

Diseño, desarrollo y ejecución de una intercomparación bilateral para NMP de *E coli*

Gladys Mastromónaco⁽¹⁾, Laura Gattucci⁽¹⁾, Silvina Forastieri⁽¹⁾, Karen Gubelin⁽²⁾, Valeria Sánchez Valdivia ⁽²⁾ Patricia Ohaco ⁽²⁾ Olga Apablaza ⁽²⁾ M. Laura Vaca Ruiz ⁽²⁾

ruizm@inti.gob.ar

⁽¹⁾ Dto. Calidad en las Mediciones-GOMyC-INTI

⁽²⁾ Dto. Servicios Analíticos Industriales Patagonia-DT Regional Patagonia Norte- SORPatagonia-GOAR-INTI

Palabras Clave: Intercomparación bilateral; NMP de *Escherichia coli*; demanda local

INTRODUCCIÓN

Los interlaboratorios son una poderosa herramienta externa de control de la calidad brindando al laboratorio la posibilidad de iniciar acciones de mejora y fomentar la eficacia de sus procesos, así como demostrar competencia técnica en la realización de sus ensayos. Por lo tanto, cualquier acción correctiva necesaria apunta a facilitar su mejora continua.

El presente trabajo detalla la experiencia de un intercomparación bilateral ante una demanda local, su proceso de organización, las metodologías estadísticas aplicadas, la evaluación de los datos y las conclusiones obtenidas.

OBJETIVOS

- Elaborar el ítem de ensayo contaminado artificialmente para la enumeración de *Escherichia coli* por técnica de Número más Probable (NMP) en hortalizas de hojas.
- Evaluar la concordancia de los resultados enviados por los laboratorios.

DESARROLLO

Matriz: mezcla de hortaliza de hoja frescas cortadas en fragmentos más pequeños (lechuga, espinaca y acelga) previamente lavadas, desinfectadas y escurridas.

Mensurando: inóculo fresco de *Escherichia coli* ATCC 25922 en una concentración de 115 UFC \pm 16 UFC por muestra.

Preparación de los ítems de ensayo. Se prepararon la cantidad de ítems de ensayo necesarios (muestras para los analistas y muestras para la prueba de homogeneidad) utilizando una bolsa estéril de stomacher (envase primario) con aproximadamente 10 g de la matriz preparada e inoculada, la cual se transportó dentro de un envase de vidrio estéril, bien cerrado en conservadora refrigerada.

Se requirió como mínimo la participación de dos analistas por laboratorio, cada uno recibió dos muestras las que fueron analizadas como independientes.

Homogeneidad y estabilidad. Se aplicó la instrucción del SAI: "Evaluación de la homogeneidad y estabilidad de los ítems de ensayo – IT02 PS 02" [4]. Se verificó la homogeneidad realizando un muestreo aleatorio del lote de ítems de ensayos preparados. Todas las muestras se analizaron mediante la técnica de NMP según ISO 16649-3, las que reflejaron un resultado satisfactorio.

La verificación de la estabilidad no fue evaluada debido que tanto las muestras analizadas del ensayo de homogeneidad como las muestras entregadas a los participantes se analizaron en el transcurso del mismo día de su recepción, por tratarse de matrices frescas.

Método de ensayo. MEMI 119 basado en la ISO 16649-3:2015. Microbiology of the food chain -- Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli* - Part 3: Detection and most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide [2] y [3].

Tratamiento estadístico de los resultados Se procedió a agrupar los datos según cada laboratorio participante: se enumeraron los analistas, se calculó la media y la desviación estándar de cada uno de ellos. Luego, se calculó el promedio general de cada uno de los dos laboratorios [1].

RESULTADOS

La tabla 1 muestra: los laboratorios participantes, donde A corresponde al laboratorio de INTI sede Cipolletti y B al laboratorio solicitante del ejercicio; los analistas (asignados numéricamente), el número de ítem de ensayo que procesó, el resultado de NMP/g (extraído de la tabla de NMP que presenta la ISO 16649-3 con los resultados de todas las

combianciones aceptables) y el resultado expresado en logaritmo decima, para una mejor interpretación y evaluación.

