

CONTROL INTERNO DE LA CALIDAD APLICADO AL STABILAK, PRODUCTO PARA PROLONGAR LA CONSERVACIÓN DE LA LECHE SIN REFRIGERACIÓN

A. Betancourt, Verónica Navarro, Daisy González, Yanet López, Anel Linares

Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria Carretera de Jamaica y Autopista Nacional, Apartado 10,
San José de la Lajas, Mayabeque. Cuba. E mail: arsenio@censa.edu.cu

RESUMEN: El Stabilak es un producto que prolonga la conservación de la leche cruda sin refrigeración. El laboratorio de control de la calidad realiza ensayos para evaluar la conformidad del Stabilak con respecto a la especificación establecida, este laboratorio garantiza la fiabilidad de los resultados con un programa de control interno que está en proceso de mejora continua y para ello se propuso introducir herramientas estadísticas para el control de la calidad. Se seleccionaron como muestras controles, unidades de un lote de producto terminado segregados por defectos no críticos, se verificó la homogeneidad intra y entre los frascos de las muestras controles previo al estudio de la precisión como parámetro de validación de los ensayos y la construcción de gráficos de control de la calidad. Se determinó el rango crítico para establecer la diferencia permisible entre réplicas y se hallaron los coeficiente de variación con valores aceptables menores del 5% para todos ensayos. Los resultados de las muestras controles analizadas en condiciones de repetibilidad, generaron los intervalos de advertencia y acción para la confección de los gráficos de control. Los controles de calidad introducidos demostraron ser eficaces y de fácil aplicación para el control estadístico de los ensayos del laboratorio.

(Palabras claves: Stabilak; control interno de la calidad; métodos analíticos)

INTERNAL QUALITY CONTROL APPLIED TO STABILAK, EXTEND PRODUCT SHELF LIFE OF MILK WITHOUT REFRIGERATION

ABSTRACT: Stabilak is a product that prolongs the conservation of crude milk without refrigeration. The quality control laboratory carries out tests to evaluate the conformity of Stabilak with respect to the established specification, this laboratory guarantees the reliability of the results with an internal control program in process of continuous improvement which include statistical tools for the quality control. Units of finished product segregated by non critical defects were selected as control samples verifying the homogeneity of intra and inter samples bottles, previous to the study of the precision as a parameter of assays validation and the construction of graphics of quality control. The critical rank was determined to establish the permissible difference between samples retorts and the coefficients of variation were calculated with acceptable values below 5% for all the tests. The results of the control samples analyzed under of repeatability generated the intervals of warning and action for the preparation of the control graphs. The introduced quality controls demonstrated to be effective and of easy application for the statistical control of the laboratory tests.

(Keywords: Stabilak; internal quality control; analytical methods)

INTRODUCCIÓN

La leche que el humano consume puede ser objeto de contaminación por bacterias hasta niveles donde se declara no apta para su consumo, en forma directa

o procesada como derivados lácteos. El crecimiento de las bacterias puede retrasarse mediante la refrigeración, que reduce la velocidad del deterioro, pero existen diversas condiciones, donde es imposible aplicar la refrigeración, debido a razones económicas, técni-

cas o de infraestructura. Estas limitaciones de refrigeración constituyen un problema común en países en desarrollo, especialmente cuando la producción lechera, se halla en expansión, en áreas de difícil acceso o se tienen pequeños rebaños. Las razones expuestas han impulsado a la investigación y aplicación de otros métodos de conservación para la leche. Los estudios se han centrado en los sistemas antibacterianos naturales con miras a determinar si pueden utilizarse para conservar la leche cruda. Se ha demostrado que el sistema de la lactoperoxidasa/tiocianato/peróxido de hidrógeno (sistema LP), ofrece buenos resultados prácticos y es inocuo a la salud. (1).

El Stabilak es un producto para conservar la leche cruda, mediante la activación del sistema lactoperoxidasa, que se basa en la adición de pequeñas cantidades equimolares de tiocianato de sodio y peróxido de hidrógeno (en forma de percarbonato), como componentes que actúan de forma combinada (2, 3).

La planta de producción de Stabilak que posee en el Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA) aplica las buenas prácticas de fabricación, mientras que el laboratorio de control de la calidad siguiendo las buenas prácticas de laboratorio (BPL) evalúa la conformidad con la especificación establecida, ambos procesos funcionan bajo el marco de un sistema de gestión de la calidad implantado en el centro (4, 5).

