



PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DE CALIDAD PEEC | MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS

PROGRAMA ENUMERACIÓN DE MICROORGANISMOS EN LECHE EN POLVO:

SUBPROGRAMA ENUMERACIÓN DE *Staphylococcus aureus* MEDIANTE TÉCNICA DE RECuento EN PLACA

INFORME FINAL ENSAYO DE APTITUD ACREDITADO | DEPARTAMENTO NACIONAL Y DE REFERENCIA EN SALUD AMBIENTAL |
CÓDIGO RONDA-AÑO: MA01B - 2022 | VERSIÓN: 00



RG-04-IT-754.00-002.
Versión 3.
Fecha 05/07/2022

INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE

DEPARTAMENTO NACIONAL Y DE REFERENCIA EN SALUD AMBIENTAL
SUBDEPARTAMENTO DE METROLOGÍA
SECCIÓN COORDINACIÓN DE PROGRAMAS DE ENSAYOS DE APTITUD Y EVALUACIÓN
EXTERNA DE LA CALIDAD

Av. Marathon 1000, Ñuñoa. Santiago. Chile.
Código Postal 7780050.

www.ispch.cl

Coordinador PEEC:

QF. María Natalia Gutiérrez Vargas.

Autorizado por:

Jefe Departamento Nacional y de Referencia en Salud Ambiental
Dra. Isel Cortés Nodarse

Informe Ronda - Año: MA01/B - 2022

Fecha: 12/08/2022

Versión N°: 00

Contacto:

Oficina de Informaciones, Reclamos y Sugerencias (SIAC-OIRS)

Lunes a Jueves de 08:00 a 17:30 horas

Viernes de 08:00 a 16:30 horas

Fono: +56 2 25755600 - +56 2 25755601

<https://siac.ispch.gob.cl/ES/AtencionCiudadana/OIRS>



PROGRAMA EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD

SUBPROGRAMA ENUMERACIÓN DE *Staphylococcus aureus* MEDIANTE TÉCNICA DE RECuento EN PLACA

CONTENIDO

1.	LISTA DE PARTICIPANTES.....	04
2.	RESPONSABLES.....	05
3.	INTRODUCCIÓN.....	05
4.	MATERIAL DE ENSAYO.....	05
5.	CRONOGRAMA.....	07
6.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	07
7.	RESULTADOS INFORMADOS POR LOS PARTICIPANTES.....	08
8.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS INFORMADOS.....	09
9.	EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO.....	10
10.	COMENTARIOS Y SUGERENCIAS.....	10
11.	REFERENCIAS.....	11
12.	ANEXOS.....	12

1. LISTADO DE PARTICIPANTES

5M SPA.	TALCAHUANO
ASELAB LTDA	SAN FERNANDO
CESMEC S.A. SEDE IQUIQUE	IQUIQUE
CESMEC S.A. SEDE SANTIAGO	SANTIAGO
CESMEC S.A. SEDE CONCEPCIÓN	CONCEPCIÓN
DICTUC	SANTIAGO
EUROFINS TESTING CHILE S.A. SEDE CONCEPCIÓN	CONCEPCIÓN
EUROFINS TESTING CHILE S.A. SEDE SANTIAGO	SANTIAGO
LABORATORIO AMBIENTAL LLANQUIHUE DE LA SEREMI DE SALUD REGIÓN DE LOS LAGOS	PUERTO MONTT
LABORATORIO CTS DE SGS CHILE SEDE PUERTO VARAS	PUERTO VARAS
LABORATORIO DE ALIMENTOS-UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE	VALDIVIA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA PROLESUR LOS LAGOS	LOS LAGOS
LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE OSORNO DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN DE LOS LAGOS	OSORNO
LABORATORIO DEL AMBIENTE DE LA SEREMI DE SALUD REGIÓN COQUIMBO	LA SERENA
LABORATORIO MICROBIOLOGÍA CONTROL DE CALIDAD WATTS S.A. OSORNO	OSORNO
LABORATORIO PROLESUR OSORNO	OSORNO
LABORATORIO SANITARIO AMBIENTAL DE LA SEREMI SALUD REGIÓN METROPOLITANA	SANTIAGO
LABORATORIO SEASLAB	SANTIAGO
QUALITY TRUST LABS	SANTIAGO
SILOB LABORATORIO PUERTO MONTT	VALPARAÍSO

2. RESPONSABLES

2.1. Personal responsable en la organización y desarrollo de esta ronda:

- QF. María Natalia Gutiérrez Vargas.
- Dra. Francis Alarcón Rodríguez.

