

INFORME FINAL ENSAYO DE APTITUD PEEC MA01-2012
PEEC MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS
Enumeración de *Staphylococcus aureus* mediante Técnica de Recuento en Placa

Departamento Salud Ambiental
Instituto de Salud Pública de Chile
Avda. Marathon 1000, Ñuñoa
Santiago de Chile

Coordinador PEEC:

Leonor Esquivel M.

v.0 12.11.2012

Autorizado por

Rubén Verdugo C

metrologia@ispch.cl

CONTENIDO

1. LISTA DE PARTICIPANTES	4
2. RESPONSABLES	7
3. INTRODUCCIÓN	7
4. MATERIAL DE ENSAYO	7
5. CRONOGRAMA	7
6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	8
7. RESULTADOS INFORMADOS POR LOS PARTICIPANTES DEL PEEC	9
8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS INFORMADOS	9
9. EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO	10
10. COMENTARIOS Y SUGERENCIAS	10
11. GLOSARIO	11
12. ANEXOS	12

1. Lista de Participantes

5M S.A.	Talcahuano	Chile
Alimentos Multiexport S.A.	Puerto Montt	Chile
Aquagestion	Pto.Montt	Chile
BIOVAC S.A. -Sede Puerto Aysén	Puerto Aysén	Chile
Bronor Ltda.	Antofagasta	Chile
Certilab	San Carlos	Chile
Cesmec S.A	Santiago	Chile
Cesmec S.A Sede Iquique	Iquique	Chile
Cesmec S.A. Sede Talcahuano	Talcahuano	Chile
Corthorn Quality Chile S.A	Santiago	Chile
Dictuc	Santiago	Chile
GCL, Gestión de Calidad y Laboratorio	Santiago	Chile
GCL, Gestión de Calidad y Laboratorio- Sede Concepción	Concepción	Chile
Industria de Alimentos Dos en Uno	Santiago	Chile
Instituto de la Calidad y Medio Ambiente (ICMA)	Arequipa	Perú
International Analytical Services S.A.C-INASSA	Lima	Perú
Intertek Lab & Testing Chile SPA	Talcahuano	Chile
Intertek Labs & Testing	Iquique	Chile
Intertek Labs And Testing Chile S.A.	Santiago	Chile
Laboratorio Ambiental-SEREMI de Salud Araucanía	Temuco	Chile
Laboratorio Ambiental de San Felipe de la SEREMI de Salud Región de Valparaíso	Valparaíso	Chile
Laboratorio Ambiental de Viña del Mar de la SEREMI de Salud Región Valparaíso	Viña del Mar	Chile
Laboratorio Ambiental del Maule-SEREMI de Salud Maule	Talca	Chile
Laboratorio Ambiental del Maule- SEREMI de Salud Maule	Talca	Chile
Laboratorio Ambiental Llanquihue-SEREMI de Salud Región de Los Lagos	Puerto Montt	Chile

Laboratorio Ambiental Ñuble Delegación Provincial Ñuble SEREMI de Salud del Bío Bío	Chillán	Chile
Laboratorio Ambiental O'Higgins SEREMI de Salud O'Higgins	Rancagua	Chile
Laboratorio Ambiental Región Arica y Parinacota	Arica	Chile
Laboratorio Aquagross	Chillán	Chile
Laboratorio Aseguramiento Calidad de la Medición LACM	Valdivia	Chile
Laboratorio ASISTEC, Escuela de Ingeniería de Alimentos, PUCV	Valparaíso	Chile
Laboratorio CTS de SGS Chile Sede Puerto Varas	Puerto Varas	Chile
Laboratorio CTS de SGS Chile Sede Santiago	Santiago	Chile
Laboratorio de Alimentos-Universidad Austral de Chile	Valdivia	Chile
Laboratorio de Alimentos-IDIC	Santiago	Chile
Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Agua de la Universidad de Talca	Talca	Chile
Laboratorio de Microbiología WSS S.A.	Iquique	Chile
Laboratorio de Salud Ambiental Concepción	Concepción	Chile
Laboratorio de Salud Pública de la SEREMI de Salud Magallanes, Punta Arenas.	Punta Arenas	Chile
Laboratorio de Servicios Avanzados Labser Ltda	Rancagua	Chile
Laboratorio del Ambiente Bío Bío-SEREMI de Salud Bio Bío	Los Angeles	Chile
Laboratorio del Ambiente Osorno-SEREMI de Salud Región de los Lagos	Osorno	Chile
Laboratorio del Ambiente SEREMI de Salud Región Coquimbo	La Serena	Chile
Laboratorio del Ambiente SEREMI Salud Región de los Rios	Valdivia	Chile
Laboratorio del Ambiente SEREMI Salud Tarapacá	Iquique	Chile
Laboratorio Lecyca Universidad del Bío Bío	Chillán	Chile
Laboratorio Sanitario Ambiental SEREMI Salud RM	Santiago	Chile
Laboratorio SeasLab	Santiago	Chile
Laboratorio SEMA Ltda.	Melipilla	Chile
Labotec Ltda.	Antofagasta	Chile
LABSER Puerto Montt (ex-BIOVAC S.A. Puerto Montt)	Puerto Montt	Chile
Mical	Santiago	Chile

