



PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD PEEC | MICROBIOLOGÍA DE ALIMENTOS

PROGRAMA ENUMERACIÓN DE MICROORGANISMOS EN ALIMENTOS: SUBPROGRAMA ENUMERACIÓN DE *Escherichia coli* EN CEPA LIOFILIZADA.

INFORME FINAL ENSAYO DE APTITUD | DEPARTAMENTO NACIONAL Y DE REFERENCIA EN SALUD AMBIENTAL | CÓDIGO RONDA-AÑO: MA03B-2024 | VERSIÓN: 00



RG-03-IT-754.00-002.
Versión 8.
Fecha 05/02/2024

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 (S) Departamento Nacional y de Referencia en Salud Ambiental

QF. MSc. Boris Duffau Garrido

Informe Ronda -Año: MA03B-2024

Fecha: 06 / 12 / 2024

Versión N°: 00

Contacto:

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

Lunes a Viernes de 08:30 a 13:00 horas

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



PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD

SUBPROGRAMA ENUMERACIÓN DE *Escherichia coli* EN CEPA LIOFILIZADA

CONTENIDO

1.	LISTADO DE PARTICIPANTES.....	04
2.	RESPONSABLES.....	04
3.	INTRODUCCIÓN.....	05
4.	MATERIAL DE ENSAYO.....	05
5.	CRONOGRAMA.....	06
6.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	07
7.	RESULTADOS INFORMADOS POR LOS PARTICIPANTES.....	08
8.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS INFORMADOS.....	08
9.	EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO.....	09
10.	COMENTARIOS Y SUGERENCIAS.....	09
11.	REFERENCIAS.....	10
12.	ANEXOS.....	11

1. LISTADO DE PARTICIPANTES

AGQ PATAGONIA SpA.	PUERTO MONTT
ALIMENTOS MULTIEXPORT S.A.	PUERTO MONTT
BLUE SHELL S.A.	DALCAHUE
CENTRO TECNOLÓGICO PARA LA INNOVACION ALIMENTARIA	SANTIAGO
CESMEC S.A. SEDE CONCEPCIÓN	CONCEPCIÓN
CORTHORN QUALITY CHILE S.A.	SANTIAGO
DICTUC S.A.	SANTIAGO
INTERTEK CALEB BRETT CHILE S.A. SEDE IQUIQUE	IQUIQUE
INTERTEK CALEB BRETT CHILE S.A. SEDE TALCAHUANO	TALCAHUANO
LABORATORIO AMBIENTAL DE LLANQUIHUE DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN DE LOS LAGOS	PUERTO MONTT
LABORATORIO CENTRAL IANSA S.A.	CHILLÁN
LABORATORIO CTS DE SGS CHILE SEDE SANTIAGO	SANTIAGO
LABORATORIO DE ALIMENTOS Y AGUAS DE LA UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE	VALDIVIA
LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE OSORNO DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN DE LOS LAGOS	OSORNO
LABORATORIO DEL AMBIENTE DE BÍOBÍO DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN DEL BIOBÍO	LOS ÁNGELES
LABORATORIO QUÍMICO Y MICROBIOLÓGICO WSS S.A.	CONCEPCIÓN
PESQUERA CATALUNYA LTDA.	ANCUD
QUALIFIED SpA.	SANTIAGO
QUALIFIED SpA. SEDE CONCEPCIÓN	CONCEPCIÓN
QUALIFIED SpA. SEDE PUERTO MONTT	PUERTO MONTT
WINKLER ANALYTICS SpA.	SANTIAGO

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:

- Ms. Soraya Sandoval Riquelme (Revisión Informe)

3. INTRODUCCIÓN

El presente informe corresponde a la evaluación del ensayo de intercomparación del Subprograma "ENUMERACIÓN DE *Escherichia coli* EN CEPA LIOFILIZADA". Este ensayo corresponde a la semi-cuantificación de *Escherichia coli* en cepa liofilizada, de un material adquirido por el ISP y corresponde a una herramienta utilizada para evaluar la calidad de las prestaciones analíticas en laboratorios de ensayos que realizan análisis por Norma Chilena Oficial NCh 3056:2007 (ISO/TS 16649-3:2005) correspondiente a la metodología de 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-glucurónido".