Lab	N°Analista	N°Muestra	NMP/g	Log NMP
A	1	13	24	1,38
A	1	7	46	1,66
A	2	2	240	2,38
A	2	21	24	1,38
A	3	11	46	1,66
A	3	5	15	1,18
B	4	16	75	1,88
B	4	18	240	2,38
B	5	10	150	2,18
B	5	6	240	2,38

Tabla 1. Resultados de las muestras estudiadas por los analistas de los dos laboratorios participantes.

En la figura 1 se observan los resultados graficados por analista. En la figura 2 se representan los promedios por laboratorio con sus desviaciones correspondientes.

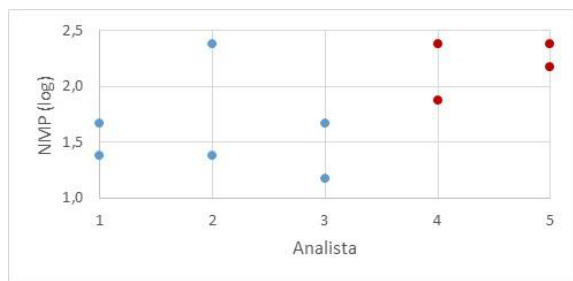


Figura 1: datos enviados por los participantes (agrupados por analistas). Azul: INTI; Rojo: laboratorio solicitante

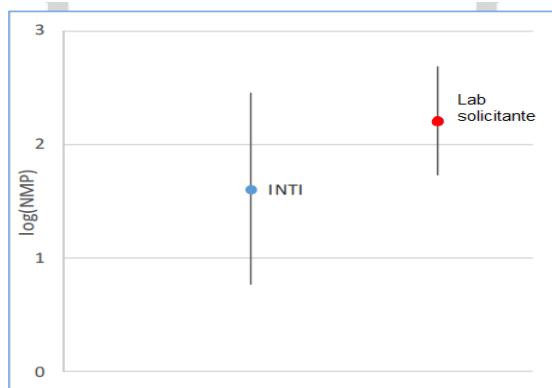


Figura 2: promedios de los resultados y desviaciones . Azul: INTI; Rojo: laboratorio solicitante.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Evaluación del desempeño de los laboratorios. Para evaluar el desempeño de los laboratorios participantes se utilizó el parámetro “z”, definido de la siguiente manera:

Donde:

$$Z = \frac{x_1 - x_2}{s_L}$$

x_1 = resultado promedio INTI.

x_2 = resulado promedio del laboratorio B.

s_L = desviación estándar (estimador de la reproducibilidad o varianza entre laboratorios), obtenido a partir de la evaluación de homogeneidad = 0,46 NMP

El valor del parámetro z así obtenido para este ensayo bilateral fue de -1,29. El resultado se clasificó de la siguiente forma:

$|z| \leq 2$ satisfactorio

$2 < |z| < 3$ cuestionable

$|z| \geq 3$ no satisfactorio

La dispersión observada en los resultados obtenidos como índice de NMP/g puede radicar en el efecto de la distribución de la población bacteriana en la matriz utilizada; en sí misma es no homogénea por su naturaleza, aumentando de esta manera la imprecisión de las mediciones y la diferencia entre resultados. Otro factor para mencionar es la variabilidad misma de las técnicas de NMP, consideradas por algunos investigadores como de pobre precisión, pero con una mayor sensibilidad.

Este ensayo bilateral fue muy útil para contrastar los resultados de los dos laboratorios, tanto en la técnica en particular, como en una matriz específica, sobre la que no se cuenta oferta de ejercicios interlaboratorios. No es factible indicar el desempeño individual de los participantes ya que no se dispone de un valor de referencia establecido, solo podemos demostrar que los resultados de ambos laboratorios son comparables entre sí.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

[1] ISO 13528:2015 Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons.
 [2] ISO 16649-3:2015. Microbiology of the food chain. Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive Escherichia coli -- Part 3: Detection and most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-glucuronide.
 [3] Documento interno INTI SORPAT. PEMI 109 Enumeración en medios sólidos y líquidos basado en ISO 7218: 2007.Amd.1: 2013. Microbiology of food and animal feeding stuffs. General requirements and guidance for microbiological examinations.
 [4] “Evaluación de la homogeneidad y estabilidad de los ítems de ensayo – IT02 PS 02.
 [5] ISO/IEC 17043:2010 Evaluación de la conformidad - Requisitos generales para los ensayos de aptitud.