2.2. Colaboradores:

- TM. Fabiola Rojas Cornejo (Elaboración del Material de Referencia del ensayo de aptitud)
- Aux. Cristian Caballero Cortés (Preparación, embalaje y etiquetado de ítems de ensayo)
- Ms. Soraya Sandoval Riquelme (Revisión Informe)

3. INTRODUCCIÓN

El presente informe corresponde a la evaluación del ensayo de intercomparación del Subprograma "ENUMERACIÓN DE *Staphylococcus aureus* MEDIANTE TÉCNICA DE RECuento EN PLACA". Este ensayo corresponde a la cuantificación de *Staphylococcus aureus* en leche en polvo, de un material elaborado por la Sección de Metrología Científica en Química y Biomediciones, y corresponde a una herramienta utilizada para evaluar la calidad de las prestaciones analíticas de los laboratorios de ensayos que realizan análisis microbiológico en alimentos. Esta ronda de ensayo de aptitud de tipo interlaboratorio de participación simultánea es realizada por el ISP desde el año 2014 con la finalidad de satisfacer los requerimientos de Laboratorios que requieren realizar control o vigilancia de acuerdo con el Reglamento Sanitario de los Alimentos, Dto. 977, Art. 1. Y Art. 173.

4. MATERIAL DE ENSAYO

El ítem de ensayo enviado contiene aproximadamente diez (10) gramos de leche en polvo para determinación cuantitativa del analito *Staphylococcus aureus* cuyo envase primario fue previamente acondicionado, sellado, etiquetado y codificado.

El material de ensayo para análisis de *Staphylococcus aureus* correspondió a un material preparado y caracterizado por el laboratorio de Biometrología de la Sección Metrología Científica en Química y Biomediciones del Instituto de Salud Pública de Chile (*).

() Las actividades de producción de material de referencia marcadas con asterisco (*) no están amparadas por la acreditación de ENAC.*

La evaluación de homogeneidad del ítem de ensayo preparado fue analizada en duplicado para 10 muestras obtenidas aleatoriamente, utilizando la siguiente metodología:

Tabla N° 1

Métodología de análisis.

Componente/analito	Método
<i>Staphylococcus aureus</i>	Referencia: Método horizontal para el recuento de estafilococos coagulasa positiva (<i>S. aureus</i> y otras spp). Parte 1 Técnica que utiliza agar Baird Parker. (ISO 6888-1:1999).

Tabla N° 2

Resultados evaluación de homogeneidad.

Componente/analito	n	Criterio aceptabilidad	Resultado test
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	$F_{\text{observado}} (2,51) < F_{\text{crítico}} (3,02)$	Aceptable

n: número de muestras ensayadas en duplicado

La evaluación de estabilidad a largo plazo a temperatura de almacenamiento de congelación, está basada en ISO Guide 35.

Tabla N°3:

Resultados Test de Estabilidad.

Componente/analito	n	Criterio aceptabilidad	Resultado test
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	$t_{b1} (0,148) < t_{0,95, n-2} (3,18)$	Aceptable

n: número de muestras ensayadas en duplicado

Los test de homogeneidad y estabilidad realizado a los ítemes de ensayo entregaron resultados que demuestran que el material es homogéneo y estable para los fines previstos.

Tabla N°4:

Valor asignado para la evaluación de desempeño de la ronda se estableció según consenso de los participantes.

