



PERÚ

Ministerio
de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de
Sanidad Pesquera

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”
“Año del Bicentenario del Congreso de la República del Perú”

ORGANISMO NACIONAL DE SANIDAD PESQUERA Y ACUÍCOLA
COORDINACIÓN DE ENSAYOS DE APTITUD-SANIPES PROGRAMA
INTERLABORATORIO 2022
“ENUMERACIÓN DE STAPHYLOCOCCUS COAGULASA POSITIVO”
INFORME FINAL 2022-IV

Fecha de emisión: 2022/08/19

Datos de Contacto:

Proveedor: Coordinación de Ensayos de Aptitud - SANIPES

Persona de Contacto: Coordinador General de Ensayos de Aptitud

Correo electrónico: Interlaboratorios@sanipes.gob.pe

Teléfono.: (511) 213-8570

Sitio Web:

<https://www.sanipes.gob.pe/web/index.php/es/laboratorio/tus-laboratorios/ensayos-de-aptitud>

Consulta de Alcance Acreditado:

http://consultaema.mx:75/directorio_PEA/PDFs_PEA/PEA_ENS_18.pdf

Autorizado por:

Revisado por:

Ing. Pesq. Santos Flores Anaya
Director (e)
Dirección de Fiscalización Sanitaria (DFS)

Blgo-Mblgo Eduard Manuel Villalobos Infante
Coordinador General de Ensayos de Aptitud
Dirección de Fiscalización Sanitaria (DFS)

Página 1 de 15



PERÚ

Ministerio
de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de
Sanidad Pesquera

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”
“Año del Bicentenario del Congreso de la República del Perú”

DATOS DEL EQUIPO TÉCNICO:

Nombre	Formación	Cargo	Firma
Eduard Manuel Villalobos Infante	Biólogo Microbiólogo	Coordinador General de Ensayos de Aptitud	

Carlos Gene Quiróz Gutierrez	Biólogo Microbiólogo	Responsable Técnico de Ensayos de Aptitud	
---------------------------------	-------------------------	--	--





PERÚ

Ministerio
de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de
Sanidad Pesquera

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”
“Año del Bicentenario del Congreso de la República del Perú”

INDICE

1.	Introducción	4
2.	Declaración de Confidencialidad e Imparcialidad	5
3.	Procedimiento.....	6
4.	Ítem de Ensayo.....	6
4.1	Preparación de los Ítems de Ensayo	6
4.1.1	Contenido del Ítem de Ensayo.....	6
4.2	Homogeneidad	7
4.3	Estabilidad	7
4.4	Distribución y Transporte.....	8
4.5	[]Resultados Esperados	9
5.	Análisis Estadístico.....	9
6.	Resultados.....	12
7.	Comentarios	14
8.	Anexos.....	15

Página 3 de 15



PERÚ

Ministerio
de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de
Sanidad Pesquera

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”
“Año del Bicentenario del Congreso de la República del Perú”

1. Introducción

El Organismo Nacional de Sanidad Pesquera-SANIPES implementa, a través de la Dirección de Fiscalización Sanitaria (DFS), el Programa de Ensayos Interlaboratorios dirigidos a las Entidades de Ensayo autorizadas y previamente acreditadas por el INACAL, las cuales participan en la Certificación Sanitaria y los Control Oficial, establecidos para el sector pesquero y acuícola; programa que permite evaluar los resultados en los ensayos realizados con matrices hidrobiológicas, y así demostrar la confiabilidad y competencia técnica.

Los Ensayos Interlaboratorios son una herramienta técnica necesaria para implementar un sistema de monitoreo con el fin de vigilar el cumplimiento de los estándares de calidad en los ensayos que se ejecutan en las Entidades de Ensayo, fortaleciendo el rol del SANIPES y brindando confianza a los consumidores del mercado nacional y/o extranjero, así como a las autoridades sanitarias extranjeras.

El SANIPES, en cumplimiento a su programa de Interlaboratorios 2022, organizó la prueba de Enumeración de *Staphylococcus* coagulasa positivo, ensayo usado en la Certificación Sanitaria del sector pesquero y acuícola y en algunos requisitos sanitarios de productos hidrobiológicos.

El recuento de *Staphylococcus* coagulasa - positivos, incluyen cepas enterotoxigénicas, principalmente *Staphylococcus aureus* pero también de otras especies tales como *Staphylococcus intermedius* y de ciertas cepas de *Staphylococcus hyicus*.

