

LACM®/División de Metrología		Página 1 de 2 páginas	
Ficha técnica DM_FT_EA_04 Recuento de microorganismos mesófilos aerobios en leche cruda. Técnica de recuento en placa y método instrumental bactoscan.		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

**Ensayo de aptitud: Recuento de microorganismos mesófilos aerobios en leche cruda.
 Técnica de recuento en placa y método instrumental bactoscan.**

Objetivos y alcance	<ul style="list-style-type: none"> - Evaluar el performance de los laboratorios que ejecutan determinaciones de recuento de bacterias mesófilas aerobias en leche cruda 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 realizados por LACM®/División de Metrología en los últimos años. Esta meta es común tanto para el método de recuento en placa como el instrumental. - Dicho performance se obtendrá mediante el empleo de muestras de leche predial, lo que permite a los laboratorios participantes evaluar su performance bajo las mismas condiciones del análisis que las de rutina. - El ensayo de aptitud está destinado a los métodos de recuento en placa sustentados por estándares de amplio uso y al método instrumental BactoScan. - En el caso del método instrumental, el ensayo permite evaluar el performance en cuanto a predicción del recuento en placa que se logra con la función que relaciona los recuentos instrumentales con los recuentos en placa.
Naturaleza del material de ensayo	Muestras de leche cruda con diferentes niveles de recuento, las que son obtenidas de diferentes predios de la Región. Estas muestras son utilizadas en forma directa o combinadas para obtener una variada gama de recuentos.
Métodos de ensayo aplicables	<ul style="list-style-type: none"> - Recuento de aerobios en placa, con siembra en profundidad e incubación a 32 °C por 48 horas y estandarizado según: NCh 2045, BAM Online Chapter 3 (Aerobic Plate Count), PRT-712.02-023 (condición de incubación para leche) y “Standard Plate Count” descrito en “Standard Methods for the Examination of Dairy Products” (APHA). - Recuento aeróbico en placa, con siembra en profundidad e incubación a 30 °C por 72 horas, estandarizado según: ISO 4833-1 - Recuento de aerobio en placa, siembra en superficie, estandarizados según: AOAC 986.33 (Petrifilm) (el cual especifica incubación a 32 °C por 48 horas) e ISO 4833-2 (incubación a 30 °C). - Método instrumental Bactoscan
Mensurandos	Recuento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) de microorganismos aerobios mesófilos en UFC/ml de leche cruda , obtenido por método de recuento en placa en profundidad o superficie (con siembra en agar plate count y condiciones de incubación de 32°C por 48 horas, o 30 °C por 72 h) o por método instrumental de citometría de flujo “BactoScan” (con una relación de conversión de “Recuento Individual de Bacterias” IBC a UFC obtenida de acuerdo a los requisitos del estándar ISO 21187).

VÁLIDO PARA USO EN ENSAYO DE APTITUD: 95 FH@7' & \$%

LACM®/División de Metrología		Página 2 de 2 páginas	
Ficha técnica DM_FT_EA_04 Recuento de microorganismos mesófilos aerobios en leche cruda. Técnica de recuento en placa y método instrumental bactoscan.		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	

Contenido o rango de la propiedad a ensayar	4,2x10 ³ a 5 x 10 ⁶ ufc/mL
Número de ítems de ensayo (niveles)	4
Número de réplicas requerido por cada muestra de laboratorio	Una determinación consistirá en una sola serie de dilución y dos placas por cada nivel de dilución; se solicitarán dos determinaciones por nivel (es decir, 2 réplicas).
Cantidad de material y su envase	50 mL, en frasco de polietileno estéril.
Plazo límite para informar (enviar) los resultados	Una vez recibido el material por el participante, éste debe ser analizado en el día y hora especificados para el ensayo; el plazo para envío de los resultados será de 10 días hábiles a partir de la fecha de análisis.
Método de asignación de valores (valores de referencia) a los ítems de ensayo	Valor consensual robusto (norma ISO 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	Recuento de microorganismos aerobios mesófilos de 3 frascos por cada nivel, a analizar por método instrumental Bactoscan, por un laboratorio acreditado bajo la norma ISO 17025. La prueba de homogeneidad se realiza en forma simultánea al ensayo. Para el análisis de los datos 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”)
Evaluación de los resultados para establecer conformidad	Se asigna un score z (<i>ISO 13528:2022</i> , 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 $\hat{\sigma} = 0,25 \log_{10}(\text{ufc/ml})$. 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 doble caja de aislapol con agua hielo.
Preservación	En refrigeración a 4°C ± 2°C
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: 95 FH@7' & \$%