



INFORME FINAL A V1

ENSAYO DE APTITUD INN-ID-MA06 – 2023

DETECCIÓN DE *Listeria monocytogenes* EN LECHE EN POLVO

Organizador
Red Nacional de Metrología - Instituto de Salud Pública de Chile – División de Metrología
Instituto Nacional de Normalización



Elaborado por:

QF. María Natalia Gutiérrez Vargas.
Dra. Francis Alarcón Rodríguez.
Coordinadoras de Ensayo de Aptitud.
Laboratorio Designado RNM, Instituto de Salud Pública de Chile.

Revisado por:

Ms. Soraya Sandoval Riquelme
Jefe Subdepartamento de Metrología.
Laboratorio Designado RNM, Instituto de Salud Pública de Chile.

Aprobado por:

Ing. Pedro Ibarra Neculmán
Jefe División de Metrología.
Instituto Nacional de Normalización.

Coordinador INN-UCS / RNM:

Ing. Q. William Güin Tovar
Asesor División de Metrología.
Instituto Nacional de Normalización.

Fecha de emisión versión 1:

18 / 12 / 2023

Este programa es desarrollado con aportes del Fondo de Innovación para la Competitividad, del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo.

Coordinado por la División Metrología del Instituto Nacional de Normalización, INN en conjunto con el Instituto de Salud Pública de Chile.

ÍNDICE

CONTENIDOS	PÁGINAS
1.- LISTA DE PARTICIPANTES	04
2.- RESPONSABLES	05
3.- INTRODUCCIÓN	05
4.- OBJETIVOS	06
5.- MATERIAL DE ENSAYO	06
6.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO	08
7.- RESULTADOS Y EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO	09
8.- METODOLOGÍAS UTILIZADAS POR LOS PARTICIPANTES	10
9.- CONCLUSIÓN	11
10.- REFERENCIAS	12

1. LISTA DE PARTICIPANTES

CECTA DE LA UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE CHILE
CORTHORN QUALITY CHILE S.A.
LABORATORIO AMBIENTAL DE LLANQUIHUE DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN DE LOS LAGOS
LABORATORIO AMBIENTAL DE O'HIGGINS DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN DEL LIBERTADOR GENERAL BERNARDO O'HIGGINS
LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE OSORNO DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN DE LOS LAGOS
LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA DE PUNTA ARENAS DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN DE MAGALLANES Y LA ANTÁRTICA CHILENA
LABORATORIO DEL AMBIENTE DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN DE COQUIMBO
LABORATORIO DEL AMBIENTE DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN DE TARAPACÁ
LABORATORIO MICROLAB SPA.
PESQUERA CATALUNYA LTDA.
QUALIFIED SPA. SEDE CONCEPCIÓN
QUALIFIED SPA. SEDE PUERTO MONTT
QUALIFIED SPA. SEDE SANTIAGO

2. RESPONSABLES

2.1. Coordinadoras de la ronda:

- QF. María Natalia Gutiérrez Vargas - ISP - Documentación de la ronda, evaluación estadística, elaboración informe preliminar y final.
- Dra. Francis Alarcón Rodríguez - ISP - Documentación de la ronda, evaluación estadística, elaboración informe preliminar y final.

2.2. Colaboradores:

- TM. Fabiola Rojas Cornejo - ISP - Elaboración Material de Referencia.
- Ms. Soraya Sandoval Riquelme - ISP - Revisión Informe.

3. INTRODUCCIÓN

La División de Metrología del Instituto Nacional de Normalización (INN), coordina las actividades involucradas en la operación del Programa de Ensayo de Aptitud Nacional (*Proficiency Testing – PT's*) a cargo de la Red Nacional de Metrología (RNM), con la finalidad de poner esta actividad al servicio de los laboratorios de ensayo y calibración del país.

Desde el año 2010 la RNM ofrece un Programa de Ensayos de Aptitud el cual es parte del "Programa de Fortalecimiento y Reconocimiento de las Mejores Capacidades de Medición en la Red Nacional de Metrología", Programa desarrollado con aportes del Fondo de Innovación para la Competitividad, del Ministerio de Economía, Fomento y Turismo.

El Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), en su rol de Laboratorio Designado de la RNM realiza todas las actividades involucradas en la operación de este Programa de Ensayo de Aptitud en el ámbito de alimentos, bajo los requerimientos de la ISO/IEC 17043:2010, con la finalidad de situar esta actividad al servicio de los laboratorios de ensayo y calibración del país.

