

LACM®/División de Metrología		Página 1 de 2 páginas	
Ficha técnica DM_FT_EA_07 Recuento presuntivo en placa de <i>Bacillus cereus</i> en alimentos		Versión: 31/01/2023	Última revisión: 31/01/2023
Preparado por: Susan Poo Jefe LACM®/División de Metrología	Revisado por: Andrés Soto Encargado de Análisis de Datos e Informes	Autorizado por: Susan Poo Jefe LACM®/División de Metrología	



Universidad Austral de Chile
 Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos
LACM®/División de Metrología

FICHA TECNICA ENSAYO DE APTITUD
Recuento presuntivo en placa de *Bacillus cereus* en alimentos

Objetivos y alcance	<ul style="list-style-type: none"> - Evaluar el performance de los laboratorios que ejecutan ensayos en alimentos en general de recuento presuntivo de <i>B. cereus</i> en placa, comparando sus resultados con el promedio consensual robusto de todos los participantes y fijando como meta de reproducibilidad la mejor estimación que de ella se puede obtener de evaluaciones de ensayos publicadas en la literatura científica, protocolos, ensayos entre laboratorios y resultados de los ensayos organizados por LACM®/División de Metrología en los últimos años. - Dicho performance se obtendrá mediante el empleo de muestras de alimentos con contaminación natural de <i>B. cereus</i>, lo que permitirá a los laboratorios participantes evaluar su performance bajo las mismas condiciones de análisis que las de rutina. Estas muestras serán, en principio, alimentos de baja actividad de agua, con el objeto de asegurar la estabilidad del material. - La lista de procedimientos (estándares) de recuento presuntivo que abarca el ensayo es: ISO 7932, BAM modalidad MYP, BAM modalidad BACARA, NCh 3116.Of2008, ISP PRT- 712.02-035, AOAC 980.31 - Las condiciones a aplicar por los participantes serán las aplicadas en forma rutinaria en su laboratorio, a excepción del volumen de muestra y número de placas para la siembra de la primera dilución, las cuales deberán satisfacer las condiciones para el límite inferior y superior de colonias, de acuerdo a lo recomendado en el presente diseño
Naturaleza del material de ensayo	Matrices alimentarias contaminadas naturalmente (producto lácteo o bebida láctea en polvo)
Métodos de ensayo aplicables	- <u>Métodos de recuento presuntivo en placa de <i>Bacillus cereus</i></u> : ISO 7932:2004, BAM modalidad MYP, BAM modalidad BACARA, NCh 3116.Of2008, ISP PRT- 712.02-035, AOAC 980.31
Mensurandos	Recuento presuntivo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de <i>Bacillus cereus</i> en UFC/g de alimento , obtenido por recuento en placa y siembra en superficie sobre un medio de cultivo selectivo para el crecimiento de <i>B. cereus</i> (con las condiciones de siembra e incubación especificadas en los métodos ISO 7932, BAM modalidad MYP o BACARA, NCh 3116.Of2008, ISP PRT- 712.02-035, AOAC 980.31).
Contenido o rango de la propiedad a ensayar	1,5x10 ² y 1,5x10 ³ ufc/g.
Número de ítems de ensayo (niveles)	3

VÁLIDO PARA USO EN ENSAYO DE APTITUD: EA BC AL 2301

LACM®/División de Metrología		Página 2 de 2 páginas	
Ficha técnica DM_FT_EA_07 Recuento presuntivo en placa de <i>Bacillus cereus</i> en alimentos		Versión: 31/01/2023	Última revisión: 31/01/2023
Preparado por: Susan Poo Jefe LACM®/División de Metrología	Revisado por: Andrés Soto Encargado de Análisis de Datos e Informes	Autorizado por: Susan Poo Jefe LACM®/División de Metrología	

Número de réplicas requerido por cada muestra de laboratorio	Una determinación consiste en una serie de dilución y en cada etapa la siembra en duplicado de 1 ml en tres placas cada vez (es decir 6 placas en total). El resultado de una determinación se obtiene de los recuentos de las 6 placas. En cuanto al número de réplicas, se solicitarán dos determinaciones.
Cantidad de material y su envase	40 g en bolsa de polietileno estéril.
Plazo límite para informar (enviar) los resultados	Desde el momento en que el material es recibido por el participante, 10 días hábiles máximo para realizar el análisis y 14 días hábiles para informar los resultados.
Método de asignación de valores (valores de referencia) a los ítems de ensayo	Valor consensual robusto (norma ISO ISO/TS 22117:2019, sección 8.3.3). Este valor consensual se obtiene de los resultados de los participantes y corresponde a un promedio robusto. Se utiliza el estimador robusto conocido como Biweight de Tukey, con escala igual a MADn y constante de ajuste k igual a 4,685.
Prueba de homogeneidad y estabilidad	Recuento de <i>Bacillus cereus</i> de 2 unidades (bolsas) por cada nivel, para homogeneidad, a analizar en el día de inicio del ensayo por LACM®/División Analítica, por método FDA/BAM Online. Dos envases adicionales por nivel a analizar al finalizar el plazo de análisis para el ensayo, para estabilidad. La prueba de homogeneidad se realiza en forma simultánea al ensayo. Para el análisis de los datos de homogeneidad se aplica el método de descomposición de varianza a partir de una tabla ANDEVA, siguiendo las recomendaciones del Protocolo IUPAC (“The International Harmonized Protocol for the proficiency testing of analytical chemistry laboratories”) y para el análisis de los datos de estabilidad se aplican las recomendaciones del estándar ISO 13528:2022 .
Evaluación de los resultados para establecer conformidad	Se asigna un score z (ISO 13528:2022 , subcapítulo 9.4) por participante para cada nivel. El score z se interpreta de la siguiente manera: si $ z \leq 2$ el resultado del participante es satisfactorio; si $2 < z < 3$ el resultado indica un signo de advertencia sobre su performance; si $ z \geq 3$ entonces es un signo de acción para que el laboratorio mejore su performance. La desviación estándar para la evaluación de la aptitud $\hat{\sigma}$ se obtiene por percepción y es igual a $\hat{\sigma} = 0,25 \log_{10}(ufc/g)$. Esta meta se aplica sólo si la incertidumbre u_x del valor asignado es inferior a $u_x \leq 0,4\hat{\sigma}$; en caso contrario, se utiliza el estimador de escala consensual Q_n (Croux C y Rousseuw, 1999, “Time-efficient algorithms for two highly robust estimators of scale”. Computational Statistics, Volume 1).
Forma de despacho del material	En caja de aislapol
Preservación	En lugar fresco y seco, bolsa sellada
Norma general que se aplica	NCh ISO 17043-2011; ISO 22117:2019 Ensayo de aptitud acreditado bajo la norma ISO 17043:2010 por la entidad mexicana de acreditación a.c. (ema) (certificado de acreditación N° PEA-ENS-14)
Subcontratación	Varios aspectos del programa de ensayos de aptitud se pueden eventualmente subcontratar. Cuando se realiza la subcontratación, ésta se adjudica a un subcontratista competente y LACM®/División de Metrología es responsable de este trabajo. La planificación del programa de EA, evaluación del desempeño o autorización de informe final no serán subcontratados.

VÁLIDO PARA USO EN ENSAYO DE APTITUD: EA BC AL 2301