Esta ronda de ensayo de aptitud de tipo interlaboratorio de participación simultánea es realizada por el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP) desde el año 2014 para satisfacer los requerimientos de Servicio Nacional de Pesca (SERNAPESCA).

4. MATERIAL DE ENSAYO

El ítem de ensayo enviado es un Material de Referencia Certificado consistente en una perla liofilizada de una cepa para la determinación semi-cuantitativa del analito *Escherichia coli*, envasada en un vial de vidrio, sellado, etiquetado y codificado.

El material de ensayo para análisis de *Escherichia coli* correspondió a un material adquirido por ISP y cuya viabilidad y pureza fue verificada por el Laboratorio de Biometrología de la Sección Metrología Científica en Química y Biomediciones del ISP, parte de la Red Nacional de Metrología.

La Tabla N° 1 presenta el método de análisis utilizado para la verificación de viabilidad y pureza del ítem de ensayo.

Tabla N° 1

Metodología de análisis para verificación de viabilidad y pureza.

Componente/analito	Método
<i>Escherichia coli</i>	Método de ensayo convencional de recuento en placa basado en BAM online 2001. ME-751.02-001.

Respecto a la evaluación de la homogeneidad de la perla liofilizada del microorganismo *Escherichia coli*, el proveedor declara que, fue evaluada y confirmada mediante el análisis de un número estadísticamente relevante de muestras, cubriendo el lote completo de producción, a través del análisis de varianza (ANOVA).

Por otro lado, el proveedor indica que la estabilidad fue evaluada a largo y corto plazo, considerando que la estabilidad a largo plazo es determinada y analizada para un número reducido de lotes durante toda la vida útil de todos los productos y, la estabilidad a corto plazo es determinada y analizada simulando el envío y transporte del producto a elevadas temperaturas y su posterior análisis.

Además, la incertidumbre expandida, declarada en el certificado del Material de Referencia Certificado de la cepa liofilizada del microorganismo *Escherichia coli*, está compuesta por la contribución individual de la caracterización, la homogeneidad y la estabilidad.

La Tabla N° 2 indica el valor asignado por consenso del analito, junto con su trazabilidad.

Tabla N°2:

Valor asignado para la evaluación de desempeño de la ronda, establecido según consenso de los participantes.

Componente/Analito	Valor asignado (NMP/mL)	Valor asignado (Log ₁₀ NMP/mL)	Trazabilidad
<i>E. coli</i> 3 × 3 tubos	43	1,63	Trazable a NCTC 12923
<i>E. coli</i> 3 × 5 tubos*	---	---	Trazable a NCTC 12923

**Para la técnica de análisis 3x5 tubos no se evalúa el desempeño por no contar con el número mínimo de datos (n≥10) que permita obtener un valor de consenso.*

Cada participante tiene a disposición en el Portal PEEC las instrucciones de manipulación y reconstitución del ítem de ensayo, para realizar la determinación de *Escherichia coli* por técnica de dilución múltiple número más probable (NMP) de tres tubos por dilución y/o con cinco tubos por dilución, según el control a realizar, control de moluscos vivos o procesados respectivamente.

5. CRONOGRAMA

- 5.1. Fecha de envío de encomiendas.
03 / 09 / 2024
- 5.2. Fecha de recepción de resultados.
02 / 10 / 2024
- 5.3. Fecha de publicación de Informe parcial en Portal PEEC.
07 / 11 / 2024

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

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

No se evaluó la existencia de datos anómalos en base al método estadístico de Grubbs ni extremos en base a IUPAC por ser una metodología de NMP semicuantitativa.

No hubo reporte de resultados para la técnica de análisis 3x5 tubos.

Para la técnica de análisis de 3x3 tubos, el análisis estadístico se basó en el valor de consenso de los participantes a través de la mediana con desviación estándar teórica de 0,32 según lo que se señala a continuación.

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 utilizando la desviación estándar teórica de 0,32 para combinación de tres por tres tubos, aplicando al valor logaritmo en base 10 del valor asignado $\pm 3\sigma$ y $\pm 5\sigma$ de acuerdo a la tabla N°3:

Figura N°1

Criterios de aceptabilidad.