Componente/Analito	Valor asignado (UFC/g)	Valor asignado (Log_{10} UFC/g)	Incertidumbre valor asignado (Log_{10} UFC/g)	Trazabilidad
<i>Staphylococcus aureus</i>	3400	3,53	0,0368	Trazable a ATCC 25923

La incertidumbre del valor asignado fue obtenida a través de:

$$\mu (X_{pt}) = 1,25 x \frac{S^*}{\sqrt{p}}$$

Cada laboratorio recibió las instrucciones para manipulación e indicaciones prácticas de seguridad a tomar en cuenta durante el desarrollo del ensayo. Se recomendó a los participantes el uso de métodos y técnicas analíticas rutinarias del laboratorio.

5. CRONOGRAMA

5.1. Envío de material de ensayo.

10 / 05 / 2022

5.2. Fecha límite de envío de resultados de los laboratorios participantes (Plazo de respuesta).

08 / 06 / 2022

5.3. Fecha publicación informe parcial en Portal PEEC.

07 / 07 / 2022

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Luego del cierre de la ronda, los resultados fueron recolectados a través del Portal PEEC.

Se evaluó la existencia de datos anómalos, en base al método estadístico de Grubbs, sin ser excluidos de los análisis.

Además, se evaluó la existencia de datos extremos en base al criterio de ± 50 % de Mediana según el Protocolo Internacional Armonizado IUPAC. Una vez establecidos éstos, fueron eliminados y se procedió a realizar el análisis estadístico. En los anexos se encuentran identificados aquellos resultados anómalos y/o extremos.

El análisis estadístico se basó en el valor de consenso de los participantes a través de la mediana con desviación estándar MADe histórica de la ronda.

Los resultados de los análisis cuantitativos obtenidos por los laboratorios son transformados a valores estándares (z-score).

Para el desempeño de los resultados de los participantes, los criterios de aceptabilidad son clasificados de la siguiente manera:

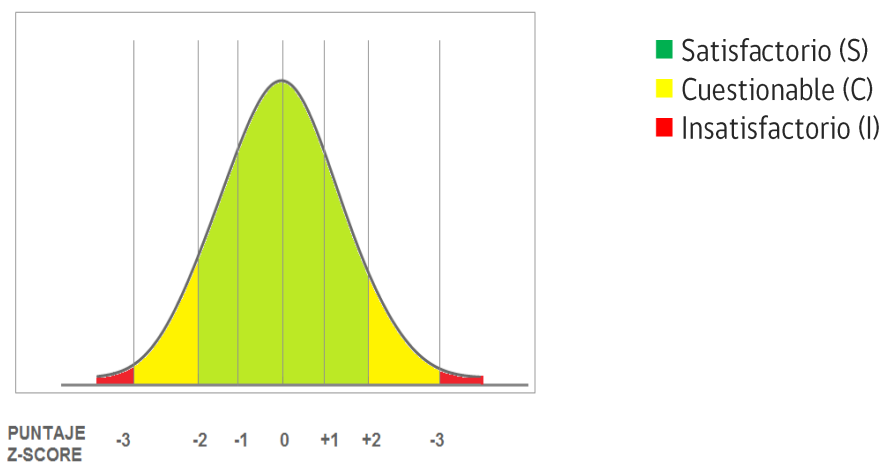
$$z = \frac{x_i - x_{pt}}{\sigma_{pt}}$$

dónde:

- z = Valor z, z-score.
- x_i = Resultado del participante.
- x_{pt} = Valor asignado.
- σ_{pt} = Desviación estándar de la evaluación de aptitud.

Figura1.

Valor de z-score y criterios de aceptabilidad



$|z| \leq 2$: es decir, entre -2,00 y +2,00 el desempeño es **SATISFACTORIO**.

$2 < |z| < 3$: entre -2,01 y -2,99 y; entre +2,01 y +2,99 el desempeño es **CUESTIONABLE**.

$|z| \geq 3$: el resultado del laboratorio es **INSATISFACTORIO**.