4. OBJETIVOS

Evaluar el desempeño y competencia de los laboratorios participantes para realizar ensayos en detección de *Listeria monocytogenes*, así como también evaluar el desempeño continuo de los laboratorios acreditados.

5. MATERIAL DE ENSAYO

El material de la intercomparación, se denomina; “Ítem de ensayo de Aptitud para Detección (Presencia/Ausencia) de *Listeria monocytogenes*” consiste en una porción homogénea de 25,0 g ± 0,1 g de leche en polvo que contiene una concentración conocida de un microorganismo liofilizado.

Este material ha sido elaborado y evaluado por los test de homogeneidad y estabilidad conforme a los requisitos ISO 17034:2016 por el Laboratorio Designado en Química y Microbiología de Alimentos y Aguas en la Magnitud de Cantidad de Sustancia “Microorganismo patógenos en alimentos y aguas”, del ISP. Respecto a la homogeneidad y estabilidad el proveedor del material indica lo siguiente: “La evaluación de la homogeneidad y estabilidad del material de referencia fue realizada conforme a los requisitos de la norma ISO 17034 y de la ISO Guide 35, cumpliendo con los criterios establecidos para el fin previsto del material. Además, el Sistema de Gestión de Calidad Metrológica que respalda las capacidades de medición y calibración ha sido revisado y aprobado por el Sistema Interamericano de Metrología (SIM) y por la Oficina Internacional de Pesas y Medidas (BIPM)”.

Para su caracterización y estudios de homogeneidad y estabilidad se utilizó el método ISO 11290-1:2017 *Microbiology of food and animal feeding stuffs – Horizontal method for the detection and enumeration of Listeria monocytogenes – Part 1: Detection method*. La Tabla N° 1 presenta el valor de referencia para *Listeria monocytogenes* en el material de ensayo.

Tabla N° 1: Valor de referencia

Componente/Analito	Valor de referencia	$U_{(k=2)}$
<i>Listeria monocytogenes</i>	Detectado en 25 g	No aplica

Trazabilidad: NCTC 11994.

El valor detectado para fines de un ensayo de aptitud cualitativo, corresponde a la presencia en 25 g del microorganismo patógeno.

La Tabla N° 2 presenta el valor asignado del material de ensayo, el cual fue establecido en base al valor de referencia.

Tabla N° 2: Valor asignado

Parámetro	Valor asignado
<i>Listeria monocytogenes</i>	Presencia en 25 g

El material de ensayo se dispuso en un envase plástico estéril, etiquetado y codificado, como se presenta en la Figura N°1, debiendo ser almacenado a temperaturas menores o iguales a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Además, el material fue acompañado de un testigo de temperatura (frasco con glicerol o glicerina), con la finalidad de controlar su temperatura de recepción por los laboratorios participantes.

Figura N°1. Material de ensayo en envase plástico estéril, etiquetado y codificado.



El material de ensayo fue distribuido a los participantes de manera simultánea, bajo condiciones de congelación, en un envase secundario correspondiente a un estuche aluminizado para cadena de frío, dentro de un envase terciario de poliestireno expandido (EPS) de manera de asegurar su conservación para el fin previsto.

Cada laboratorio recibió las instrucciones para manipulación y la información 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.

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Luego del cierre de la ronda, los resultados fueron recolectados desde las Planilla de Resultados enviados por los laboratorios participantes.

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

Tabla N° 3: Resumen de análisis de datos para la evaluación de desempeño

Parámetros	<i>Listeria monocytogenes</i>
N° datos reportados (n)	13
Valor asignado (x_{pt})	Presencia en 25 g (LOD: 1 UFC/25 g)
Desviación estándar para la evaluación de la aptitud (σ_{pt})	No aplica
Incertidumbre estándar del valor asignado ($u(x_{pt})$)	No aplica
N° valores anómalos	No aplica
N° valores extremos	No aplica

Los resultados coincidentes con el valor asignado se designan como “Satisfactorio”, y los resultados no coincidentes con el valor asignado como “Insatisfactorio”. La Tabla N° 4 muestra la evaluación de desempeño y los criterios de aceptabilidad según el valor informado y el valor asignado al material de ensayo para un ensayo de aptitud cualitativo.

Tabla N° 4: Evaluación de desempeño para ensayo de aptitud cualitativo, criterios de aceptabilidad.

Valor informado	Valor asignado x_{pt}	
	No detectable (ausencia)	Detectable (presencia)
< LOD	Satisfactorio	Insatisfactorio
No detectable	Satisfactorio	Insatisfactorio
Detectable	Insatisfactorio	Satisfactorio

LOD: límite de detección del método.

