

ESTUDIO INTERCOLABORATIVO MICROKIT P/A CLOSTRICULT

Versión 1



ÍNDICE

ASPECTOS GENERALES	3
1. PROCEDIMIENTOS	3
2. HOMOGENEIDAD Y ESTABILIDAD	3
3. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE DATOS	4
PARTE I.....	11
1. INTRODUCCIÓN	11
2. PARÁMETROS DE LA RONDA	11
3. CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	11
4. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.....	13
5. MÉTODOS Y DATOS TÉCNICOS	14
6. DATOS ADICIONALES	17
7. LABORATORIOS PARTICIPANTES	17
8. DESVIACIONES ESTÁNDAR “DIANA”	17
9. HOMOGENEIDAD Y ESTABILIDAD	18
10. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS	24
PARTE II.....	26
1. RESULTADOS RECIBIDOS	26
2. EVALUACIÓN ESTADÍSTICA DE RESULTADOS	30
3. ESTUDIO COLABORATIVO PARA LA VALIDACIÓN DEL MEDIO P/A Clostricult.....	30
3. 1. RESULTADOS	30
3. 2. RESUMEN	37

ASPECTOS GENERALES

A continuación se comentan algunos aspectos generales relativos a este estudio intercolaborativo.

La organización y el desarrollo de este estudio se han basado en los documentos siguientes:

- UNE 66543-1 IN “Ensayos de aptitud por intercomparación de laboratorios. Parte 1: Desarrollo y aplicación de programas de ensayos de aptitud”.
- ISO/DIS 13528:2005”Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison”.
- Guía ILAC-G13:08/2007.”Guidelines for the requirements for the competence of providers of proficiency testing schemes”.
- CGA-ENAC-PPI:2003.”Criterios generales para la acreditación de proveedores de programas de intercomparación según la UNE 66543-1 y la Guía ILAC G-13”.
- G-ENAC-14:2008. “Guía sobre la participación en programas de intercomparaciones”.
- ISO 17043 “Conformity assessment-General requirements for proficiency testing“
- ISO 7218. “Microbiology of food and animal feeding stuffs- General rules for microbiological examination”.
- ISO 8199. “Water quality-General guide to the enumeration of microorganisms by culture”.
- ISO 16140.”Microbiology of food and animal feeding stuffs-Protocol for the validation of alternative microbiological methods”.
- ISO 13843.”Water quality-Guidance on validation of microbiological methods”.
- ISO 17994.”Water quality-Criteria for establishing equivalence between microbiological methods”.

Todas las actividades relacionadas con el proceso de preparación de las muestras para su análisis, así como el estudio estadístico realizado se han realizado siguiendo los requerimientos del proveedor de ejercicios de intercomparación en base a la Norma ISO 17043.

Toda la información reflejada en este informe, suministrada por cada uno de los participantes a MICROKIT, y que este ha remitido a ielab, ha sido tratada de forma totalmente confidencial.

1. PROCEDIMIENTOS

La preparación de las muestras ensayadas está basada en el procedimiento interno EI-021 “Realización de Ejercicios de Intercomparación microbiológicos”.

2. HOMOGENEIDAD Y ESTABILIDAD

Para realizar el estudio de homogeneidad se toman, de entre todos los viales preparados, 10 muestras al azar y se analizan dos porciones de cada una de ellas en condiciones de repetibilidad. Los resultados obtenidos para cada uno de los microorganismos presentes en la muestra, son analizados de dos formas:

- En la primera de ellas, se calculan los estadísticos T_1 y T_2 para comprobar si los recuentos siguen una distribución de Poisson (Report EUR 15008 y Report EUR 14375 EN). El primer test examina los recuentos de las submuestras de la misma muestra, mientras que el segundo test analiza los recuentos obtenidos en diferentes muestras.
- En caso de una distribución de Poisson, los valores esperados de T_1 y T_2 coinciden con los grados de libertad y en consecuencia el cociente de T_1 y T_2 con sus correspondientes grados de libertad debe ser igual a 1. La distribución de Poisson es la variación teórica más pequeña que se puede encontrar. Sin embargo, en microbiología existe el fenómeno de sobredispersión y el cociente de T_2 y sus grados de libertad es habitualmente mayor de 1. En consecuencia el valor máximo aceptable para dicho cociente será de 2.
- En la segunda, se realiza un análisis de varianza (ANOVA) y se comprueba si se cumple el criterio de homogeneidad establecido en la norma ISO/DIS 13528, consistente en que la desviación estándar entre muestras (S_s) sea menor o igual que 0.3 veces la desviación estándar “diana” o adecuada al fin pretendido (σ).

Para comprobar la estabilidad de la muestra durante el período de análisis establecido, las muestras se analizan con una frecuencia establecida con anterioridad a la realización del ejercicio, consistente en un primer ensayo el día del envío y cada siete días hasta la semana de cierre del estudio. Se estudian tres muestras por duplicado en cada fecha y de cada uno de los microorganismos presentes en las muestras. Los resultados se analizan siguiendo los siguientes criterios:

- Se efectuará un análisis de varianza (ANOVA) de comparación de medias, utilizando como hipótesis que las medias de los diferentes días son iguales con un 95% de probabilidad.
- Siguiendo el criterio establecido en la norma ISO/DIS 13528, la diferencia en valor absoluto entre la media obtenida en el día de envío (X) y la media obtenida en el día ensayado (Y) debe ser menor o igual a 0.4 veces la desviación estándar “diana” o adecuada al fin pretendido (σ).

3. TRATAMIENTO ESTADÍSTICO DE DATOS

Para cada parámetro, los resultados recibidos de los laboratorios, son tratados técnica y estadísticamente, según las normas recomendadas internacionalmente, y que han sido mencionadas anteriormente.

3.1. Evaluación estadística de resultados.

Eliminación previa de laboratorios

En primer lugar se realiza una eliminación de laboratorios que proporcionan resultados que no cumplen las instrucciones solicitadas, y de aquellos que informan de resultados falsos positivos o falsos negativos. Se siguen estas dos etapas:

- Eliminación previa de los resultados que no cumplen las instrucciones solicitadas (mal expresados, no dar el número de resultados solicitados, inconcretos, ilegibles, ambiguos, abreviados, expresados con el límite de detección o cuantificación, $>$, $<$, no numéricos...).

- En esta fase se eliminan también aquellos laboratorios que proporcionan resultados numéricos o de presencia en muestras que no contenían el microorganismo o parámetro (falsos positivos) a investigar, y aquellos laboratorios que no encuentran microorganismos (lo informan como 0 o ausencia, dependiendo del microorganismo) que habían sido inoculados en la muestra (falsos negativos).

Estos laboratorios aparecen sombreados en las tablas de resultados.

Conversión logarítmica

La conversión logarítmica (\log_{10}) de los resultados, permite obtener una distribución de Gauss (normal) y realizar todos los cálculos estadísticos en escala logarítmica.