7. RESULTADOS INFORMADOS POR LOS PARTICIPANTES

7.1.- Datos

Los resultados enviados por los participantes para *Staphylococcus aureus* se presentan en la tabla N° 7 del punto 12. ANEXOS de este informe.

De los 20 laboratorios adscritos, el 95 % enviaron resultados.

Se solicitó a los laboratorios reportar sus resultados con números enteros y dos cifras significativas.

7.2.- Técnicas y métodos

Respecto de los métodos informados por los laboratorios y que fueron utilizados para la determinación del analito se puede comentar que:

- Para determinación de *Staphylococcus aureus*, los laboratorios participantes señalan utilizar los métodos AOAC 2003.08, BAM Online Chap. 12, ISO 6888-1 y NCh 2671:2002.
- El 100% de los laboratorios informa como medio de cultivo agar Baird Parker.

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS INFORMADOS

En relación a la recopilación y al análisis de datos, la evaluación estadística reportó los siguientes resultados:

Tabla N° 5:

Resumen análisis estadístico para la evaluación de desempeño

Parámetros	<i>Staphylococcus aureus</i>
	(Log ₁₀ UFC/g)
N° datos reportados (<i>n</i>)	19
Valor asignado (x_{pt})	3,53
Desviación estándar ensayo de aptitud (σ_{pt})	0,125
Incertidumbre Valor Asignado $u(x_{pt})$	0,038
N° valores anómalos	0
N° valores extremos	1

En relación a los datos de la tabla N° 5, para fines de la evaluación de desempeño para el analito, el valor asignado fue establecido por consenso de los participantes (mediana) y la desviación estándar del ensayo de aptitud por *MAD_e* histórica de la ronda.

A modo informativo, en la tabla N°6, se presenta el análisis estadístico robusto de la ronda.

Tabla N° 6:

Resumen análisis estadístico robusto de la ronda del analito.

Parámetro	V_{ref}	Incertidumbre del MR $U(k=2)$	Media	Mediana x_{pt}	Incertidumbre de consenso $u(x_{pt})$	MAD	$MADe$
Analito	(Log ₁₀ UFC/g)	(Log ₁₀ UFC/g)	(Log ₁₀ UFC/g)	(Log ₁₀ UFC/g)	(Log ₁₀ UFC/g)	(Log ₁₀ UFC/g)	(Log ₁₀ UFC/g)
<i>S.aureus</i>	3,80	0,072	3,52	3,53	0,0368	0,101	0,149

MAD : Desviación absoluta media, Mediana del valor absoluto de todas las desviaciones o mediana de las diferencias absolutas.

$MADe$: Desviación estándar de consenso (Absoluta media estandarizada).

Nota: El valor de referencia (V_{ref}) y su incertidumbre $u(MR)$ son solo para fines de información de los laboratorios, no fueron utilizados para fines de la evaluación de desempeño de los participantes

En la tabla N° 7 del punto 12. ANEXOS, se resumen los resultados reportados por cada participante y los z-score alcanzados.

9. EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO

La evaluación de desempeño se estableció a través del modelo estadístico z-score, calculado con el valor asignado y la desviación estándar indicada en la tabla N° 5 del presente informe.

Los valores de z-score y la evaluación de desempeño de cada participante respecto al análisis de *Staphylococcus aureus* en leche en polvo, se puede observar en la tabla N°7, (Punto 12. ANEXOS).

Los gráficos circulares de la evaluación de desempeño global por cada analito, la evaluación de desempeño de cada analito versus método de referencia informado por los participantes, distribución de z-score y la dispersión de resultados, se presentan en anexos numerados desde gráfica N° 1.

10. COMENTARIOS Y SUGERENCIAS (*)

- (*) De un total de 20 laboratorios adscrito para esta ronda, el 95% envió resultados.
- (*) Para el análisis estadístico del analito *Staphylococcus aureus* no se presentaron datos anómalos y se presentó 1 dato extremo.
- (*) Se observa que respecto al año 2021 el desempeño para el analito *Staphylococcus aureus* ha aumentado desde un 78,9% a un 94,7% de satisfactoriedad.