En la Tabla N° 5 y gráficas N° 1 y N° 2, se destacan los desempeños “Satisfactorio” en color verde e “Insatisfactorio” en color rojo, de los laboratorios participantes. Los resultados no reportados se identifican con fondo de celda en color gris.

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 N° 5 de este informe de acuerdo al código CIL asignado a su laboratorio para el año correspondiente de la presente ronda.

7. RESULTADOS Y EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO

Los resultados enviados por los participantes y la evaluación de desempeño para la detección de *Listeria monocytogenes* en matriz leche en polvo se presentan en la Tabla N° 5.

Tabla N° 5: Resultados reportados por los participantes

Laboratorio	Valor reportado en 25 g	Evaluación
QAMA2302	Presencia	Satisfactorio
	Presencia	Satisfactorio
QAMA2309	Presencia	Satisfactorio
	Presencia (Duplicado)	Satisfactorio
QAMA2311	Presencia	Satisfactorio
QAMA-2312	Presencia	Satisfactorio
QAMA2313	Presencia	Satisfactorio
QAMA2315	Presencia	Satisfactorio
QAMA2317	Presencia	Satisfactorio
QAMA2319	Presencia	Satisfactorio
QAMA2328	Presencia	Satisfactorio
QAMA2338	Presencia	Satisfactorio

	Presencia	Satisfactorio
QAMA2376	Presencia	Satisfactorio
QAMA2380	Presencia	Satisfactorio
QAMA2382	Presencia	Satisfactorio

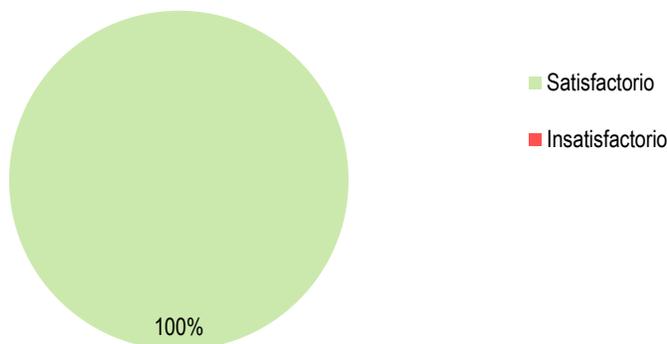
*Reporta resultados con dos métodos diferentes.

De los 13 laboratorios adscritos, el 100 % envió resultados, todos con una evaluación de desempeño “Satisfactorio”. Por otra parte, dentro de los 13 laboratorio, uno envió su resultado en duplicado, otro reportó resultados de 2 analistas diferentes y un tercero reportó resultados utilizando 2 métodos distintos, cada uno realizado por un analista diferente.

El gráfico circular de la evaluación de desempeño global se presenta en la Gráfica N° 1.

Gráfica N° 1. Evaluación de desempeño de *Listeria monocytogenes*

Analito *Listeria monocytogenes*, Ronda INN-ID-MA06-2023, Año 2023



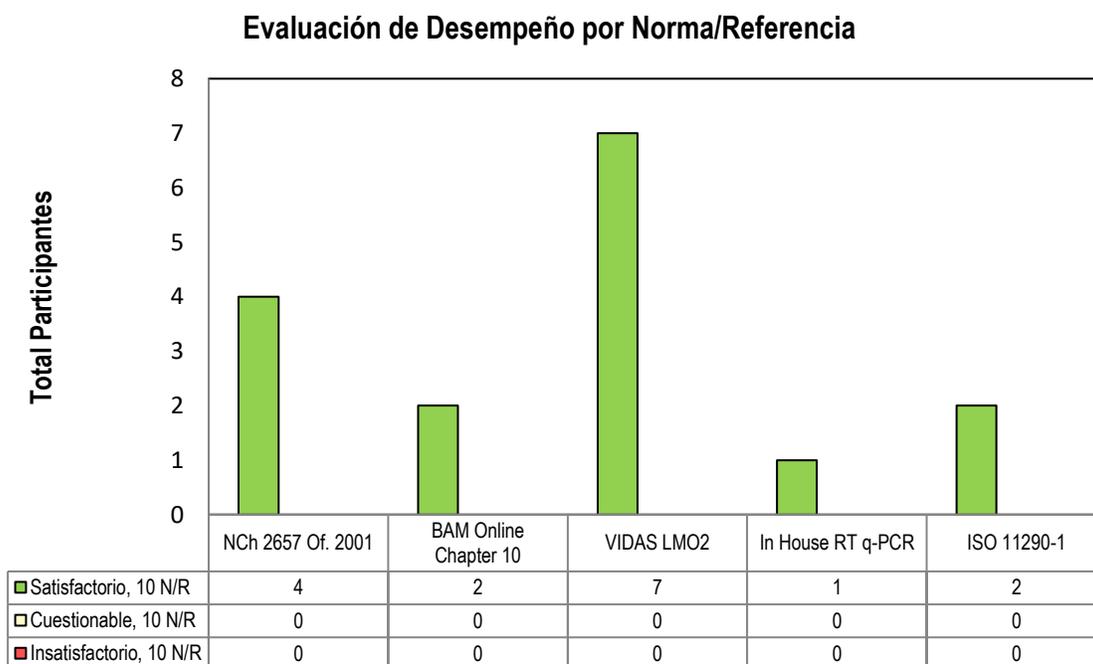
8. METODOLOGÍA UTILIZADA POR LOS PARTICIPANTES