(Para los resultados "0" se considerará "1" para poder obtener un valor de "0" en escala logarítmica y poder así hacer el tratamiento estadístico logarítmico)

- Cálculo de la media (**X**) y desviación estándar (**S**) para cada laboratorio.

Eliminación de resultados aberrantes

Inicialmente se eliminan aquellos valores medios que se consideran significativamente diferentes del resto de la población, aplicándose los siguientes criterios:

- Eliminación de resultados por aplicación del test de la MEDIANA, con ello se eliminan los valores medios de los laboratorios, que se encuentran fuera del rango de $\pm 50\%$ del valor de la mediana de la totalidad de los resultados.
- Eliminación de resultados por aplicación de dos tests estadísticos: en primer lugar el test de Cochran para detectar laboratorios que presentan una variabilidad intra-laboratorio significativamente mayor que el resto de laboratorios y a continuación los tests de Grubbs simple y Grubbs doble que permiten detectar laboratorios con medias extremas.

Estos laboratorios aparecen sombreados en las tablas logarítmicas de resultados.

Valor asignado

El método empleado para la determinación del valor asignado consiste en la estimación del valor consenso entre los laboratorios participantes, obtenido como la media robusta (**X***) de todos los resultados aceptados, calculada junto con la desviación estándar robusta (**S***) mediante métodos estadísticos robustos que permiten minimizar la influencia de "outliers" (ISO/DIS 13528).

Desviación estándar "diana" o adecuada al fin pretendido (σ)

La desviación estándar "diana" define la escala de variación aceptable entre los laboratorios para cada ensayo. Se calcula para cada uno de los parámetros microbiológicos realizados en el ejercicio, aplicando una función de la concentración. El cálculo de esta función de concentración se realiza a partir de datos históricos de la desviación estándar relativa (RSD), procedentes de Ejercicios de

Intercomparación organizados por ielab. De este modo, el criterio de cálculo de la desviación estándar “diana” se mantiene fijo entre diferentes Rondas, y los resultados de cada laboratorio son comparables en el tiempo, pudiéndose analizar su evolución.

Incertidumbre del valor asignado

La incertidumbre del valor asignado (**u_x**) es calculada a partir del número de laboratorios aceptados (**n**), y de la desviación estándar robusta (**S***) como:

$$u_x = 1.23x \frac{S^*}{\sqrt{n}}$$

Donde:

u_x: Incertidumbre del valor asignado; S*: Desviación estándar robusta; n: Número de laboratorios

Evaluación del rendimiento. Criterio Z-Score

Para evaluar la eficacia de los participantes en cada uno de los parámetros estudiados, se emplea el **criterio Z**, de acuerdo con la ecuación:

$$z = \frac{x - X}{\sigma}$$

Donde:

x: Valor medio de los resultados de un laboratorio; X: Valor asignado; σ : S “diana”

Al aumentar la desviación del resultado, aumenta el valor absoluto de Z, pudiendo ser por exceso o por defecto (según el signo de Z). Habitualmente, los valores de las Z se interpretan del modo siguiente

$$\begin{array}{l} |Z| < 2 \text{ satisfactorio} \\ 2 \leq |Z| \leq 3 \text{ cuestionable} \\ |Z| > 3 \text{ insatisfactorio} \end{array}$$

3.2. Estudio colaborativo para la validación del medio P/A Clostricult

3.2.1. Laboratorios participantes

La decisión del número de laboratorios que tienen que participar en un estudio de este tipo debe tener en cuenta el número de muestras a ensayar y la estimación del intervalo de confianza de los parámetros a evaluar. Estos intervalos pueden predecirse en base a diferentes teorías estadísticas para diferentes números de resultados obtenidos en diferentes laboratorios.

Existe una relación entre el número de participantes, el número de muestras, la precisión o margen de error y el nivel de confianza deseado cuando se considera el número de laboratorios independientes necesarios para la validación. En general, resultados binomiales (presencia/ausencia) generados por métodos cualitativos necesitan un número mayor de laboratorios y muestras para alcanzar niveles similares de margen de error que los métodos cuantitativos.

Existe un modelo matemático para estimar el margen de error (p_2) (precisión) dado el número de Laboratorios (L) y de muestras ensayadas (m) para un método que es necesario clasificar correctamente (80%) (p_1) de las porciones analíticas positivas (tasa de sensibilidad) con un límite de confianza de 90%. La ecuación es la siguiente:

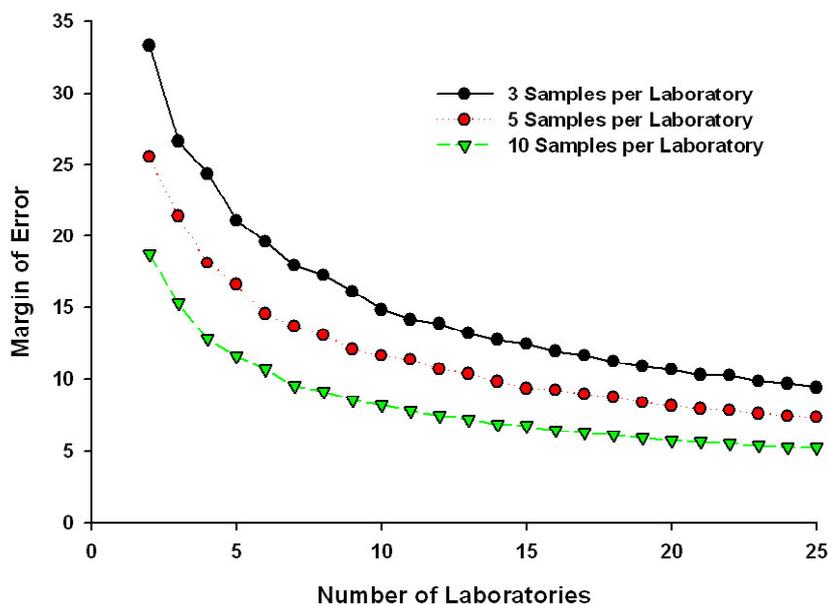
$$p_2 = 100 Z_{\alpha} \hat{S} / [L^{1/2} m (p_1/100)]$$

$L = 2, 3, \dots, 25$

$m = 3, 5, 10$

$\alpha = .05$ (corresponde a $Z_{\alpha} = 1.645$ o límite de confianza del 90%)

\hat{S} = desviación estándar estimada (método de simulación) del número de respuestas positivas por laboratorio y tasa de sensibilidad del 80% para estimar el margen de error.



Margen de error para un método con una sensibilidad relativa del 80% y un intervalo de confianza del 90%.