Microbiología Salmones Antártica S.A.	Chonchi	Chile
Quality Lab Ltda.	Curicó	Chile
Sección Microbiología de Alimentos-Instituto de Salud Pública de Chile	Santiago	Chile
Taag Genetics S.A.	Santiago	Chile
Unidad de Calidad Facultad Cs. Qcas y Farmacéuticas Universidad de Chile	Santiago	Chile
Viamed Technical Laboratory S.A.	Santiago	Chile

2. Responsables

Los profesionales que colaboraron en el desarrollo de este trabajo fueron:

- Leonor Esquivel (Coordinador)
- Fabiola Rojas (Colaborador)
- Julieta De la Cruz (Personal de apoyo)

3. Introducción

El presente informe corresponde a la evaluación de la ronda de ensayo interlaboratorios denominada MA01-2012, que comprendió la Enumeración de *Staphylococcus aureus* mediante la Técnica de Recuento en Placa desarrollado por el PEEC de la Sección Metrología Ambiental y de Alimentos. Esta ronda fue la primera en el 2012 del área ambiental y de alimentos, que utilizó la captura de datos, procesamiento estadístico y envío de resultados preliminares vía portal PEEC.

4. Material de Ensayo - Envío

El ítem de ensayo consistió en una cepa liofilizada de *Staphylococcus aureus* NCTC 10788 adquirido por el Instituto de Salud Pública de Chile.

Cada uno de los laboratorios recibió una muestra debidamente etiquetada y sellada para la Enumeración de *Staphylococcus aureus*.

Cada participante recibió las instrucciones para manipular el material de ensayo y realizar el análisis de rutina correspondiente. Asimismo, se indicó que debían cumplir con las prácticas estándares de seguridad durante el desarrollo del ensayo. Los participantes debían analizar las muestras de ensayo utilizando la Técnica de Recuento en placa, idealmente incluyendo la muestra, dentro de una partida analítica. Además, se solicitó a los participantes que informaran la referencia de la Técnica de Enumeración, medio de dilución, medios de cultivo, métodos confirmatorios, entre otros utilizados para la realización del ensayo.

5. Cronograma

Envío de material de ensayo	20 de Agosto
Fecha límite de envío de resultados	17 de Septiembre
Envío informe de ensayo de aptitud (*)	17 de Octubre

(*) La fecha programada para el informe corresponde al informe preliminar.

6. Análisis estadístico

Luego del cierre de la ronda, los resultados son recolectados y analizados estadísticamente.

El valor asignado para la evaluación del ensayo de enumeración es la media robusta de todos los resultados evaluables de los participantes (valor de consenso). La desviación estándar de la ronda es la mediana de todas las distancias absolutas de la mediana de las muestras multiplicada por el factor 1,483 y es determinada a partir de los resultados informados por los participantes. Todos los resultados reportados son transformados a \log_{10} previo al análisis estadístico.

Se realiza un análisis estadístico de los resultados cuantitativos para ayudar en la detección de tendencias y lograr la comparación utilizando un indicador de desempeño conocido como z-score.