Respecto de los métodos informados por los laboratorios para la detección de *Listeria monocytogenes* en matriz leche en polvo, se reportaron los métodos de referencia NCh 2657 Of. 2001 Productos hidrobiológicos - Detección de *Listeria monocytogenes*, ISO 11290-1, Microbiología de la cadena alimentaria. Método horizontal para la detección y el recuento de *Listeria monocytogenes* y de *Listeria* spp. Parte 1: Método de detección, VIDAS® *Listeria monocytogenes* II (LMO2), BAM Chapter 10: Detection of *Listeria monocytogenes* in Foods and Environmental Samples, and Enumeration of *Listeria monocytogenes* in Foods y método “In House” RT q-PCR.

Los laboratorios participantes informaron el uso de caldos de enriquecimiento: Caldo EB (Caldo base de enriquecimiento Bufferado según FDA), caldo Half Fraser, Caldo Fraser y caldo LEE (*Listeria express enrichment broth*). Mientras que como medio de cultivo señalan el uso de agares, Oxford, Aloa, Palcam y Ottaviani.

La mayoría de los laboratorios informó la aplicación de pruebas bioquímicas como técnica de identificación; sólo un laboratorio participante reportó el uso de PCR en tiempo real.

Gráfica N° 2. Evaluación de desempeño según método utilizado por los laboratorios para determinación de *Listeria monocytogenes*.



9. Conclusiones

En relación a la ronda de ensayo de aptitud INN-ID-MA06-2023 “Detección de *Listeria monocytogenes* en leche en polvo”, de tipo intercomparación, de participación simultánea concluye que:

- a) De un total de 13 laboratorios adscritos, el 100% envió resultados.
- b) La totalidad de resultados reportados por los laboratorios participantes obtuvo una evaluación de desempeño “Satisfactorio” para la detección de *Listeria monocytogenes* en matriz leche en polvo.

- c) Respecto del año 2019, el desempeño para el analito *Listeria monocytogenes* se mantuvo en un 100 % de satisfactoriedad este año 2023.
- d) Se reporta el uso de la norma ISO 11290-1 sin el año de publicación. Es fundamental que los laboratorios reporten la referencia normativa con la fecha de publicación, para que, de esta forma, se pueda analizar el uso de referencias vigentes.
- e) La ronda resultó exitosa desde el punto de vista de la adscripción y participación de los laboratorios interesados y el desempeño de los laboratorios participantes fue idóneo para el fin previsto.
- f) Esta nueva versión anula y reemplaza la versión 0 del documento, con los siguientes cambios:
 - Punto N°5: se agrega el año de versión de la norma ISO 11290-1:2017.
 - Punto N°8: se elimina método NCh 2675 Of. 2001 Microbiología de los alimentos de consumo humano y animal - Método horizontal para la detección y enumeración de *Listeria monocytogenes* y se sustituye por método NCh 2657 Of. 2001 Productos hidrobiológicos - Detección de *Listeria monocytogenes*.
 - Punto N°9: se elimina el comentario “Pese a no verse afectado el desempeño de los laboratorios participantes, se detecta la utilización del método de referencia obsoleto NCh 2675 Of 2001 por parte de varios laboratorios, por lo que se recomienda revisar y actualizar el método de referencia utilizado, como señala la norma ISO/IEC 17025:2017 en su requisito 7.2.1.3”.

10. REFERENCIAS

- a) ISO 13528:2022 (E). *Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons*.
- b) ISO/IEC 17043:2010 (es), Evaluación de la conformidad – Requisitos generales para los ensayos de aptitud
- c) 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).