- e) (*) Se sugiere revisar datos, cálculos y unidades, como posible causa de desviación de resultados para laboratorios que cuenten con un z-score dentro del rango de cuestionables, así como también cuando se observen tendencias por defecto o exceso.
- f) (*) Para muestras liofilizadas y en almacenamiento a temperatura de congelación, es importante considerar un periodo suficiente de resucitación de las células, con el fin de obtener una buena recuperación de las mismas.
- g) (*) En la gráfica N°5 se puede observar la distribución de los resultados de los participantes respecto al valor de referencia del ítem de ensayo y su incertidumbre. Por otro lado, se observa en la tabla N°7 se encuentra una columna con el valor de referencia.
- h) (*) Los comentarios de este informe marcados con asterisco (*) no están amparados por la acreditación de ENAC.
- i) La versión autorizada del informe final se encuentra publicada en página Web institucional: www.ispch.cl

11. REFERENCIAS

1. *ISO 13528:2015 (E). Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons.*
2. NCh-ISO 17043:2011, Evaluación de la conformidad - requisitos generales para los ensayos de aptitud.
3. *Robust Statistics: a Method of Coping with Outliers". Royal Society of Chemistry, Analytical Methods Committee, N° 6, A.*
4. *Thompson, M., Ellison, S.L.R and Wood, R. 2006. The International Harmonized Protocol for Proficiency*
5. *The International Harmonized Protocol for Proficiency testing of analytical chemistry laboratories (IUPAC) (2006). Pure Appl. Chem. Vol78, pp. 145-196.*
6. NCh-ISO 22117 Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal-Requisitos específicos y directrices para los ensayos de aptitud por comparaciones interlaboratorios. *(Cuando corresponda en Ensayos de Aptitud Microbiológicos)*

12.ANEXOS

Tabla N° 7

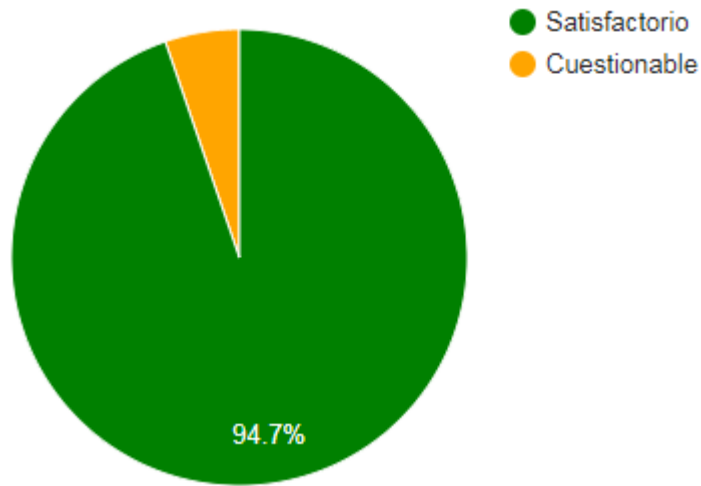
Resultados de *Staphylococcus aureus* reportados, valores de *z*-score, evaluación de desempeño y valor de referencia.