Dado, que la incertidumbre está asociada al incremento del número ensayos independientes de laboratorios, existe un compromiso de emplear entre 8 y 15 laboratorios. Es de esperar siempre un pequeño número de laboratorios que estadísticamente pueden considerarse “outliers” por una incorrecta aplicación del método y que siempre serán excluidos. Sin embargo, existen limitaciones para aplicar esta aproximación estadística, y últimamente el número de laboratorios está basándose en cierto modo en un criterio subjetivo de si los resultados podrán demostrar la aplicabilidad del método. También es importante considerar la complejidad del método y la necesidad de recursos para su aplicación. También se recomienda no incluir solo laboratorios con experiencia en el método, pero si que es importante que los participantes dispongan de experiencia con equipos o técnicas a emplear. La exactitud y precisión de la técnica en el laboratorio cuando analiza muestras ciegas puede ser también un factor importante, aunque siempre es necesario tener en cuenta que los resultados obtenidos de la evaluación deben considerarse como preliminares, ya que podrían mejorar en el futuro a medida que los laboratorios adquieren mayor experiencia con el método.

3.2.2. Muestras empleadas

En el apartado Muestras de la Parte I de este informe se describe ampliamente las muestras ensayadas.

Es importante resaltar, que las 10 muestras remitidas, se clasificaban en tres grupos L₀, L₁ y L₂ en función del grado de contaminación por *C. perfringens*. En la siguiente tabla se describe la clasificación de las muestras en función del nivel de contaminación. En el apartado 3 de la Parte I de este informe se describe detalladamente las características de las muestras empleadas. Además, las pastillas P₂ y P₇ y P₃ y P₈ se trataba del mismo material dos a dos, por lo que se consideró que fue analizado por duplicado.

Nivel de contaminación	Pastillas
L ₀	P ₁ , P ₅ y P ₉
L ₁	P ₃ , P ₄ , P ₈ y P ₁₀
L ₂	P ₂ , P ₆ y P ₇

3.2.3. Análisis de resultados

Porcentaje de especificidad (SP).

Se calcula del siguiente modo:

$$SP = \left(1 - \left(\frac{FP}{N -} \right) \right) \times 100$$

N= N° total de análisis en el nivel L₀

FP= N° de falsos positivos

Porcentaje de sensibilidad (SE).

Se calcula del siguiente modo:

$$SE = \frac{TP}{N+} \times 100$$

N+= N° total de análisis en el nivel L₁ y L₂ respectivamente.

TP= N° de verdaderos positivos

Eficacia relativa.

Se calcula del siguiente modo (AC):

$$AC = \frac{(PA + NA)}{N} \times 100$$

N= N° total de las muestras analizadas (para el nivel L_i o todos los niveles)

PA= N° de concordancias positivas

NA= N° de concordancias negativas

Análisis de resultados discordantes.

Se realiza tal y como viene descrito en la norma ISO 16140, empleando los recuentos de Desviación positiva (PD) y Desviación negativa (ND).

Interpretación de resultados.

Los criterios de eficacia, sensibilidad y especificidad no tratan realmente de la variabilidad del método dentro del laboratorio y entre laboratorios (precisión del método).

Existen unos criterios suplementarios (conformidad, concordancia y oportunidad relativa de concordancia) que pueden ayudar a aproximar esta variable. Los criterios de repetibilidad y reproducibilidad miden la diferencia probable entre dos muestras enviadas o al mismo o diferentes laboratorios. Como no puede emplearse la diferencia de los datos que no son cuantitativo, las estadísticas para métodos cualitativos se basan más bien en la probabilidad de que dos muestras idénticas den el mismo resultado.

Conformidad: Es el porcentaje de posibilidades de encontrar el mismo resultado (positivo o negativo) de dos porciones de análisis, analizadas en el mismo laboratorio, en condiciones de repetibilidad y

los mismos reactivos en el intervalo de tiempo más corto posible. La conformidad es por ello el equivalente de la repetibilidad en los métodos cuantitativos.

Para obtener la conformidad de los resultados del estudio, la probabilidad de que dos muestras den el mismo resultados de calcula para cada uno de los laboratorios participantes, y esta probabilidad es entonces promediada para el conjunto de los laboratorios.

Concordancia: Es el porcentaje de posibilidad de encontrar el mismo resultado para dos muestras idénticas analizadas en dos laboratorios diferentes. La concordancia es por ello el equivalente de la reproducibilidad de los métodos cuantitativos.

Para calcular la concordancia de los resultados del estudio, se toma uno a uno cada replicado en cada laboratorio participante, se empareja con los resultados idénticos de todos los otros laboratorios. La concordancia es el porcentaje de todas las parejas que dan el mismo resultado sobre todas las parejas posibles de resultados.

Oportunidad relativa de concordancia: Si la concordancia es más pequeña que la conformidad, indica que dos muestras idénticas tienen más posibilidades de dar el mismo resultados si son analizadas por el mismo laboratorio que si son analizadas por laboratorios diferentes, sugiriendo que puede haber una variabilidad en el rendimiento entre laboratorios. Esta es la misma situación que cuando la reproducibilidad es mayor que la repetibilidad para un método cuantitativo.

La magnitud de la concordancia y conformidad es fuertemente dependiente del nivel de eficacia, haciendo difícil calcular el grado de variación entre-laboratorio.

Es en consecuencia útil calcular la oportunidad relativa de concordancia (COR) definida como:

$$COR = \frac{\text{conformidad} \times (100 - \text{concordancia})}{\text{concordancia} \times (100 - \text{conformidad})}$$

PARTE I

1. INTRODUCCIÓN

El objetivo de este informe es presentar los resultados y el tratamiento estadístico del estudio intercolaborativo organizado por ielab por solicitud de la empresa MICROKIT, de modo que se pueda evaluar la variabilidad de los resultados *Clostridium perfringens* de obtenidos con el medio P/A Clostricult en diferentes laboratorios empleando muestras idénticas.

Responsabilidad técnica:



Vicente Catalán (Dirección técnica Microbiología)

2. PARÁMETROS DEL ESTUDIO

Clostridium perfringens

3. CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA

En este Ejercicio Intercolaborativo, se ha empleado un material homogéneo y estable, suministrado en formato pastilla, que después de prepararlo según el procedimiento que se describe a continuación, permite obtener una muestra acuosa similar a la que se emplea en un control microbiológico de *Clostridium perfringens* en agua.

Las características de las muestras enviadas se detallan en la tabla siguiente, incluyéndose el valor intentado por la Organización, empleando como medio de cultivo agar base perfringens suplementado con triptosa-sulfito-cicloserina (TSC):

NIVEL DE CONTAMINACIÓN	PASTILLA	MICROORGANISMO	VALOR INTENTADO (ufc/100 mL)
L ₀	P ₁	<i>Clostridium sporogenes</i> (ATCC 11437)	46
	P ₅	Blanco	0
	P ₉	<i>Clostridium sporogenes</i> (ATCC 11437)	1180
L ₁	P ₃ y P ₈	<i>Clostridium perfringens</i> (Aislado ambiental)	237
	P ₄	<i>Clostridium perfringens</i> (Aislado ambiental)	170
	P ₁₀	<i>Clostridium perfringens</i> (ATCC 13124)	153
L ₂	P ₂ y P ₇	<i>Clostridium perfringens</i> (ATCC 13124)	1556
	P ₆	<i>Clostridium perfringens</i> (ATCC 13124)	1424

Las instrucciones remitidas para la realización de este estudio consistieron:

Para una correcta recepción y conservación del material a ensayar, es importante seguir las siguientes instrucciones:

- A) Comprobar que se reciben **diez viales (P₁ a P₁₀)** conteniendo una pastilla cada uno.
- B) El material recibido se deberá conservar a -18°C, en congelador convencional.