El Z-score estima el error que existe entre el resultado informado y el valor asignado del material de ensayo, y la desviación estándar del ensayo de aptitud. El z-score es definido por la siguiente ecuación, para esta evaluación:

$$Z = \frac{X - X_a}{\sigma_{pt}}$$

Donde:

Z= Valor Z-score

X= Concentración reportada del analito en el material de ensayo

X_a= Valor asignado o de referencia

σ_{pt}= Desviación estándar del ensayo de aptitud.

Los criterios de aceptabilidad, están definidos por el valor obtenido por cada laboratorio, que son clasificados de la siguiente manera:

[Z] ≤ 2: es decir, entre -2,00 y +2, 00 el resultado del laboratorio es satisfactorio.

2 < [Z] < 3: es decir, entre -2,01 y < -3,00 y; entre +2,01 y < +3,00 el resultado del laboratorio es cuestionable.

[Z] ≥ 3: si el resultado del laboratorio es mayor o igual a 3,00 el resultado es insatisfactorio.

El laboratorio participante deberá ubicarse en las tablas de acuerdo al código confidencial (CIL) asignado a su laboratorio, el que fue notificado junto al envío de la muestra de ensayo.

7. Resultados informados por los participantes del PEEC

7.1.- Datos

De los 59 laboratorios adscritos, 53 enviaron resultados dentro del plazo establecido, lo que se expresa en un 90% de respuesta general.

Los resultados enviados por los participantes se presentan en la tabla N° 3 que se encuentra en el anexo.

7.2.- Técnica y Métodos de Referencia

En esta ronda se solicitó que los participantes analizaran las muestras de ensayo utilizando la Técnica de Recuento en placa, donde 34 de los laboratorios reportó la Técnica de Enumeración con Siembra en Superficie, 16 laboratorios indicaron haber utilizado siembra en Profundidad y sólo 3 reportaron el uso de Petrifilm™.

Respecto de los Métodos de Referencia informados por los laboratorios se indica lo siguiente:

Tabla N° 1: Métodos de Referencia reportados por los participantes para Enumeración de *Staphylococcus aureus* mediante Técnica de Recuento en Placa.

MÉTODO DE REFERENCIA	n	%
NCh 2671 Of 2002	30	57
Manual de Técnicas microbiológicas para Alimentos y Aguas, Capítulo IV,1998	4	8
BAM online	10	19
AOAC	5	9
ISO 6888-1	3	6
Sistema automatizado AFNOR	1	2

En la tabla N° 4 se detalla la evaluación obtenida, según el método de referencia utilizado, ésta información se representa gráficamente en el anexo (Ver gráfico N°4)

8. Análisis estadístico de los resultados informados

Para la evaluación de desempeño se determinó un valor asignado de consenso correspondiente a la mediana de todos los resultados considerados. De los 53 resultados enviados, sólo uno se consideró anómalo. Para el análisis de datos anómalos se realizó el test estadístico de Grubbs. La evaluación estadística reportó los siguientes valores:

Tabla N° 2: Resumen análisis estadístico muestra

Parámetros	<i>Staphylococcus aureus</i>
n	53
Valor asignado por consenso ufc/g	6900
Valor asignado por consenso expresado en log	3,8388
Desviación estándar de la ronda	0,1345
N° anómalos	1

9. Evaluación de desempeño

La calificación (z-score) obtenida por laboratorio se puede observar en las Tabla N° 3.

Se confeccionó una gráfica circular para expresar en porcentaje los resultados satisfactorios, cuestionables o insatisfactorios obtenidos. Ésta grafica corresponde a la evaluación de desempeño y se encuentra en el gráfico N° 2. Mientras que el gráfico N°3 corresponde a la Distribución de resultados según el Z-score obtenido.

10. Comentarios y Sugerencias

- a) Los resultados informados muestran un alto porcentaje de resultados satisfactorios (81%), el 15% correspondió a resultados no satisfactorios, mientras que el 2% restante obtuvo resultado cuestionables, para la enumeración de *Staphylococcus aureus* mediante la Técnica de Recuento en Placa.
- b) Se determinó un valor anómalo, mediante el test de Grubbs
- c) No reportaron resultados 6 laboratorios.
- d) Sugerimos a los laboratorios que obtuvieron valores de z-score superiores a [3] y aquellos laboratorios con resultados cuestionables, que evalúen las causas del error del resultado, desde el punto de vista de cálculos de resultados y analítico, a fin de realizar las correspondientes medidas correctivas.