CIL	Resultados UFC/g	Resultados Log ₁₀ UFC/g	<i>z</i> -score	Evaluación de desempeño	Valor Anómalo (A) / Valor Extremo (E)	Valor de Referencia Log ₁₀ UFC/g
QAMA2201	2400	3,38	-1,21	Satisfactorio	-	3,80
QAMA2202	3800	3,58	0,39	Satisfactorio	-	3,80
QAMA2205	3300	3,52	-0,1	Satisfactorio	-	3,80
QAMA2207	1800	3,26	-2,21	Cuestionable	-	3,80
QAMA2211	4250	3,63	0,78	Satisfactorio	-	3,80
QAMA2215	3300	3,52	-0,1	Satisfactorio	-	3,80
QAMA2219	4000	3,60	0,57	Satisfactorio	-	3,80
QAMA2220	4500	3,65	0,97	Satisfactorio	-	3,80
QAMA2221	3500	3,54	0,1	Satisfactorio	-	3,80
QAMA2224	4700	3,67	1,13	Satisfactorio	-	3,80
QAMA2229	4600	3,66	1,05	Satisfactorio	-	3,80
QAMA2239	5100	3,71	1,41	Satisfactorio	-	3,80
QAMA2240	*	*	*	*	*	3,80
QAMA2245	2700	3,43	-0,8	Satisfactorio	-	3,80
QAMA2257	2773	3,44	-0,71	Satisfactorio	-	3,80
QAMA2270	3100	3,49	-0,32	Satisfactorio	-	3,80
QAMA2273	2000	3,30	-1,84	Satisfactorio	-	3,80
QAMA2281	5600	3,75	1,73	Satisfactorio	E	3,80
QAMA2283	4300	3,63	0,82	Satisfactorio	-	3,80
QAMA2286	2100	3,32	-1,67	Satisfactorio	-	3,80

*: No reporta resultados

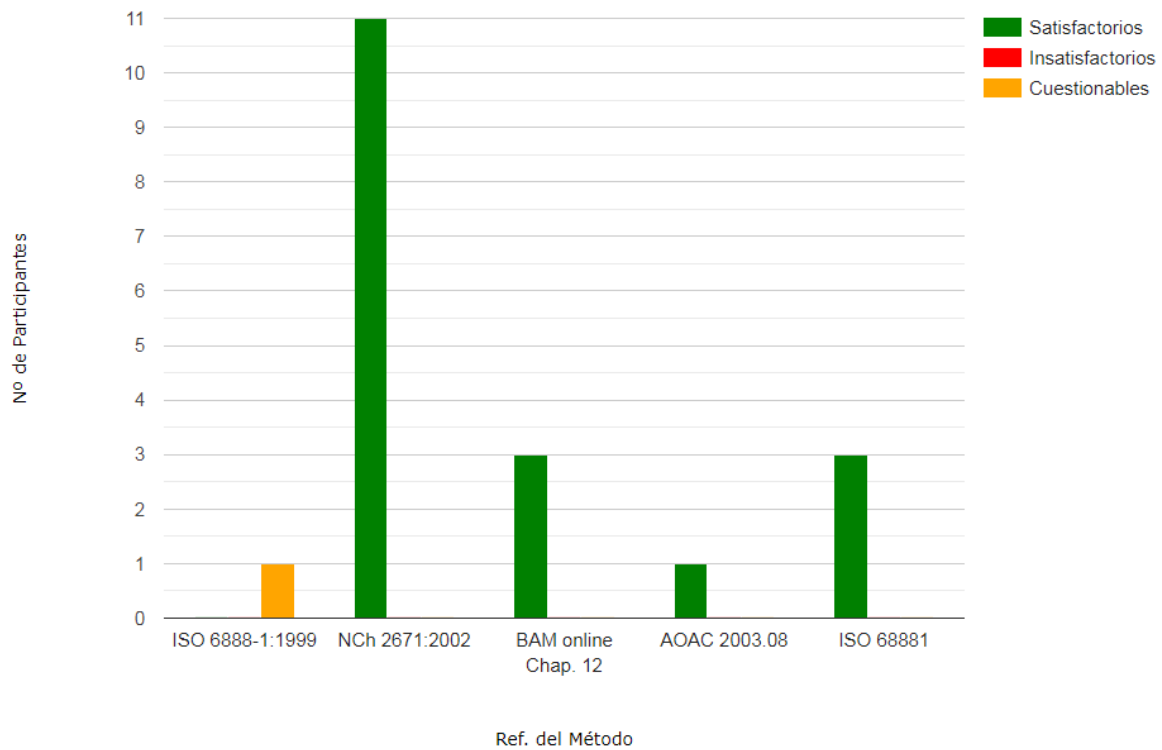
GRÁFICA N° 1

Evaluación de desempeño de *Staphylococcus aureus*.