El análisis de las muestras debe realizarse **lo antes posible** después de la recepción de la muestra. Fecha límite recomendada para su realización: **23 mayo 2011**.

4. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

- A) Las pastillas contenidas en los viales recibidos **en ningún momento se deberán extraer de los viales.**
- B) Desprecintado la caja, rasgando la bolsa de celofán que la envuelve.
- C) Extraer los viales conteniendo cada una de las pastillas que se vayan a utilizar.
- D) En condiciones asépticas, retirar el precinto de seguridad y abrir el vial.
- E) Adicionar en condiciones asépticas 20 mL de agua destilada estéril.
- F) Dejar disolver durante 10 min a temperatura ambiente, agitando suavemente cada 2 min.
- G) Llevar los 20 mL de cada uno de los viales a un volumen final de 500 mL en agua estéril.
- H) Preparar **una** dilución seriada decimal de cada una de las muestras (10^{-1}), con un volumen final de 500 mL, para lo cual se traspasarán 50 mL de la solución inicial a una botella conteniendo 450 mL de agua estéril. (Máximo dos diluciones seriadas).

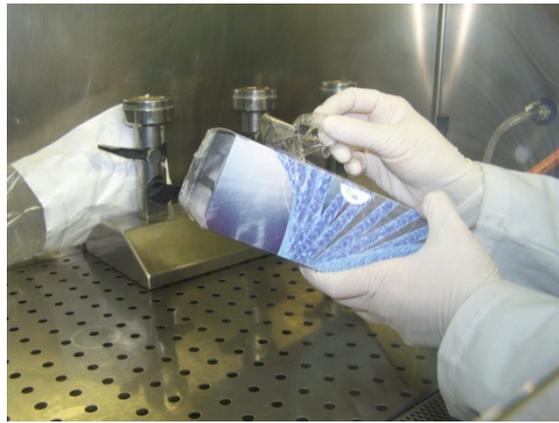


Fig. 1. Desprecintado

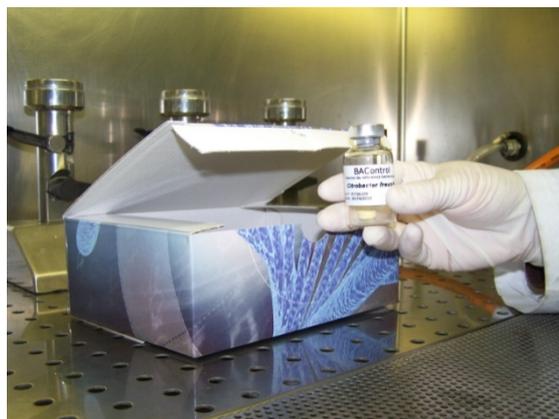


Fig. 2. Extracción de viales



Fig. 3. Apertura de viales



Fig. 4. Rehidratación



Fig. 5. Preparación de diluciones

5. MÉTODOS Y DATOS TÉCNICOS

A) Microkit P/A Clostricult

1. Añadir el contenido de un vial de P/A Clostricult a 100 mL de la muestra original preparada a partir de la pastilla, y otro vial a otros 100 mL de la dilución realizada. Precaución: no tocar ni el agua ni el polvo con las manos, para no contaminarlo.
2. Voltrear sin agitar para homogeneizar sin oxigenar (color paja con precipitados).

3. Incubar 18-48 h a $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ en anaerobiosis o al menos añadiendo 1 cm de altura de parafina líquida.
4. El viraje de color ámbar a negro de abajo hacia arriba indica presencia de *C. perfringens*.



Fig. 6. P/A Clostricult positivos

B) Triptosa-sulfito-cicloserina (TSC)/Triptosa-sulfito-cicloserina con metil-umbeliferil phosphate (TSC-MUP).

1. Preparar el medio de cultivo siguiendo las instrucciones del fabricante.
2. Filtrar 100 mL de la muestra original preparada a partir de la pastilla, y otros 100 mL de la dilución realizada, por membrana de ésteres de celulosa de 47 mm de diámetro y $0.45\ \mu\text{m}$ de tamaño de poro.
3. Colocar la membrana sobre la superficie del medio y añadir una capa del mismo medio fundido o de TSC agar, e incubar la placa en condiciones anaerobias a $(37 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ durante $(18-24\pm 3)$ horas.



Fig. 7. Filtración membrana

4. Se considerarán presuntivas todas aquellas colonias negras.
5. Para la confirmación de las colonias, el laboratorio aplicará los métodos tradicionalmente empleados, recomendándose la reducción de nitratos, la fermentación de la lactosa, la licuefacción de la gelatina y la ausencia de movilidad.
6. En caso de emplear TSC-MUP, realizar la lectura bajo luz ultravioleta a 366 nm, considerándose positivas las colonias fluorescentes.

C) mCP

1. Preparar el medio de cultivo siguiendo las instrucciones del fabricante.
2. Filtrar 100 mL de la muestra original preparada a partir de la pastilla, y otros 100 mL de la dilución realizada, por membrana de ésteres de celulosa de 47 mm de diámetro y 0.45 μm de tamaño de poro.
3. Colocar la membrana sobre la superficie del medio, e incubar la placa en condiciones anaerobias a $(44 \pm 1)^\circ\text{C}$ durante (21 ± 3) horas.
4. Se considerarán presuntivas aquellas colonias de color amarillo-beige.
5. Para la confirmación, exponer la placa a vapores de hidróxido amónico y efectuar el recuento de las colonias de color amarillo opaco que cambien a color rosa o rojo al cabo de 20 a 30 segundos de exposición.

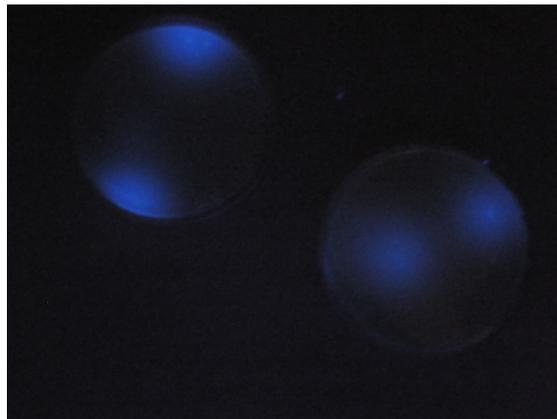


Fig. 8. TSC-MUP

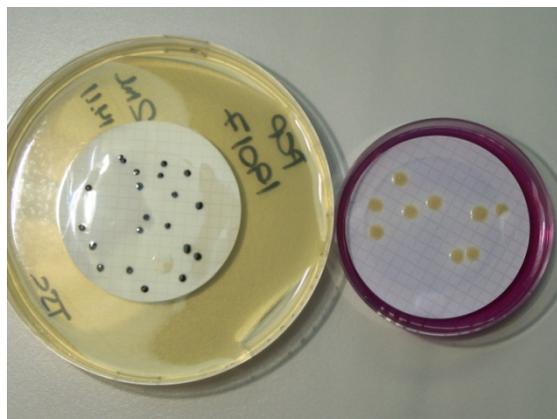


Fig 9. Resultado final. Izq. TSC; Dcha. mCP

D) Expresión de resultados

En el caso del medio P/A Clostricult, los resultados se expresarán como Presencia/ausencia, mientras que para el TSC/TSC-MUP y mCP se expresarán como ufc/100 mL