La cepa de *Staphylococcus aureus* es una especie bacteriana causante de gran número de intoxicaciones alimentarias de evolución aguda en el hombre, dada a su capacidad para elaborar enterotoxinas extremadamente activas, que son la causa de intoxicaciones alimentarias. Las enterotoxinas elaboradas por este microorganismo pueden estar en muchos alimentos en los que esta bacteria ha logrado crecer y multiplicarse, sobre todo en los muy manipulados o en aquellos que se han preparado con antelación y se mantienen durante largo tiempo a una temperatura ambiente propicia. Entre estos alimentos se encuentran los productos hidrobiológicos, los cuales, puede ser contaminado con este microorganismo a través de manipuladores infectados o a partir del medio ambiente. Con mayor frecuencia la contaminación procede de un individuo con una infección en las manos, con un resfriado o con dolor de



PERÚ

Ministerio
de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de
Sanidad Pesquera

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”
“Año del Bicentenario del Congreso de la República del Perú”

garganta. La presencia de esta bacteria o sus enterotoxinas en alimentos procesados o en equipos de procesamiento de alimentos es generalmente un indicio de mala higiene.

Para el desarrollo del presente interlaboratorio, se empleó la cepa de: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Este interlaboratorio fue realizado en cumplimiento a los requisitos de la norma ISO/IEC 17043:2010 “Evaluación de la conformidad - Requisitos generales para los ensayos de aptitud”.

El diseño estadístico se realizó en el marco de la ISO 13528:2015 (Pruebas de Homogeneidad y Estabilidad) “Métodos estadísticos para su uso en pruebas de competencia por comparación entre laboratorios. El personal encargado del proceso, es personal calificado, el cual aseguró la imparcialidad y objetividad en la obtención de los resultados. Los Ítems de Ensayo pueden contener diversos analitos no habituales, con el fin de dar la oportunidad a los participantes de obtener una mayor experiencia.

Los diseños estadísticos estuvieron basados en las hipótesis, los errores, la naturaleza de datos y el número esperado de resultados. Los criterios de aceptación establecidos en la evaluación de la calidad del ensayo interlaboratorio aseguraron que cada participante reciba ítems de ensayo comparables y estables durante el desarrollo del interlaboratorio.

El presente informe detalla la información sobre los resultados de los laboratorios participantes, la evaluación de los datos y su desempeño en el Interlaboratorio para la “Enumeración de *Staphylococcus coagulasa positivo*”, desarrollado por la Coordinación de Ensayos de Aptitud (CEA) de SANIPES en referencia de la ISO/IEC 17043:2010.

2. Declaración de Confidencialidad e Imparcialidad

Los participantes del ensayo Interlaboratorio “Enumeración de *Staphylococcus coagulasa positivo*”, recibieron un código para su identificación, el cual es conocido por el Coordinador de Ensayos de Aptitud y/o de algún personal de la CEA SANIPES que el Coordinador designe, de conformidad a la política de la Coordinación de Ensayos de Aptitud – SANIPES, de mantener la confidencialidad en los resultados obtenidos, en marco del cumplimiento de la norma ISO/IEC 17043:2010.

Página 5 de 15



PERÚ

Ministerio
de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de
Sanidad Pesquera

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”
“Año del Bicentenario del Congreso de la República del Perú”

Toda la información proporcionada por los participantes se mantiene estrictamente confidencial y no se declara a ningún otro de los participantes.

Los resultados del ensayo Interlaboratorio serán comunicados a los participantes mediante correo electrónico interlaboratorios@sanipes.gob.pe, y publicados en la página web institucional.

3. Procedimiento

La información sobre el diseño del Ensayo de Aptitud “Enumeración de *Staphylococcus* coagulasa positivo”, se encuentra detallado en el Anexo 01.

4. Ítems de Ensayo

4.1. Preparación de los Ítems de Ensayo

El Ítem de Ensayo de este interlaboratorio fue preparado por la Coordinación de Ensayos de Aptitud de SANIPES, en condiciones controladas, usando equipos calibrados, material de referencia certificado y materia prima seleccionada para la preparación de las matrices.

4.1.1 Contenido del Ítem de Ensayo

Matriz

Se distribuyó 30 gramos de “concha de abanico” congelada (*Argopecten purpuratus*), en bolsa estéril debidamente sellada en condiciones asépticas. Se verificó previamente a la distribución, que el mecanismo de sellado prevenga la contaminación y que la matriz sea estéril.