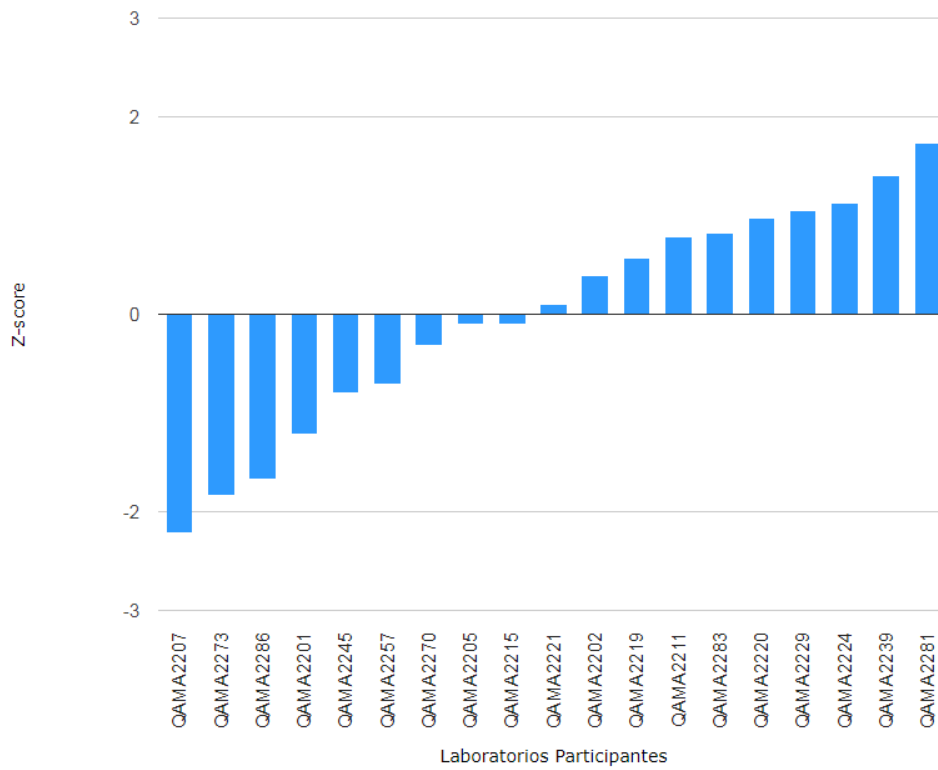


GRÁFICA N° 2.

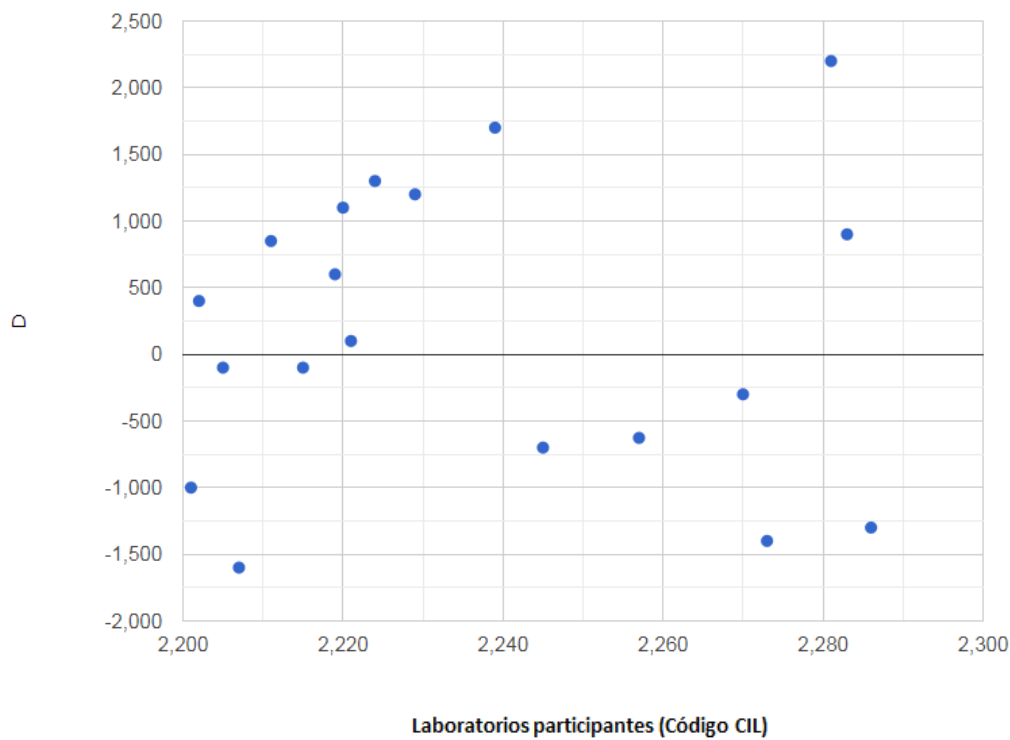
Evaluación de desempeño según método utilizado por los laboratorios para determinación de *Staphylococcus aureus*.