6. DATOS ADICIONALES

Fecha de distribución de la muestra:	16 mayo 2011
Fecha límite de realización del ensayo:	23 mayo 2011
Límite de recepción de resultados:	3 junio 2011
Laboratorios convocados:	12
Fecha de emisión del informe:	18 julio 2011

7. LABORATORIOS PARTICIPANTES

- Laboratorio del Instituto de Salud Pública-Pamplona-Navarra
- LSPL-Laboratorio Saúde Pública de Lugo
- Laboratori de Salut Pública, Agència de Protecció de la Salut à Tarragona
- Laboratorio de Salud Pública de Cartagena-Murcia
- Consorcio de Aguas Bilbao-Bizkaia
- GAMASER-Aguas de Valencia
- IPROMA, S.L. Castellón
- LABAQUA Alicante
- Laboratorio agbar Valladolid
- ADIRONDACK, S.L. Derio-Vizcaya
- SANICONSULT IBERICA S.L. Palma de Mallorca-Baleares
- Laboratorio identidad confidencial

8. DESVIACIONES ESTÁNDAR “DIANA”

Parámetro	Pastilla	Desviación “diana”
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC13124	P ₂ y P ₇	0.56
	P ₆	0.56
	P ₁₀	0.51
<i>C. perfringens</i> (Aislado ambiental)	P ₃ y P ₈	0.52
	P ₄	0.51
<i>C. sporogenes</i> ATCC 11437	P ₁	0.52
	P ₉	0.56

9. HOMOGENEIDAD Y ESTABILIDAD

Los resultados de los análisis realizados para los comprobar la homogeneidad y estabilidad de los distintos parámetros en las muestras ensayadas, son los siguientes:

HOMOGENEIDAD

Para realizar los estudios de homogeneidad, el material se rehidrató en 20 mL y se analizó el volumen indicado de la dilución apropiada en medio agar base perfringens suplementado con TSC.

***Clostridium sporogenes* ATCC 11437**
 (ufc/5 mL)
 Pastillas P₁

Vial	R ₁	R ₂
1	59	54
2	55	52
3	54	53
4	60	58
5	59	57
6	60	62
7	60	60
8	60	54
9	61	56
10	61	56

***Clostridium perfringens* ATCC 13124**
 (ufc/mL) (Dilución 1:10)
 Pastillas P₂ y P₇

Vial	R ₁	R ₂
1	34	41
2	39	42
3	39	41
4	37	42
5	38	42
6	39	43
7	41	41
8	40	42
9	34	32
10	36	38

Criterio 1:

$$T_2/(I-1): 0.22$$

I= N^o viales

Criterio 2:

$$S_s/\sigma = 0.03 < 0.3$$

S_s= Desv. estándar entre muestras
 σ= Desviación estándar "diana"

Criterio 1:

$$T_2/(I-1): 0.33$$

I= N^o viales

Criterio 2:

$$S_s/\sigma = 0.04 < 0.3$$

S_s= Desv. estándar entre muestras
 σ= Desviación estándar "diana"

***Clostridium perfringens*. Aislado ambiental
(ufc/mL)
Pastillas P₃ y P₈**

Vial	R ₁	R ₂
1	64	66
2	76	68
3	61	64
4	62	62
5	68	62
6	60	57
7	57	53
8	55	51
9	56	52
10	51	48

Criterio 1:

$$T_2/(I-1): 1.59$$

I= N° viales

Criterio 2:

$$S_s/\sigma = 0.09 < 0.3$$

S_s= Desv. estándar entre muestras
σ= Desviación estándar "diana"

***Clostridium perfringens* Aislado ambiental
(ufc/mL)
Pastillas P₄**

Vial	R ₁	R ₂
1	46	39
2	41	56
3	44	41
4	38	39
5	47	37
6	39	38
7	53	48
8	40	38
9	45	50
10	41	39

Criterio 1:

$$T_2/(I-1): 0.90$$

I= N° viales

Criterio 2:

$$S_s/\sigma = 0.06 < 0.3$$

S_s= Desv. estándar entre muestras
σ= Desviación estándar "diana"

***Clostridium perfringens* ATCC 13124**
(ufc/mL) (Dilución 1:10)

Pastilla P₆

Vial	R ₁	R ₂
1	32	39
2	33	45
3	38	31
4	31	32
5	41	39
6	38	37
7	32	35
8	31	30
9	40	32
10	37	44

***Clostridium sporogenes* ATCC 11437**
(ufc/mL) (Dilución 1:10)

Pastillas P₉

Vial	R ₁	R ₂
1	20	29
2	35	38
3	28	26
4	32	30
5	33	26
6	32	32
7	27	26
8	32	32
9	29	29
10	33	26

Criterio 1:

$$T_2/(l-1): 0.66$$

l= N° viales

Criterio 1:

$$T_2/(l-1): 0.77$$

l= N° viales

Criterio 2:

$$S_s/\sigma = 0.04 < 0.3$$

S_s= Desv. estándar entre muestras
σ= Desviación estándar "diana"

Criterio 2:

$$S_s/\sigma = 0.07 < 0.3$$

S_s= Desv. estándar entre muestras
σ= Desviación estándar "diana"

***Clostridium perfringens* ATCC 13124**
(ufc/mL)
Pastillas P₁₀

Vial	R ₁	R ₂
1	45	44
2	36	34
3	34	36
4	36	43
5	42	39
6	44	33
7	44	36
8	38	42
9	33	33
10	38	41

Criterio 1:

$$T_2/(I-1): 0.58$$

I= N° viales

Criterio 2:

$$S_s/\sigma = 0.05 < 0.3$$

S_s= Desv. estándar entre muestras
σ= Desviación estándar "diana"

ESTABILIDAD

Día	Réplica	<i>C. sporogenes</i> ATCC 11437 Pastillas P ₁		<i>C. perfringens</i> ATCC 13124 Pastillas P ₂ y P ₇ (Dilución 1:10)		<i>C. perfringens</i> (Aislado ambiental) Pastillas P ₃ y P ₈	
		ufc/5mL		ufc/mL			
		R ₁	R ₂	R ₁	R ₂	R ₁	R ₂
0	1	52	58	36	32	54	60
	2	54	48	36	34	58	59
	3	57	52	30	31	50	58
7	1	48	52	38	36	66	57
	2	42	49	35	28	64	51
	3	56	57	33	37	62	48
14	1	52	57	29	28	56	65
	2	48	59	38	39	68	69
	3	47	46	32	21	60	60
21	1	60	50	39	43	56	65
	2	58	46	32	31	58	60
	3	48	50	38	36	66	62