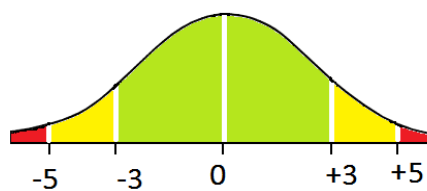


Tabla N°3

Límites y criterios de aceptabilidad.

Límites de aceptabilidad	Resultado
$x_{pt} - 3\sigma_{teórico} \leq x_i \leq x_{pt} + 3\sigma_{teórico}$	Satisfactorio
$x_i < x_{pt} - 3\sigma_{teórico}$ y $x_i > x_{pt} - 5\sigma_{teórico}$	Cuestionable
$x_i > x_{pt} + 3\sigma_{teórico}$ y $x_i < x_{pt} + 5\sigma_{teórico}$	Cuestionable
$x_i \geq x_{pt} + 5\sigma_{teórico}$ y $x_i \leq x_{pt} - 5\sigma_{teórico}$	Insatisfactorio

dónde:

x_i = Resultado del participante, expresado como concentración del analito en unidades definidas.

x_{pt} = Valor asignado o de referencia del analito en unidades definidas.

$\sigma_{teórico}$ = Desviación estándar teórica para la evaluación de la aptitud.

Para fines de conservar la confidencialidad de los resultados y la evaluación de desempeño de los participantes, estos son reportados en el informe con el código CIL (Código de Identificación del Laboratorio), por lo cual el participante deberá ubicarse en la tabla y gráficas de acuerdo al código CIL asignado a su laboratorio para el año correspondiente de la presente ronda.

7. RESULTADOS INFORMADOS POR LOS PARTICIPANTES

7.1.- Datos

De los 21 laboratorios adscritos, el 86 % envió resultados. De los laboratorios que informaron resultados la totalidad utilizó la técnica de análisis 3x3 tubos mientras que ningún laboratorio lo hizo para la técnica de análisis 3x5 tubos.

Los resultados enviados por los participantes para la técnica de análisis 3x3 tubos se presentan en la Tabla N° 6 (ver anexo).

7.2.- Técnicas y métodos

Respecto de los métodos para la determinación *E. coli* por NMP, todos los laboratorios participantes reportaron el uso del método Norma Chilena Oficial NCh 3056 of. 2007 "Microbiología de los alimentos de consumo humano y animal - Método horizontal para la enumeración de *Escherichia coli* B-glucuronidasa positiva - Técnica del número más probable utilizando 5-bromo-4-cloro-3-indolil-B-D-glucuronido", tal como se indica y establece en el diseño de esta ronda.

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° 4:

Resumen análisis estadístico para la evaluación de desempeño

Parámetros	<i>E. coli</i> 3 × 3 tubos	<i>E. coli</i> 3 × 5 tubos*
N° datos reportados (<i>n</i>)	21	0
Valor asignado (x_{pt})	43 NMP/mL (1,63 Log ₁₀ NMP/mL)	--
Desviación estándar para la evaluación de la aptitud (σ_{pt})	0,320 Log ₁₀ NMP/mL	--
N° valores anómalos	No aplica	--

* Para la técnica de análisis 3x5 tubos no se evalúa desempeño por no contar con el número mínimo de datos ($n \geq 10$) que permita obtener un valor de consenso.

En relación a los datos de la tabla N° 4, para fines de la evaluación de desempeño para el analito el valor asignado fue establecido por consenso de los participantes y la desviación estándar teórica para la evaluación de la aptitud de 0,32.

9. EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO

La evaluación de desempeño se estableció a través del modelo estadístico mencionado en el punto 6 del informe, calculado con el valor asignado y la desviación estándar para la evaluación de la aptitud indicada en la Tabla N° 4 del presente informe.

En la Tabla N° 5 a continuación se presentan los rangos de aceptabilidad para la ronda de Ensayo de aptitud.

Tabla N° 5.

Rangos de aceptabilidad para la ronda.

