

PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DE CALIDAD PEEC | MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS

# ENUMERACIÓN DE MICROORGANISMOS EN ALIMENTOS: ENUMERACIÓN DE *E. COLI* MEDIANTE MÉTODO SEGÚN NCH 3056

INFORME FINAL ENSAYO DE APTITUD PEEC | MA03B-2015 V.0



P E E C  
PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DE CALIDAD



**ENUMERACIÓN DE MICROORGANISMOS EN ALIMENTOS:**  
ENUMERACIÓN DE E. COLI MEDIANTE MÉTODO SEGÚN NCH 3056

**Coordinador PEEC**

QF. Ma. Natalia Gutiérrez  
16/02/2016 v.0

**Autorizado por:**

Jefe (TyP) Departamento Salud Ambiental  
Roberto Bravo Méndez

Departamento Salud Ambiental  
Subdepartamento de Metrología y Desarrollo Tecnológico  
Sección Metrología Ambiental y de Alimentos  
Instituto de Salud Pública de Chile  
Avda. Marathón 1000, Ñuñoa  
Santiago de Chile



**P E E C**  
PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DE CALIDAD

# ENUMERACIÓN DE MICROORGANISMOS EN ALIMENTOS: ENUMERACIÓN DE *E. COLI* MEDIANTE MÉTODO SEGÚN NCH 3056

---

## CONTENIDO

---

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

## 1. LISTA DE PARTICIPANTES

5M S.A.	CONCEPCIÓN
ALIMENTOS MULTIEXPORT S.A.	PUERTO MONTT
AQUAGESTION	PUERTO MONTT
CERTILAB LABORATORIOS	CHILLÁN
CESMEC S.A SEDE IQUIQUE	IQUIQUE
CESMEC S.A SEDE SANTIAGO	SANTIAGO
CESMEC S.A. SEDE CONCEPCIÓN	CONCEPCIÓN
CORTHORN QUALITY CHILE S.A.	SANTIAGO
GCL, GESTIÓN DE CALIDAD Y LABORATORIO SEDE CONCEPCIÓN	CONCEPCIÓN
INTERTEK CALEB BRETT CHILE S.A.	IQUIQUE
INTERTEK CALEB BRETT CHILE S.A. SEDE TALCAHUANO	CONCEPCIÓN
LABORATORIO AMBIENTAL DE SAN FELIPE DE LA SEREMI DE SALUD REGIÓN DE VALPARAÍSO	VALPARAÍSO
LABORATORIO AMBIENTAL DE VIÑA DEL MAR DE LA SEREMI DE SALUD REGIÓN VALPARAÍSO	VIÑA DEL MAR
LABORATORIO AMBIENTAL LLANQUIHUE / SEREMI DE SALUD REGIÓN DE LOS LAGOS	PUERTO MONTT
LABORATORIO AMBIENTAL ÑUBLE DELEGACIÓN PROVINCIAL ÑUBLE SEREMI DE SALUD DEL BIO BÍO	CHILLÁN
LABORATORIO AMBIENTAL O'HIGGINS SEREMI DE SALUD O'HIGGINS	RANCAGUA
LABORATORIO ASEGURAMIENTO CALIDAD DE LA MEDICIÓN / LACM	VALDIVIA
LABORATORIO ASISTEC, ESCUELA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS, PUCV	VALPARAÍSO
LABORATORIO CERMAQ CHILE S.A. (EX CULTIVOS MARINOS CHILOÉ S.A.)	ANCUD
LABORATORIO CTS DE SGS CHILE SEDE PUERTO VARAS	PUERTO VARAS
LABORATORIO CTS DE SGS CHILE SEDE SANTIAGO	SANTIAGO
LABORATORIO DE ALIMENTOS-UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE	VALDIVIA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS Y AGUA DE LA UNIVERSIDAD DE TALCA	TALCA
LABORATORIO DE SALUD AMBIENTAL CONCEPCIÓN	CONCEPCIÓN
LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA	COPIAPÓ
LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE LA SEREMI DE SALUD MAGALLANES, PUNTA ARENAS	PUNTA ARENAS
LABORATORIO DEL AMBIENTE BIO BÍO / SEREMI DE SALUD BIO BÍO	LOS ÁNGELES
LABORATORIO DEL AMBIENTE OSORNO/ SEREMI DE SALUD REGIÓN DE LOS LAGOS	OSORNO