Día	Réplica	<i>C. perfringens</i> (Aislado ambiental) Pastillas P ₄		<i>C. perfringens</i> ATCC 13124 Pastilla P ₆ (Dilución 1:10)		<i>C. sporogenes</i> ATCC 11437 Pastilla P ₉ (Dilución 1:10)	
		ufc/mL					
		R ₁	R ₂	R ₁	R ₂	R ₁	R ₂
0	1	56	43	35	36	32	22
	2	55	43	31	35	31	29
	3	45	46	40	42	23	36
7	1	46	38	40	38	28	33
	2	41	50	37	39	27	40
	3	39	37	34	32	26	39
14	1	36	35	35	30	37	27
	2	34	39	34	33	39	28
	3	49	40	33	39	31	36
21	1	40	45	35	36	26	30
	2	36	40	37	32	30	24
	3	35	50	35	29	29	22

Día	Réplica	<i>C. perfringens</i> ATCC 13124 Pastilla P ₁₀	
		ufc/mL	
		R ₁	R ₂
0	1	46	45
	2	44	44
	3	53	38
7	1	42	36
	2	39	38
	3	38	41
14	1	44	40
	2	53	50
	3	46	41
21	1	45	37
	2	41	40
	3	48	32

Criterio 1: La diferencia en valor absoluto entre la media obtenida en el ensayo del día 0 y la media obtenida en el día ensayado deber ser menor o igual a 0.4 veces la desviación estándar "diana" (σ).

DIA	<i>C. sporogenes</i> ATCC 11437 Pastillas P ₁	<i>C. perfringens</i> ATCC 13124 Pastillas P ₂ y P ₇	<i>C. perfringens</i> (Aislado ambiental) Pastillas P ₃ y P ₈	<i>C. perfringens</i> (Aislado ambiental) Pastillas P ₄
7	ESTABLE	ESTABLE	ESTABLE	ESTABLE
14	ESTABLE	ESTABLE	ESTABLE	ESTABLE
21	ESTABLE	ESTABLE	ESTABLE	ESTABLE

DIA	<i>C. perfringens</i> ATCC 13124 Pastilla P ₆	<i>C. sporogenes</i> ATCC 114347 Pastilla P ₉	<i>C. perfringens</i> ATCC 13124 Pastilla P ₁₀
7	ESTABLE	ESTABLE	ESTABLE
14	ESTABLE	ESTABLE	ESTABLE
21	ESTABLE	ESTABLE	ESTABLE

Criterio 2: Análisis de varianza (ANOVA)

PARÁMETRO	P-valor
<i>C. sporogenes</i> ATCC 11437 Pastillas P ₁	0.79
<i>C. perfringens</i> ATCC 13124 Pastillas P ₂ y P ₇	0.25
<i>C. perfringens</i> (Aislado ambiental) Pastillas P ₃ y P ₈	0.18
<i>C. perfringens</i> (Aislado ambiental) Pastillas P ₄	0.05
<i>C. perfringens</i> ATCC 13124 Pastilla P ₆	0.33
<i>C. sporogenes</i> ATCC 114347 Pastilla P ₉	0.16
<i>C. perfringens</i> ATCC 13124 Pastilla P ₁₀	0.05

10. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

10.1 Resultados recibidos.

Los resultados se presentan del modo siguiente:

- La tabla general para cada parámetro con todos los resultados, la técnica y el medio de cultivo. Al final de la tabla se incluye:
 - Los códigos de los laboratorios eliminados previamente según los criterios mencionados en la sección 3 del apartado “Aspectos Generales” de este documento.

Los resultados eliminados aparecen como sombreados.

10.2. Evaluación estadística de resultados.

- La tabla logarítmica para cada parámetro, incluyendo la media la desviación estándar, el intervalo y el valor Z-Score. Al final de la tabla se incluye:
 - La media robusta (**X***).
 - La desviación estándar “diana” (σ).
 - La desviación estándar robusta (**S***).
 - La incertidumbre del valor asignado.

Los resultados eliminados en el tratamiento estadístico aparecen sombreados.

- Los resultados obtenidos del estudio de técnicas y medios de cultivo.
- El gráfico de intervalos y el gráfico de Z-Score.

10.3. Estudio colaborativo para la validación del medio P/A Clostricult.

- Tabla de resultados positivos obtenidos para cada nivel de contaminación.
- Porcentaje de especificidad.
- Porcentaje de sensibilidad.
- Tablas comparativas entre el método alternativo y el método de referencia.
- Eficacia relativa.
- Exámen de resultados discordantes.
- Interpretación de resultados:
 - Conformidad.
 - Concordancia.
 - Oportunidad relativa de concordancia.

Los resultados eliminados en el tratamiento estadístico aparecen sombreados.

- Resumen de resultados.

PARTE II

1. RESULTADOS RECIBIDOS

A) Pastilla 1. *Clostridium sporogenes* ATCC 11437

LAB	P/A Clostricult	TSC	TSC-MUP	mCP
	Presencia/ausencia	ufc/100 mL		
R123	Ausencia	<1	<1	<1
R89D	Ausencia	<1	<1	<1
R46D	Ausencia	0	0	0
R36D	Ausencia	0	0	0
DL22	Ausencia	0		
R693	A			0
R107	Ausencia	10	4	0
R64D	Ausencia	0	0	0
RD37	Ausencia	0	0	0
F37R	Ausencia (∅)	∅	∅	∅
R15D	Ausencia	<1	<1	<1
R347	Ausencia	<1	<1	<1

B) Pastillas 2 y 7. *Clostridium perfringens* ATCC 13124

LAB	Pastilla 2				Pastilla 7			
	P/A Clostricult	TSC	TSC-MUP	mCP	P/A Clostricult	TSC	TSC-MUP	mCP
	Presencia/ausencia	ufc/100 mL			Presencia/ausencia	ufc/100 mL		
R123	Presencia	<1	<1	<1	Presencia	<1	<1	<1
R89D	Presencia	<1	<1	<1	Presencia	<1	<1	<1
R46D	Presencia	100	90	70	Presencia	50	48	31
R36D	Presencia	5	5	1	Presencia	0	5	47
DL22	Presencia	180			Presencia	200		
R693	P			0	P			0
R107	Presencia	34	18	90	Presencia	360	120	2100
R64D	Presencia	16x10	67x10	0	Presencia	30	50x10	0
RD37	Presencia	0	0	100	Presencia	0	0	90
F37R	Presencia	∅	∅	∅		∅	∅	∅
R15D	Presencia	<1	<1	<1	Presencia	<1	<1	<1
R347	Presencia	<1	<1	>1000 (2000)	Presencia	<1	<1	>1000 (2000)