11. Glosario

Material de Referencia (MR): Es el material o sustancia en el cual uno o más valores de sus propiedades son suficientemente homogéneos y están bien definidos para permitir utilizarlos para la calibración de un instrumento, la evaluación de un método de medición o la asignación de valores a los materiales.

Valor Asignado: Valor atribuido a una propiedad particular de un ítem de ensayo de aptitud.

- i) Valor conocido con resultados determinados mediante una formulación específica del ítem de ensayo de aptitud (fabricación o dilución).
- ii) Valor de referencia certificado según lo determinado mediante los métodos de ensayo o medición definitivos para ensayos cuantitativos.
- iii) Valores de referencia, como los determinados mediante análisis medición o comparación del ítem de ensayo de aptitud junto con un material de referencia o patrón trazable a un patrón nacional o internacional
- iv) Valores consensuados por participantes expertos (que en algunos casos pueden ser laboratorios de referencia) los que deberían tener competencia demostrable en la determinación del o de los mensurandos a ensayar, utilizando métodos validados que se sepa son altamente exactos y comparables a los métodos utilizables en general.
- v) valores consensuados por los participantes utilizando los métodos estadísticos descritos en ISO 13528 y en el protocolo armonizado internacional de IUPAC, teniendo en cuenta los efectos de los valores atípicos.

Desviación estándar para la evaluación de la aptitud: Es la medida de la dispersión utilizada en la evaluación de los resultados de la escala de valores y la escala diferencial, sobre los ensayos de aptitud, basados en la información disponible.

Z-score: Puntuación estadística estándar, puntuación típica, puntuación de la Z. El *Z-score* es el valor de una medida en un individuo dado comparado con un grupo similar, se calcula, en base a la media y la desviación estándar del grupo o el valor de referencia establecido, es decir, representa el número de DS por encima o debajo del valor medio o de referencia.

12. Referencias

1. "Robust Statistics: a Method of Coping with Outliers". Royal Society of Chemistry, Analytical Methods Committee, Nº 6, A
2. ISO 13528:2005 (E). Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons.
3. The International Harmonized Protocol for Proficiency testing of analytical chemistry laboratories (2006). Pure Appl. Chem. Vol78, pp 145-196.
4. AMC technical brief (2006). Representing data distribution with kernel density estimates.

13. Anexos

Tabla N°3. Resultados reportados por los laboratorios acerca de la Enumeración de *Staphylococcus aureus* mediante la Técnica de Recuento en Placa.

Evaluación	E
Satisfactorio	S
Cuestionable	C
No Satisfactorio	I

CÓDIGO LAB.	RESULTADOS LAB. UFC/mL o UFC /g	Z-SCORE	E	REF. DEL METODO
MA0587	5668	-0,64	S	NCh2671
MA0589	5900	-0,51	S	NCh2671
MA0591	5500	-0,73	S	AOAC
MA0593	7135	0,11	S	NCh2671
MA0599	160000	10,15	I	NCh2671
MA0601	8200	0,56	S	NCh2671
MA0605	9400	1,00	S	NCh2671
MA0607	7900	0,44	S	AOAC
MA0609	6100	-0,4	S	ISO 6888-1
MA0613	8300	0,6	S	AOAC
MA0615	7500	0,27	S	BAM online
MA0617	11000	1,51	S	AOAC
MA0619	5927	-0,49	S	NCh2671
MA0621	7800	0,4	S	NCh2671
MA0623	10500	1,36	S	NCh2671
MA0625	6200	-0,35	S	NCh2671
MA0631	8600	0,71	S	BAM online
MA0637	3100	-2,58	C	NCh2671
MA0639	6300	-0,29	S	BAM online
MA0641	6300	-0,29	S	BAM online
MA0643	8400	0,64	S	NCh2671
MA0645	9300	0,96	S	NCh2671
MA0651	740	-7,21	I	BAM online
MA0657	8800	0,79	S	Manual ISP 1998
MA0663	9700	1,10	S	NCh2671
MA0665	4227	-1,58	S	NCh2671
MA0669	6600	-0,14	S	NCh2671
MA0671	7800	0,4	S	NCh2671
MA0673	8600	0,71	S	NCh2671
MA0675	7800	0,4	S	NCh2671
MA0685	220	-11,13	I	Manual ISP 1998
MA0689	1300	-5,39	I	NCh2671
MA0693	850	-6,76	I	Manual ISP 1998
MA0695	3500	-2,19	C	BAM online