LABORATORIO DEL AMBIENTE SEREMI SALUD REGIÓN DE LOS RÍOS	VALDIVIA
LABORATORIO LECYCA UNIVERSIDAD DEL BÍO BÍO	CHILLÁN
LABSER PUERTO MONTT (EX-BIOVAC S.A. PUERTO MONTT)	PUERTO MONTT
MICROBIOLOGÍA SALMONES ANTÁRTICA S.A.	CHILOÉ
NSF INASSA S.A.C.	LIMA
PESQUERA CATALUNYA LTDA.	ANCUD
SECCIÓN MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS/INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE	SANTIAGO
SILOB LABORATORIO PUERTO MONTT	VALPARAÍSO
UNIDAD DE CALIDAD FACULTAD CS. QCAS. Y FARMACÉUTICAS UNIVERSIDAD DE CHILE	SANTIAGO

## 2. RESPONSABLES

---

Personal responsable en la organización y desarrollo de esta ronda:

- QF. Soraya Sandoval (Coordinador (S) Ensayos de aptitud)
- QF. Ma. Natalia Gutiérrez (Elaboración de informe)

Colaboradores:

- Gabriel Zambrano (Preparación de cajas y etiquetado, preparación y embalaje de ítems de ensayo).

## 3. INTRODUCCIÓN

---

Esta ronda fue destinada especialmente a los laboratorios reconocidos por el Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA), y a solicitud de dicho organismo, para evaluar la calidad de las actividades analíticas tanto para los laboratorios que realizan análisis de control de moluscos vivos, como para los laboratorios que realizan control de alimentos hidrobiológicos procesados.

Este informe corresponde a la Ronda de Ensayos Aptitud del Subprograma MA03B-2015, que comprendió la "Enumeración de E. coli mediante método según Norma Chilena 3056". Se solicitó a los laboratorios realizar los ensayos con la Norma Chilena Oficial NCh 3056 corresponde al ensayo de "Microbiología de los alimentos de consumo humano y animal- Método horizontal para la enumeración de Escherichia coli β-glucuronidasa- positiva- Técnica del número más probable utilizando 5- bromo-4-cloro-3-indolil-β-D-glucuronido.

## 4. MATERIAL DE ENSAYO

---

El ítem de ensayo enviado consistió en una cepa liofilizada de Escherichia Coli NCTC 12923 adquirido por el Instituto de Salud Pública y que simula un alimento. Cuyo valor certificado de análisis es:

**Tabla N°1:**

Valor certificado de análisis ítem de ensayo

Analito	Metodología de Análisis	Valor Certificado	Val. Cert. Log.	DE Val. Cert.	DE x 3	DE x 5
Escherichia coli	tres-por-cinco tubos	539,2	2,7317	0,24	0,72	1,2
Escherichia coli	tres-por-tres tubos	539,2	2,7317	0,32	0,96	1,6

La verificación del ítem de ensayo fue realizada en el Laboratorio Nacional Designado de Microbiología en Alimentos perteneciente a la Red Nacional de Metrología.

Cada uno de los laboratorios participantes recibió dos muestras para realizar la determinación solicitada.

Asimismo, les fueron enviadas las instrucciones de manipulación y reconstitución del ítem de ensayo, para realizar la determinación de Escherichia coli con tres tubos por dilución y/o con cinco tubos por dilución, según el control a realizar, control de moluscos vivos o procesados.

## 5. CRONOGRAMA

---

### Envío de material de ensayo

15/Diciembre/2015

### Fecha límite de envío de resultados

14/Enero/2016

### Fecha publicación informe parcial

21/Enero/2016

## 6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

---

Luego del cierre de la ronda, los resultados fueron agrupados según su Código de Identificación de Laboratorio (CIL), y ordenados en forma ascendente.

Los resultados informados como “mayor que” (>) o “menor que” (<) no fueron evaluados.