El laboratorio de control de la calidad tiene un programa de control interno como parte de las BPL, su objetivo esencial es controlar la calidad de los resultados analíticos, su implementación por el laboratorio, al igual que las restantes actividades del mismo están en continua mejora, por esto se decidió como objetivo de este trabajo introducir herramientas estadísticas para lograr mayor control interno de la calidad en el laboratorio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Evaluación de muestras controles

Se evaluaron muestras controles para uso como materiales de referencia de trabajo (MRT) formados por unidades de un lote de los componentes Stabilak1 y Stabilak2 del producto STABILAK. Se determinaron los principios activos de ambos componentes. La homogeneidad de las muestras se comprobó por análisis de 10 unidades o frascos con dos réplicas, los valores atípicos se detectaron por la prueba de Grubb (6). Los valores eliminados se sustituyeron por nuevas determinaciones hasta llegar al número propuesto, procedimiento que se repitió en todos los estudios realizados con grupos de muestras. Se utilizó la prueba de Fisher

para demostrar homogeneidad cuando la varianza de las réplicas fue igual o menor que la varianza del método analítico y la varianza de los frascos fue igual o menor que la varianza de las réplicas (7). Se analizaron entre 15-30 determinaciones del principio activo, para determinar el grado de homogeneidad que definió la confección de los intervalos de confianza, tolerancia o el rechazo del material no homogéneo. Se utilizó el MRT como muestra control, para la validación de los métodos analíticos y la confección de los intervalos de los gráficos utilizados en el control interno del laboratorio.

Revalidación de los métodos analíticos

Se validó la precisión en condiciones de repetibilidad y condiciones intermedias de los métodos analíticos empleados para determinar los principios activos de los componentes del Stabilak: Concentración de tiocianato (1) y Concentración de peróxido de hidrógeno (8). Se evaluaron 15 o más muestras de los indicadores mencionados en condiciones de repetibilidad y en condiciones intermedias variando el día (diferencia mínima de 5 días) y el analista, mientras que en la concentración de tiocianato, se consideró también el equipo como fuente de variación. Se utilizó el paquete estadístico del Microsoft Office Excel 2007 para determinar el promedio, la desviación estándar (DS), varianzas, prueba de Fisher, el coeficiente de variación (CV) y el rango crítico (rc). Se compararon por la prueba de Fisher las varianzas de repetibilidad y condiciones intermedias, para identificar las fuentes de variación que inciden de manera significativa en los resultados analíticos.

Utilización de gráficos de control interno de la calidad

Se confeccionaron los intervalos para los gráficos de control por variables: Gráfico control de recorrido y el Gráfico control de media, se emplearon los valores obtenidos del material de referencia de trabajo evaluado en condiciones de repetibilidad. Para el Gráfico de control de media se determinaron la línea central (promedio), los intervalos de advertencia (promedio \pm 2DS) e intervalos de acción (promedio \pm 3DS), para el Gráfico de recorrido se calculó la línea central y el intervalo de acción según la NC ISO 8258: 2002 (9).

RESULTADOS Y DISCUSION

La muestra control empleada como material de referencia de trabajo (Tabla 1) no mostró diferencia estadística significativa entre las varianzas del principio activo dentro de cada frasco con respecto a la varianza entre frascos y a la varianza del método analítico, lo

que corroboró la homogeneidad de cada material y se reportaron los intervalos de confianza de los indicadores (Tabla 2), con valores que cumplieron con la especificación del producto, lo que permitió su empleo como muestras controles para la validación y la confección de gráficos de control.

La utilización de una parte de lotes de producción como materiales de referencia de trabajo, permitió disponer de muestras controles caracterizadas, similares a las muestras reales. El empleo de materiales de referencia de trabajo para el control de ensayos cualitativos o cuantitativos se ha utilizado con éxito en el control de la calidad de los laboratorios y es una alternativa factible frente a las limitaciones de financiamiento, para adquirir MR certificados o la carencia de los mismos en el mercado (10, 11).

La revalidación del ensayo se enfocó a la precisión, los valores de los coeficientes de variación caracterizaron la precisión de cada método analítico (Tabla 3), se considera que los ensayos alcanzaron una precisión adecuada debido a que los valores obtenidos, resultaron menores que los reportados para métodos físico-químico similares con valores entre 3 y 5 % (13).