MA0697	2120	-3,81	I	BAM online
MA0699	7000	0,05	S	ISO 6888-1
MA0703	8000	0,48	S	Manual ISP 1998
MA0705	8400	0,64	S	NCh2671
MA0713	5800	-0,56	S	NCh2671
MA0715	6900	0,0	S	NCh2671
MA0717	8600	0,71	S	BAM online
MA0719	2100	-3,84	I	NCh2671
MA0723	3800	-1,93	S	NCh2671
MA0725	2700	-3,03	I	BAM online
MA0727	5600	-0,67	S	NCh2671
MA0729	9100	0,89	S	ISO 6888-1
MA0733	9600	1,07	S	NCh2671
MA0737	8500	0,67	S	NCh2671
MA0739	6100	-0,4	S	NCh2671
MA0741	5200	-0,91	S	AFNOR
MA0745	3900	-1,84	S	NCh2671
MA0761	7900	0,44	S	BAM online
MA0769	6300	-0,29	S	AOAC

Tabla N°4: Evaluación de desempeño de los laboratorios participantes, según Método de Referencia utilizado.

Método de Referencia	Evaluación		
	SATISFACTORIA	CUESTIONABLE	INSATISFACTORIA
NCh 2671 Of 2002	24	1	3
Manual de Técnicas microbiológicas para Alimentos y Aguas, Capítulo IV,1998	2	0	2
BAM online	6	1	3
AOAC	5	0	0
ISO 6888-1	2	0	0
Sistema automatizado AFNOR	1	0	0