En el caso del ensayo de aptitud para número más probable (NMP), por tratarse de un análisis semi-cuantitativo, para realizar la evaluación de resultados se calcularon y utilizaron los límites de aceptabilidad de  $\pm 3\sigma$  y  $\pm 5\sigma$ , para el Valor asignado (Va) utilizando la desviación estándar teórica de 0,32 para combinación de tres por tres tubos y de 0,24 para combinación de tres por cinco tubos, aplicando al valor logaritmo de 10 del valor asignado  $\pm 3\sigma$  y  $\pm 5\sigma$ . de acuerdo a la siguiente tabla:

**Tabla N°2:**

*Evaluación de resultados*

$V_a - 3\sigma < x_a < V_a + 3\sigma$	Satisfactorio.	S
$x_a < V_a - 3\sigma$ y $x_a > V_a - 5\sigma$	Cuestionable.	C
$x_a > V_a + 3\sigma$ y $x_a < V_a - 5\sigma$	Cuestionable.	C
$x_a > V_a + 5\sigma$ y $x_a < V_a - 5\sigma$	No satisfactorio, es decir, insatisfactorio.	I

## 7. RESULTADOS INFORMADOS POR LOS PARTICIPANTES

### 7.1.- Datos

De los 37 laboratorios adscritos, 23 laboratorios enviaron resultados (62%). Los resultados enviados por los participantes se presentan en las Tablas N° 3 y 4 situada en anexos.

El participante deberá ubicarse en las tablas de acuerdo al CIL asignado a su laboratorio.

### 7.2.- Métodos y Técnicas

Se solicitó para esta ronda remitirse al método NCh 3056 Of. 2007, se pidió que los participantes analizaran las muestras de ensayo utilizando una serie de tres tubos por dilución o bien de cinco tubos por dilución.

## 8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS INFORMADOS

Los resultados fueron agrupados según número de tubos utilizados por dilución, y ordenados en forma ascendente según código CIL. Luego para el cálculo del desempeño se hará uso de la Tabla N°5.-Límites de aceptabilidad ref. NCh-ISO 22117:2014.

**Tabla N°5:**

*Límites de Aceptabilidad*

Límite de aceptabilidad	Método de tres por tres	Método de tres por cinco
$\pm 3\sigma$	$\pm 0,96 \log_{10}$	$\pm 0,72 \log_{10}$
$\pm 5\sigma$	$\pm 1,60 \log_{10}$	$\pm 1,20 \log_{10}$

## 9. EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO

---

Para los resultados reportados por los laboratorios recuento de Escherichia Coli, tres por tres tubos, los resultados de desempeño Satisfactorios fueron de un 83,3%. Asimismo, los resultados reportados por los laboratorios recuento de Escherichia Coli, tres por cinco tubos, los resultados de desempeño Satisfactorios fueron de un 40%.

Gráficas circulares de los resultados porcentuales obtenidos se presentan en los Gráficos N°1 y 2. (Ver Anexos)

Las gráficas de Dispersión de resultados están diagramados en los Gráficos N°3 y 4. (Ver Anexos).

## 10. COMENTARIOS Y SUGERENCIAS

---

- a) Se enviaron dos muestras por laboratorio adscrito y se envió una guía de reconstitución única para ambos tipos de ensayos con dilución tres por tres y/o tres por cinco.
- b) 23 participantes enviaron resultados para esta ronda correspondiente al 62% de los adscritos.
- c) Los resultados cuestionables para la determinación de Escherichia coli con tres tubos por dilución corresponde al 16,7% mientras que para la determinación de Escherichia coli con cinco tubos por dilución corresponden al 60%.
- d) Se sugiere revisar las causas de desviaciones en los resultados para laboratorios que cuenten con un z-score dentro del rango de Cuestionables.
- e) El informe final será publicado en página Web institucional: [www.ispch.cl](http://www.ispch.cl).

## 11. REFERENCIAS

---

1. ISO 13528:2005 (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. NCh-ISO 22117 Microbiología de los alimentos para consumo humano y animal Requisitos específicos y directrices para los ensayos de aptitud por comparaciones interlaboratorios.
4. "Robust Statistics: a Method of Coping with Outliers". Royal Society of Chemistry, Analytical Methods Committee, N° 6, A.
5. Thompson, M., Ellison, S.L.R and Wood, R. 2006. The International Harmonized Protocol for Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories (IUPAC Technical Report). Pure Appl. Chem. 78, pp 145- 196.
- 6.