Se determinó el rango crítico para cada indicador de calidad, de manera que se estableció la diferencia máxima permisible entre las réplicas de la muestra control, así como la diferencia entre las réplicas de las muestras reales, esto significa que se controló la precisión del método y también la precisión de cada muestra de manera independiente (12).

Se calculó del rango crítico (rc) para el muestreo (10 sobres) de acuerdo con el tamaño del lote del producto terminado para el Stabilak1 y Stabilak2.

$$rc(\text{Stabilak1}) = \text{desviación estándar} \times \text{factor tabulado} \\ = 3,08 \times 4,5 = 13,86$$

$$rc(\text{Stabilak2}) = \text{desviación estándar} \times \text{factor tabulado} \\ = 0,29 \times 4,5 = 1,31$$

El estudio de la precisión en condiciones intermedias para la determinación de tiocianato mostró que las fuentes de variación analista y día, no influyeron en la precisión de los resultados (Tabla 4), lo que indicó robustez del ensayo y una adecuada capacitación de los analistas. Por otra parte, los equipos de medición influyeron sobre la variabilidad de los resultados; el

TABLA 1. Comparación de las varianzas para evaluar la homogeneidad del material de referencia./ *Comparison of variances to evaluate the homogeneity of reference materials*

Prueba de Fisher	Probabilidad Calculada(p)	
	Stabilak1 (% tiocianato)	Stabilak2 (% peróxido de hidrógeno)
SF/SR	0,9479	0,9178
SR/SM	0,7999	0,0633

$p < 0,05$: *difieren las varianzas, SF: Varianza entre frascos, SR: Varianza intra frasco, SM: Varianza del método analítico

TABLA 2. Caracterización del material de referencia./ *Characterization of reference material*

Material de referencia de trabajo	Stabilak1 (% tiocianato), n=15	Stabilak2 (% peróxido de hidrógeno), n=16
Intervalo de confianza	101,28±0,33 (101,61-100,95)	26,75±0,31 (27,06 - 26,44)

TABLA 3. Precisión de los métodos en condiciones de repetibilidad. / *Accuracy of the methods under repeatability*

Estadísticos	Tiocianato (%)	Peróxido de hidrógeno (%)
Promedio	97,78	28,23
Desviación estándar	3,08	0,29
Coefficiente de variación (%)	3,15	1,04

espectrofotómetro que se consideró como potencial para realizar mediciones del ensayo, resultó el de mayor variabilidad y además registró valores promedios diferentes al equipo regular de trabajo (prueba t Student, 0,00185775, $p < 0,05$), por lo que se retiró la propuesta de equipo potencial para el ensayo, con posterioridad el mismo se declaró como no apto durante la verificación realizada por el órgano estatal para la metrología (INIMET), sometido a reparación y actualmente se encuentra pendiente a una nueva comprobación por el INIMET.

TABLA 4. Comparación de las varianzas durante los estudios de precisión intermedia. Determinación de tiocianato./ *Comparison of the variances for the intermediate precision studies. Determination of thiocyanate*

Prueba de Fisher	Probabilidad Calculada(p)
Sanalista-día/Sreferencia	0,8004
Sdías diferentes/analista1	0,4634
Sequios diferentes/equipo laboratorio	0,0249

$p < 0,05$ = diferencia significativa

Sreferencia = analista principal del ensayo

Sanalista-día = varianza de diferentes analistas en días diferentes

Sequios diferentes = varianza de diferentes equipos

En la determinación de peróxido de hidrógeno las fuentes de variación analista y día, no influyeron en la precisión del método (Tabla 5). Los analistas presentaron igual precisión; sin embargo el analista 2 reportó un promedio menor (tStudent, valor=3,17955E-07, $p < 0,05$), pero con valores comprendidos en el intervalo de la especificación del producto.

