmonella*. In: Bacteriological analytical manual online, Chapter 5. [S.l.]; FDA. 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RDC n.º12, de 2 de janeiro de 2001. Aprova Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos e seus anexos I e II. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, n.7-E, p.45, 10 jan. 2001. Seção1.

EUZÉBY, J. P. List of prokaryotic names with standing in nomenclature: genus *Salmonella*. 2010. Disponível em: <<http://www.bacterio.cict.fr/s/salmonella.html>>. Acesso em: 13/12/2010.

GREENHALGH, T. How to read a paper - Papers that reports diagnostic or screening tests. *BMJ*, v.315, p.540-3, 1997.

ILAC-G 13:08/2007. Guidelines for requirements for the competence of providers of proficiency testing schemes. ILAC, 2007.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION – ISO GUIDE 35 - Reference materials – General and statistical principles for certification. Geneva, 2006.

INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION – ISO/IEC 17043 - Conformity assessment – General requirement for proficiency testing. Geneva, 2010.

NEWLL, D. G.; KOOPMANS, M.; VERHOEF, L.; DUIZER, E.; AIDARA-KANE, A.; SPRONG, H.; OPSTEEGH, M.; LANGELAAR, M.; THREFALL, J.; SCHEUTZ, F.; GIESSEN, J.; KRUSE, H. Food-borne diseases – The challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *Int. J. of Food Microbiol.* v139:S13-S15. 2010.

ROSAS, C. O.; BRANDÃO, M. R. L.; BRICIO, S. M. L.; MEDEIROS, V. M.; BERNARDO, S. P. C.; DE LA CRUZ, M. H. C.; CARDARELLI-LEITE, P. Desenvolvimento de Material de Referência em Microbiologia de Alimentos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz.* v. 69, p. 1251, 2010.

THOMPSON, M.; ELLISON, S.L.R.; WOOD, R. International harmonized protocol for proficiency testing of (chemical) analytical laboratories. *Pure Appl. Chem.* v. 78(1), p. 145-196, 2006.