C) Pastillas 3 y 8. *Clostridium perfringens* (aislado ambiental)

LAB	Pastilla 3				Pastilla 8			
	P/A Clostricult	TSC	TSC-MUP	mCP	P/A Clostricult	TSC	TSC-MUP	mCP
	Presencia/ausencia	ufc/100 mL			Presencia/ausencia	ufc/100 mL		
R123	Presencia	<1	<1	<1	Presencia	<1	<1	<1
R89D	Presencia	<1	<1	<1	Presencia	<1	<1	<1
R46D	Presencia	80	60	10	Presencia	120	96	62
R36D	Presencia	4	0	0	Presencia	0	4	0
DL22	Presencia	150			Presencia	75		
R693	P			0	P			0
R107	Presencia			16	Presencia	50	33	14
R64D	Presencia	3	10x10	0	Presencia	0	16x10	0
RD37	Presencia	0	0	45	Presencia	0	0	36
F37R	Presencia	∅	10	∅		∅	∅	∅
R15D	Presencia	<1	<1	<1	Presencia	<1	<1	<1
R347	Presencia	Presencia	<1	25	Presencia	<1	<1	36

D) Pastilla 4. *Clostridium perfringens* (aislado ambiental)

LAB	P/A Clostricult	TSC	TSC-MUP	mCP
	Presencia/ausencia	ufc/100 mL		
R123	Presencia	80	<1	<1
R89D	Presencia	<1	<1	<1
R46D	Presencia	72	62	3
R36D	Presencia	1	5	0
DL22	Presencia	80		
R693	P			0
R107	Presencia	12	10	13
R64D	Presencia	0	15x10	13
RD37	Presencia	0	0	9
F37R	Presencia	140	∅	∅
R15D	Presencia	<1	<1	<1
R347	Presencia	Presencia	<1	16

E) Pastilla 5. Blanco

LAB	P/A Clostricult	TSC	TSC-MUP	mCP
	Presencia/ausencia	ufc/100 mL		
R123	Ausencia	<1	<1	<1
R89D	Ausencia	<1	<1	<1
R46D	Ausencia	0	0	0
R36D	Ausencia	0	5	0
DL22	Ausencia	0		
R693	A			0
R107	Ausencia	0	0	0
R64D	Ausencia	0	0	0
RD37	Ausencia	0	0	0
F37R	Ausencia	∅	∅	∅
R15D	Ausencia	<1	<1	<1
R347	Ausencia	<1	<1	<1

Falso positivo para TSC-MUP: R36D

F) Pastilla 6. *Clostridium perfringens* ATCC 13124

LAB	P/A Clostricult	TSC	TSC-MUP	mCP
	Presencia/ausencia	ufc/100 mL		
R123	Presencia	<1	<1	<1
R89D	Presencia	<1	<1	<1
R46D	Presencia	40	46	30
R36D	Presencia	1	0	0
DL22	Presencia	195		
R693	P			21
R107	Presencia			3300
R64D	Presencia	29x10	11x10 ²	0
RD37	Presencia	0	0	110
F37R	Presencia	∅	∅	∅
R15D	Presencia	<1	<1	<1
R347	Presencia	<1	<1	>1000 (2500)

G) Pastilla 9. *Clostridium sporogenes* ATCC 11437

LAB	P/A Clostricult	TSC	TSC-MUP	mCP
	Presencia/ausencia	ufc/100 mL		
R123	Ausencia	<1	<1	<1
R89D	Ausencia	<1	<1	<1
R46D	Ausencia	0	0	0
R36D	Ausencia	0	0	0
DL22	Ausencia	0		
R693	A			0
R107	Ausencia	4	9	0
R64D	Ausencia	0	0	0
RD37	Ausencia	0	0	0
F37R	Ausencia	∅	∅	∅
R15D	Ausencia	<1	<1	<1
R347	Ausencia	<1	<1	<1

H) Pastilla 10. *Clostridium perfringens* ATCC 13124

LAB	P/A Clostricult	TSC	TSC-MUP	mCP
	Presencia/ausencia	ufc/100 mL		
R123	Presencia	<1	<1	<1
R89D	Presencia	<1	<1	<1
R46D	Ausencia	0	0	0
R36D	Presencia	0	2	0
DL22	Presencia	13		
R693	P			60
R107	Presencia	100	100	370
R64D	Presencia	0	21x10	37x10
RD37	Presencia	0	0	33
F37R	Presencia	∅	∅	∅
R15D	Presencia	<1	<1	<1
R347	Presencia	<1	<1	380

Falso negativo para P/A Clostricult: R46D

2. EVALUACIÓN ESTADÍSTICA DE RESULTADOS

La gran dispersión de resultados obtenidos en el caso de los métodos por filtración en membrana, así como la abundancia de resultados negativos, imposibilitó su evaluación estadística y el cálculo de la eficacia de los laboratorios para dichos métodos, no siendo objeto de este estudio la investigación de las causas que dieron lugar a dichos resultados.

3. ESTUDIO COLABORATIVO PARA LA VALIDACIÓN DEL MEDIO P/A Clostricult

3.1. RESULTADOS

a) Niveles de contaminación en las muestras:

NIVEL DE CONTAMINACIÓN	PASTILLA	MICROORGANISMO	VALOR INTENTADO (ufc/100 mL)
L ₀	P ₁	<i>Clostridium sporogenes</i> (ATCC 11437)	46
	P ₅	Blanco	0
	P ₉	<i>Clostridium sporogenes</i> (ATCC 11437)	1180
L ₁	P ₃ y P ₈	<i>Clostridium perfringens</i> (Aislado ambiental)	237
	P ₄	<i>Clostridium perfringens</i> (Aislado ambiental)	170
	P ₁₀	<i>Clostridium perfringens</i> (ATCC 13124)	153
L ₂	P ₂ y P ₇	<i>Clostridium perfringens</i> (ATCC 13124)	1556
	P ₆	<i>Clostridium perfringens</i> (ATCC 13124)	1424

b) Resultados positivos obtenidos para cada nivel de contaminación:

LAB	Nivel de contaminación		
	L ₀	L ₁	L ₂
R123	0/3	4/4	3/3
R89D	0/3	4/4	3/3
R46D	0/3	3/4	3/3
R36D	0/3	4/4	3/3
DL22	0/3	4/4	3/3
R693	0/3	4/4	3/3
R107	0/3	4/4	3/3
R64D	0/3	4/4	3/3
RD37	0/3	4/4	3/3
F37R	0/3	4/4	3/3
R15D	0/3	4/4	3/3
R347	0/3	4/4	3/3
TOTAL	0	47	36

c) Porcentaje de especificidad:

Especificidad (SP)	100%
--------------------	------

d) Porcentaje de sensibilidad:

	Nivel de contaminación	Resultado (%)
Sensibilidad (SE)	L ₁	97.9
	L ₂	100
	TOTALIDAD	98.7

- e) Comparativa de resultados entre el método P/A Clostricult y el TSC para cada nivel de contaminación y la totalidad de resultados.