Grafico Nº 1: Distribución datos z-score

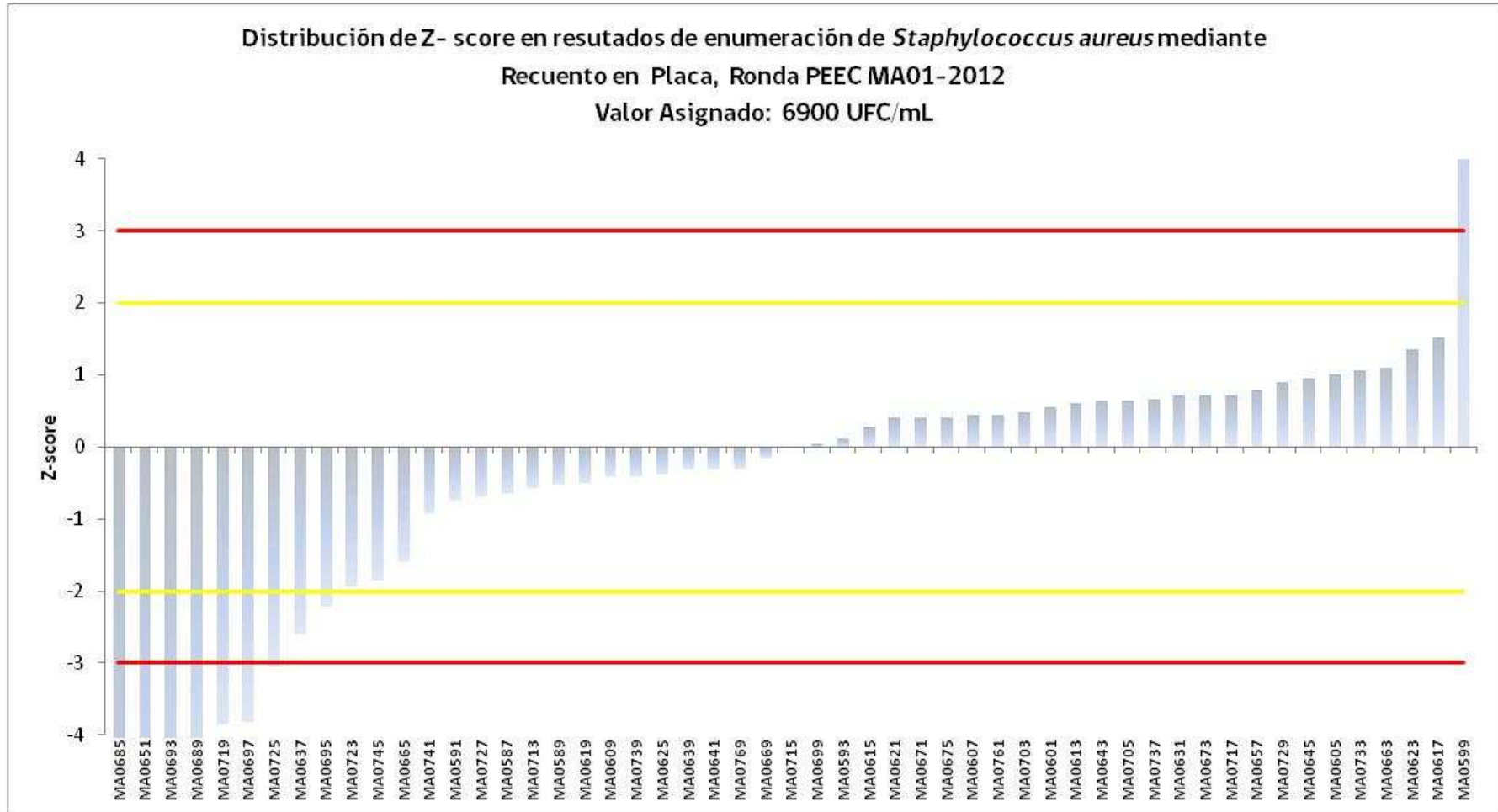


Gráfico N°2: Distribución porcentual de Evaluación de desempeño

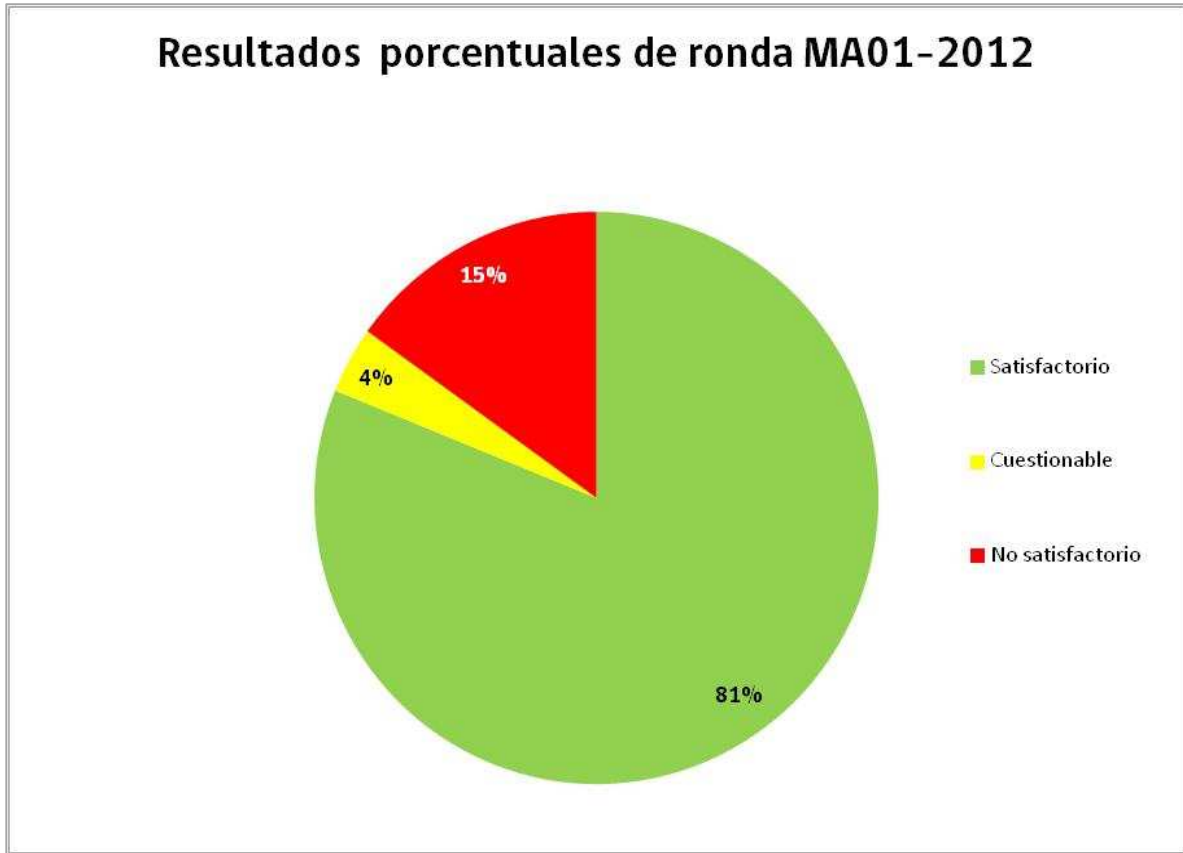


Gráfico N°3: Distribución de resultados