TABLA 5. Comparación de las varianzas durante los estudios de precisión intermedia. Determinación del peróxido de hidrógeno./ *Comparison of the variances for the intermediate precision studies. Determination of hydrogen peroxide*

Prueba de Fisher	Probabilidad Calculada(p)
Sanalista-día/Sr	0,6567
Sanalista1/analista2	0,3942
Sanalista 1/analista3	0,2135
Sanalista2/Sanalista3	0,6815

$p < 0,05$ = diferencia significativa

Sanalista-día = varianza de diferentes analistas en días diferentes

Se calcularon los intervalos en condiciones de repetibilidad, para construir los gráficos básicos de control (Tabla 6), el ploteo de nuevos valores en condiciones de rutina diaria debe generar el gráfico definitivo de control, mientras que la interpretación de los mismos seguirán la guía propuesta por Wesgard (14) y la experiencia práctica del laboratorio. Los intervalos obtenidos indicaron una variabilidad apropiada para los ensayos, porque sus valores se encontraron comprendidos en el intervalo establecido para la especificación del producto y están de acuerdo con la precisión determinada por medio de los coeficientes de variación.

TABLA 6. Estadígrafos para la confección de los gráficos de control interno./ *Statistics for the preparation of internal control charts*

Estadígrafos	Tiocianato (%)	Peróxido de hidrógeno (%)
Línea central	98,11	28,25
Intervalo de advertencia (promedio $\pm 2DS$)	92,72-103,50	27,56-28,95
Intervalo de acción (promedio $\pm 3DS$)	90,02-106,20	27,21-29,30
Línea central (gráfico recorrido)	2,86	0,35
Limite de acción (gráfico de recorrido)	8,81	1,14

Las actividades de materiales de referencia, validación y control interno de la calidad, son requisitos de los sistemas de gestión de la calidad de los laboratorios de ensayo, que pueden aplicarse de forma combinada con buena eficacia y han sido citadas como imprescindibles para los laboratorios de ensayo (15). Un adecuado control interno de la calidad, es la base para detectar desvíos de los resultados y una vía para demostrar a los clientes la confiabilidad de los resultados analíticos.

CONCLUSIONES

Las decisiones estadísticas sobre la validez de los resultados analíticos, aumentaron la eficacia del control de la calidad en los ensayos del laboratorio.

REFERENCIAS

1. NC 487:2009. Conservación de la leche cruda mediante la aplicación del producto Stabilak. Activador del Sistema Lactoperoxidasa.
2. Ponce P, López MG, Martínez E. Conservación de la leche cruda mediante la activación del sistema lactoperoxidasa/tiocianato/ peróxido de hidrógeno. *Rev Salud Anim.* 1987;9:120-128.
3. Ponce P, Capdevila J, Alfonso HA, López MG, León R, Taboada A. Conservación de la leche cruda mediante la activación de la leche cruda mediante la activación del sistema lactoperoxidasa en las condiciones de Cuba. Encuentro taller sobre control de la calidad de la leche. 26-29 de mayo. Edición UA MX/CENLAC. CENSA. México D. F. P. 1992, 231-264.
4. CECMED, Regulación16:2006. Directrices sobre Buenas Prácticas de Fabricación de productos farmacéuticos. p. Capítulo 12.
5. CEMED, Regulación37:2004. Buenas Prácticas de Laboratorio para el Control de la Calidad.
6. ISO5725-2:1994. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method, p. 9-13.
7. NC ISO Guía35:1998. Certificación de Materiales de Referencia. Principios Generales y Estadísticos.
8. <http://ciencia-basica-experimental.net/peroxido.htm>, revisado noviembre, 2010.
9. NC.ISO8258:2002. Gráficos de Control de Shewhart.
10. Cailliat MC. Control de Calidad Interno en la Cuantificación de Hemoglobina. *Acta bioquím clín latinoam.* 2006;40(3).
11. Travieso M, Díaz E, Villoch A, et al. Obtención de un candidato a material de referencia interno para el método de gazapos inmaduros. *Rev Salud Anim.* 2006;28(2):79-84.
12. ISO 5725-6:1994. Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results.»Part 6: Use in practice of accuracy values.
13. CECMED, Regulación 41:2007. Validación de métodos analíticos.
14. Westgard JO, Barry P, Hunt M, Groth T. A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry. *Clinical Chemistry.* 1981;27(3):493.
15. Betancourt A, Villoch A, Travieso M, Dávila N, Escobar A. Vínculo entre la validación, el control interno de la calidad y la determinación de la incertidumbre de los métodos analíticos en los laboratorios de ensayo de la rama Agropecuaria. *Rev Salud Anim.* 2004;26(2):89-91.

(Recibido 3-12-10; Aceptado 5-05-11)