L₀

		TSC		
		Positivo	Negativo	Total
P/A Clostricult	Positivo	0	0	0
	Negativo	0	36	36
Total		0	36	36

L₁

		TSC		
		Positivo	Negativo	Total
P/A Clostricult	Positivo	47	0	47
	Negativo	1	0	1
Total		48	0	48

L₂

		TSC		
		Positivo	Negativo	Total
P/A Clostricult	Positivo	36	0	36
	Negativo	0	0	0
Total		36	0	36

L₁+L₂

		TSC		
		Positivo	Negativo	Total
P/A Clostricult	Positivo	83	0	83
	Negativo	1	0	1
Total		84	0	84

TOTALIDAD

		TSC		
		Positivo	Negativo	Total
P/A Clostricult	Positivo	83	0	83
	Negativo	1	36	37
Total		84	36	120

f) Eficacia relativa

	Nivel de contaminación	Resultado (%)
Eficacia relativa (AC)	L ₀	100
	L ₁	97.9
	L ₂	100
	L ₁ +L ₂	98.8
	TOTAL	99.2

g) Resultados discordantes

Resultados discordantes (Y)	1
-----------------------------	---

Y<6. No hay prueba disponible y los resultados proporcionados por el método P/A Clostricult se pueden considerar equivalentes a los valores de referencia (Obtenidos por la Organización por el método TSC).

h) Conformidad

L₀

LAB	Número de positivos	Probabilidad de positivos	Probabilidad de pares positivos	Probabilidad de negativos	Probabilidad de pares negativos	Probabilidad de pares con resultados idénticos
R123	0	0.00	0.00	1.00	1.00	1.00
R89D	0	0.00	0.00	1.00	1.00	1.00
R46D	0	0.00	0.00	1.00	1.00	1.00
R36D	0	0.00	0.00	1.00	1.00	1.00
DL22	0	0.00	0.00	1.00	1.00	1.00
R693	0	0.00	0.00	1.00	1.00	1.00
R107	0	0.00	0.00	1.00	1.00	1.00
R64D	0	0.00	0.00	1.00	1.00	1.00
RD37	0	0.00	0.00	1.00	1.00	1.00
F37R	0	0.00	0.00	1.00	1.00	1.00
R15D	0	0.00	0.00	1.00	1.00	1.00
R347	0	0.00	0.00	1.00	1.00	1.00
Promedio						1.00=100%

L₁

LAB	Número de positivos	Probabilidad de positivos	Probabilidad de pares positivos	Probabilidad de negativos	Probabilidad de pares negativos	Probabilidad de pares con resultados idénticos
R123	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
R89D	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
R46D	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
R36D	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
DL22	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
R693	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
R107	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
R64D	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
RD37	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
F37R	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
R15D	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
R347	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
Promedio						1.00=100%

L₂

LAB	Número de positivos	Probabilidad de positivos	Probabilidad de pares positivos	Probabilidad de negativos	Probabilidad de pares negativos	Probabilidad de pares con resultados idénticos
R123	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
R89D	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
R46D	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
R36D	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
DL22	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
R693	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
R107	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
R64D	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
RD37	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
F37R	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
R15D	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
R347	2	1.00	1.00	0.00	0.00	1.00
Promedio						1.00=100%

i) Concordancia

L₀

LAB	Número de negativos	Emparejamiento entre-laboratorios con los mismos resultados	Total de emparejamientos entre-laboratorios
R123	3	33	33
R89D	3	33	33
R46D	3	33	33
R36D	3	33	33
DL22	3	33	33
R693	3	33	33
R107	3	33	33
R64D	3	33	33
RD37	3	33	33
F37R	3	33	33
R15D	3	33	33
R347	3	33	33
TOTAL		396	396

Concordancia	100 %
---------------------	-------

L₁

LAB	Número de positivos	Emparejamiento entre-laboratorios con los mismos resultados	Total de emparejamientos entre-laboratorios
R123	4	65	65
R89D	4	65	65
R46D	4	55	65
R36D	4	65	65
DL22	4	65	65
R693	4	65	65
R107	4	65	65
R64D	4	65	65
RD37	4	65	65
F37R	4	65	65
R15D	4	65	65
R347	4	65	65
TOTAL		770	780

Concordancia	98.7 %
---------------------	--------

L₂

LAB	Número de positivos	Emparejamiento entre-laboratorios con los mismos resultados	Total de emparejamientos entre-laboratorios
R123	3	55	55
R89D	3	55	55
R46D	3	55	55
R36D	3	55	55
DL22	3	55	55
R693	3	55	55
R107	3	55	55
R64D	3	55	55
RD37	3	55	55
F37R	3	55	55
R15D	3	55	55
R347	3	55	55
TOTAL		660	660

Concordancia	100 %
---------------------	-------

j) Oportunidad relativa de concordancia

	Conformidad	Concordancia	COR
L ₀	100 %	100 %	1.0
L ₁	100%	98.7 %	1.01
L ₂	100 %	100 %	1.0

3.2. RESUMEN

1. El objetivo de este estudio intercolaborativo era evaluar la variabilidad de los resultados de *Clostridium perfringens* obtenidos con el medio P/A Clostricult en diferentes laboratorios empleando muestras idénticas.
2. Este estudio contempló el estudio de 10 muestras en 12 laboratorios, siendo cuatro de las muestras analizadas idénticas dos a dos (P₂-P₇ y P₃-P₈).
3. Se analizaron tres niveles de contaminación (L₀, L₁ y L₂).
4. Además del por el método P/A Clostricult, las muestras fueron también analizadas con TSC, TSC-MUP y mCP.
5. Los resultados obtenidos por los laboratorios con los métodos de filtración por membrana fueron dispares, imposibilitando su estudio estadístico.
6. Se analizaron los resultados proporcionados por los laboratorios empleando el medio P/A Clostricult, tomando como referencia los resultados obtenidos por la Organización con medio TSC. Los resultados obtenidos con el medio P/A Clostricult fueron altamente satisfactorios en base a las contaminaciones existentes en las muestras ensayadas, mostrándose en la tabla siguiente el resumen de los valores de validación.

		Nivel de contaminación			
		L ₀	L ₁	L ₂	TOTALIDAD
Porcentaje de especificidad		100 %			100%
Porcentaje de sensibilidad			97.9%	100%	98.7%
Eficacia relativa		100 %	97.9%	100%	99.2%
Resultados discordantes		0	1	0	1
Interpretación	Conformidad	100%	100%	100%	
	Concordancia	100%	98.7%	100%	
	Oportunidad relativa de concordancia	1.0	1.01	1.0	

- El porcentaje de sensibilidad es del 98.7%, el porcentaje de especificidad del 100% y la eficacia relativa del 99.2%.
- Se encontró un único resultado discordante.
- Se estudió la variabilidad del método evaluado, calculándose la conformidad, la concordancia y la oportunidad relativa, siendo los valores encontrados los mostrados en la tabla adjunta.