GRÁFICA N° 3.
 Distribución de z-score para determinación de *Staphylococcus aureus*.

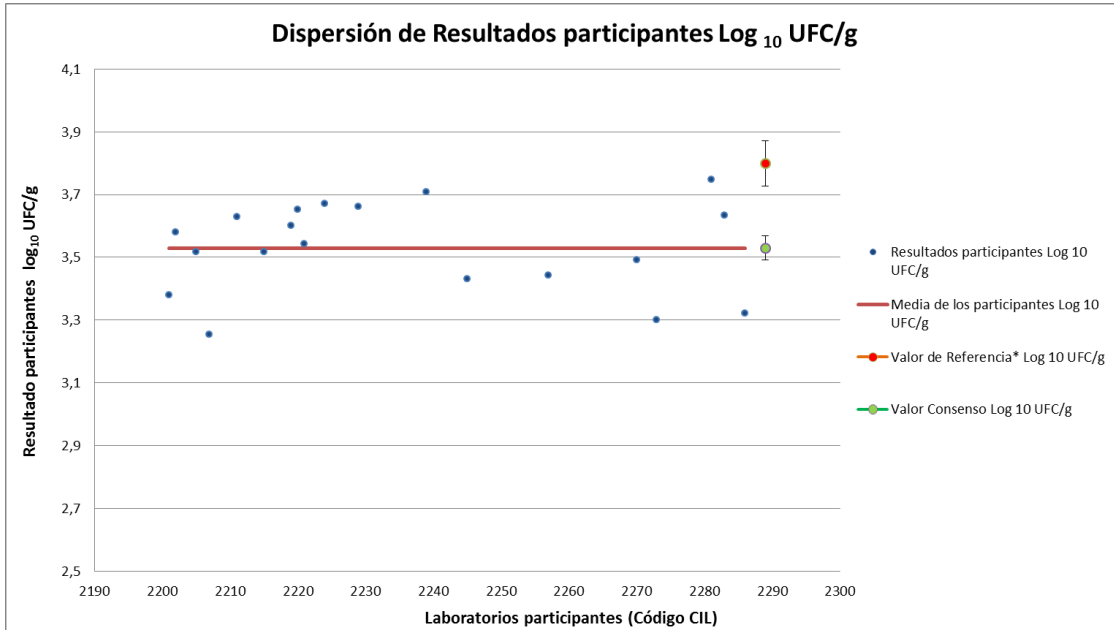


GRÁFICA N° 4.
 Dispersión de datos para determinación de *Staphylococcus aureus*.



GRÁFICA N° 5.

Grafica de distribución de los datos de los participantes respecto del valor de referencia del MR y su incertidumbre.



Nota: * EL valor de referencia es acompañado de la barras que indican la incertidumbre expandida del valor ($U_{(k=2)}$).