## 12. ANEXOS

### **Tabla N°3:**

*Resultados reportados por los laboratorios recuento de Escherichia Coli  
 Tres por Tres Tubos*

CIL	Res. Enum. NMP/ mL	Res. (Log 10)	Z-Score	Evaluación
QAMA 0984	240	2,380211	-1,1	S
QAMA 0986	78	1,892095	-2,62	S
QAMA 0992	78	1,892095	-2,62	S
QAMA 0995	110	2,041393	-2,16	S
QAMA 0999	150	2,176091	-1,74	S
QAMA 1000	93	1,968483	-2,39	S
QAMA 1021	24	1,380211	-4,22	C
QAMA 1027	110	2,041393	-2,16	S
QAMA 1029	110	2,041393	-2,16	S
QAMA 1031	67	1,826075	-2,83	S
QAMA 1036	78	1,892095	-2,62	S
QAMA 1038	130	2,113943	-1,93	S
QAMA 1040	23	1,361728	-4,28	C
QAMA 1043	23	1,361728	-4,28	C
QAMA 1058	110	2,041393	-2,16	S
QAMA 1061	78	1,892095	-2,62	S
QAMA 1070	110	2,041393	-2,16	S
QAMA 1079	93	1,968483	-2,39	S

**Tabla N°4:**

Resultados reportados por los laboratorios recuento de Escherichia Coli  
 Tres por Cinco Tubos

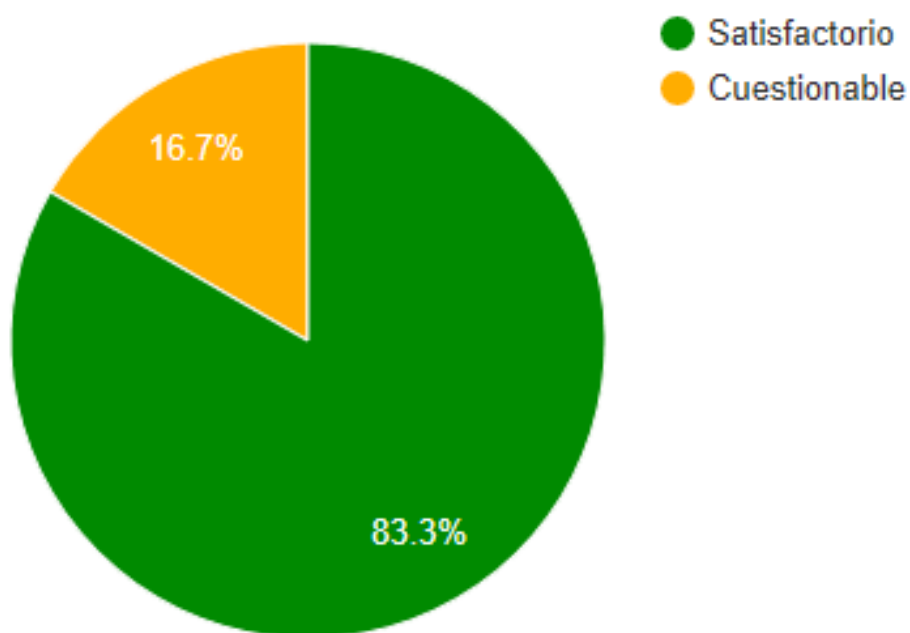
CIL	Res. Enum. NMP/mL	Res. (Log 10)	Z-Score	Evaluación
QAMA 0998	92	1,963788	-3,2	C
QAMA 1007	93	1,968483	-3,18	C
QAMA 1016	140	2,146128	-2,44	S
QAMA 1032	73	1,863323	-3,62	C
QAMA 1035	120	2,079181	-2,72	S