para la Enumeración de *Staphylococcus aureus* según Z-score obtenido.

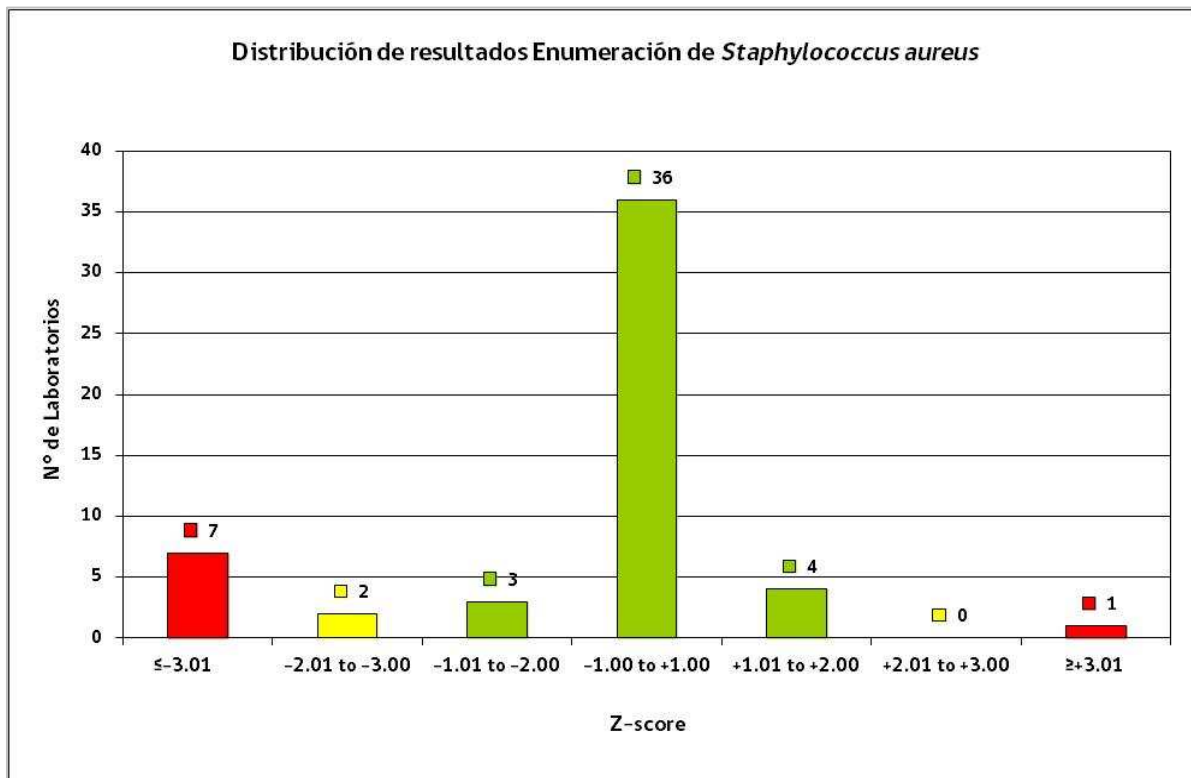


Gráfico N°4: Distribución del desempeño según el método de Referencia informado por los laboratorios participantes.