Rango de aceptabilidad NMP/mL	Rango de aceptabilidad Log ₁₀ NMP/mL	Resultado
≥ 1698	≥ 3,23	Insatisfactorio
[389 - 1697]	[2,59 - 3,22]	Cuestionable
[5 - 389]	[0,67 - 2,59]	Satisfactorio
[2 - 5]	[0,04 - 0,67]	Cuestionable
1	≤ 0,03	Insatisfactorio

La evaluación de desempeño respecto al análisis de enumeración de *Escherichia coli* en cepa liofilizada mediante NCh 3056 of. 2007 se puede observar en la Tabla N°5.

El gráfico circular de la evaluación de desempeño global y el gráfico de dispersión de datos se presentan en los anexos numerados como Gráfica N° 1 y Gráfica N° 2, respectivamente.

10. COMENTARIOS Y SUGERENCIAS

- De un total de 21 laboratorios adscrito para esta ronda, el 86% envió resultados.
- De los laboratorios que informaron resultados, el 100% lo hizo para la técnica de análisis 3x3 tubos mientras que no hubo laboratorios que reportaran resultados para la técnica de análisis 3x5 tubos.
- La técnica de análisis 3x5 tubos no fue evaluada por no contar con el número mínimo de datos (n≥10) que permite obtener un valor de consenso.

- d) Se observa que respecto del año anterior el desempeño para el analito por la técnica de análisis 3x3 tubos ha disminuido del 100% de satisfactoriedad en el año 2023 al 94% de satisfactoriedad en el presente año.
- e) Se sugiere revisar datos, cálculos y unidades, como posible causa de desviación de resultados para laboratorios que cuenten con una evaluación de desempeño dentro del rango de cuestionable, así como también cuando se observen tendencias por defecto o exceso para cada uno de los analito evaluados.
- f) La versión autorizada del informe final se encuentra publicada en página Web institucional: www.ispch.cl

11. REFERENCIAS

1. *ISO 13528:2022 (E). Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons.*
2. ISO/IEC 17043:2010 (es), Evaluación de la conformidad – Requisitos generales para los ensayos de aptitud.
5. UNE-EN ISO 22117:2020 Microbiología de la cadena alimentaria. Requisitos específicos y directrices para los ensayos de aptitud por comparación interlaboratorios (ISO 22117:2019).

12. ANEXOS

Tabla N° 6.

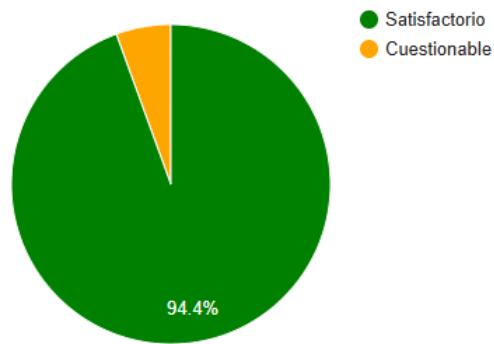
Resultados de Escherichia coli por técnica de análisis de 3 x 3 tubos reportados y evaluación de desempeño.

CIL	Resultados (NMP/mL)	Resultados (Log ₁₀ NMP/mL)	Evaluación de Desempeño
QAMA2409	46	1,66	Satisfactorio
QAMA2489	24	1,38	Satisfactorio
QAMA2501	24	1,38	Satisfactorio
QAMA2445			
QAMA2482	46	1,66	Satisfactorio
QAMA2472	23	1,36	Satisfactorio
QAMA2474	43	1,63	Satisfactorio
QAMA2468	43	1,63	Satisfactorio
QAMA2435	93	1,97	Satisfactorio
QAMA2506	110	2,04	Satisfactorio
QAMA2449	24	1,38	Satisfactorio
QAMA2456	930	2,97	Cuestionable
QAMA2443			
QAMA2457	23	1,36	Satisfactorio
QAMA2426	9	0,95	Satisfactorio
QAMA2450	23	1,36	Satisfactorio
QAMA2410	46	1,66	Satisfactorio
QAMA2458	23	1,36	Satisfactorio
QAMA2459	43	1,63	Satisfactorio
QAMA2416	43	1,63	Satisfactorio
QAMA2405			

Celda gris: No reporta resultados

GRÁFICA N° 1.

Evaluación de desempeño de E. coli por técnica de análisis de 3 x 3 tubos.



GRÁFICA N° 2.

Evaluación de desempeño según método utilizado por los laboratorios para determinación de E. coli por técnica de análisis de 3 x 3 tubos.