Satisfactorio.	S
Cuestionable.	C
No satisfactorio, es decir, insatisfactorio.	I

**Gráfico N°1:**

Resultados Porcentual de Evaluación de Desempeño  
 Tres por Tres Tubos

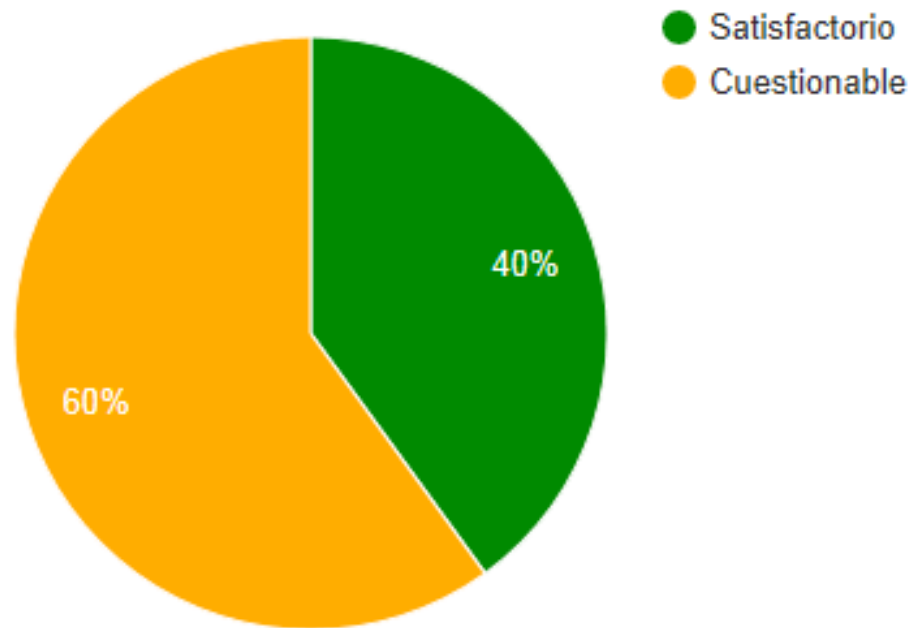
**Gráfica Porcentual de Evaluación de Desempeño**



**Gráfico N°2:**

Resultados Porcentual de Evaluación de Desempeño  
Tres por Cinco Tubos

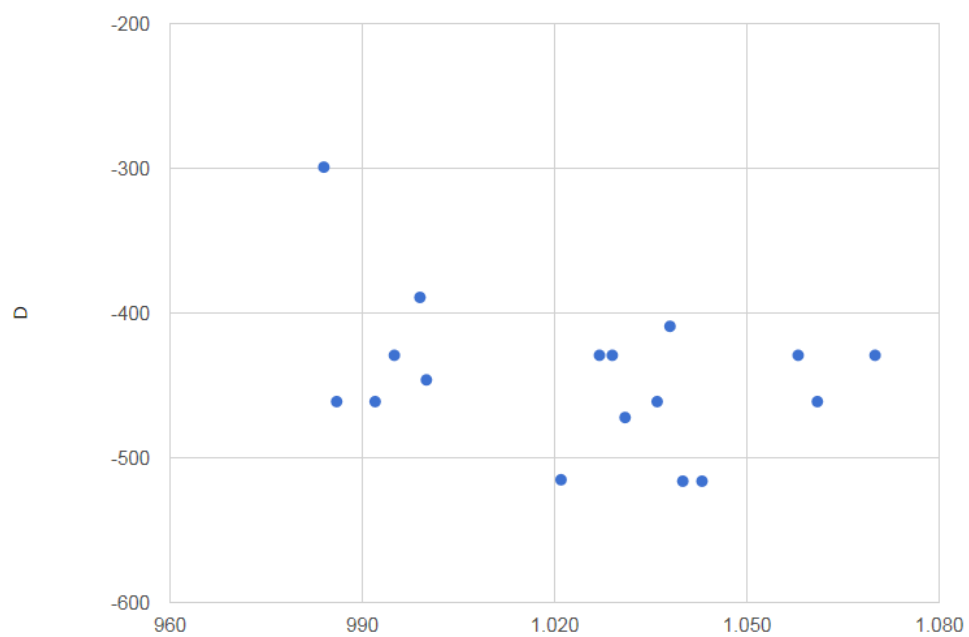
**Gráfica Porcentual de Evaluación de Desempeño**



**Gráfico N°3:**

Gráfica de Dispersión  
Tres por Tres Tubos

**Gráfica de Dispersión**



Laboratorios Participantes QA MA - OXXX

**Gráfico N°4:**  
*Gráfica de Dispersión*  
*Tres por Cinco Tubos*