Material Liofilizado

Para la preparación del Ítem de Ensayo se utilizó como microorganismo de interés:

- Lote liofilizado 13222602 de fecha 2022-02-26, cultivo liofilizado de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.



PERÚ

Ministerio
de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de
Sanidad Pesquera

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”
“Año del Bicentenario del Congreso de la República del Perú”

Se envió un (1) vial de vidrio sellado con precinto de aluminio, conteniendo una suspensión microbiana liofilizada del microorganismo anteriormente descrito.

4.2. Homogeneidad

De cada lote preparado se seleccionaron aleatoriamente 12 Ítems de Ensayo y se analizaron por duplicado según lo recomendado por la norma ISO 13528: 2015.

Para validar la homogeneidad del Ítem de Ensayo se realizó por duplicado el ensayo de “Enumeración de *Staphylococcus* coagulasa positivo”, usando el método ISO 6888-1: 2021 Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium.

Para el análisis de homogeneidad, se utilizó ítems de ensayos seleccionados al azar de los lotes preparados y considerados homogéneos cuando presentaron el 100 % de resultados previstos, conforme a su preparación.

Los datos fueron evaluados con el Test de Cochran para la evaluación de la variación de los recuentos y sus réplicas obtenidos al azar, luego se realizó un análisis de varianza (ANOVA) **p-valor=0.991** posteriormente se realizó el test de comparación de medias según la ISO 13528. Desviación estándar de la “diana” (σ_{pt}) = **0.430**.

Criterio de homogeneidad: $S_s \leq 0.3 \sigma_{pt}$

Resultado de la Homogeneidad $S_s = 0.090$, conforme

4.3. Estabilidad

Los estudios de estabilidad de los Ítems de Ensayo enviados fueron desarrollados con la metodología “Enumeración de *Staphylococcus* coagulasa positivo”, usando el método ISO 6888-1: 2021 Microbiology of the food chain - Horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other species) - Part 1: Technique using Baird-Parker agar medium, durante el periodo de ensayo establecido, a fin



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”
“Año del Bicentenario del Congreso de la República del Perú”

de asegurar que los Ítems de Ensayo preparados no sufran alteraciones, garantizando su estabilidad durante este periodo.

Para garantizar la estabilidad, se analizó 3 Ítems de Ensayo por duplicado, seleccionados aleatoriamente de los lotes preparados (ISO 13528: 2015) y se evaluó su estabilidad durante 3 períodos de tiempo diferentes (dentro del plazo de ensayo establecido).

Los datos fueron evaluados mediante un análisis de varianza (ANOVA) **p-valor = 0.340**; respecto a los datos de homogeneidad. Desviación estándar de la “diana” (σ_{pt}) = **0.430**.

Criterio de estabilidad: **$| \text{Media de Homogeneidad-Media de estabilidad (día)} | \leq 0.3 \sigma_{pt}$**

Resultado de la estabilidad: **Conforme**

- **Primera evaluación:** $0.032 < 0.129$
- **Segunda evaluación:** $0.063 < 0.129$
- **Tercera evaluación:** $0.016 < 0.129$

4.4. Distribución y Transporte

Para la “Enumeración de *Staphylococcus* coagulasa positivo”, cada laboratorio participante recibió una (1) bolsa de plástico sellada conteniendo 30 gramos de muestra “concha de abanico” congelada y un (1) vial con Liofilizado para la fortificación de la matriz, sellado e identificado con etiqueta impermeable.

Los laboratorios participantes fueron codificados según los Códigos: S-001, S-003, S-004, S-005, S-006, S-007, S-008 y S-010.

El material fue acondicionado en cajas térmicas con geles refrigerantes para mantener la temperatura hasta la llegada a los laboratorios. Los Ítems de Ensayo del presente interlaboratorio fueron recogidos por los participantes en las instalaciones del SANIPES - Sede Callao, el 27 de junio del 2022, las instrucciones del interlaboratorio y los acuerdos con los participantes fueron entregadas junto con los Ítems de Ensayo.



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
 “Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”
 “Año del Bicentenario del Congreso de la República del Perú”

NOTA 1: CEA-SANIPES no se responsabilizó por la estabilidad y homogeneidad de los Ítems de Ensayo, si estos se analizan fuera del tiempo establecido en las instrucciones.

4.5. [] Resultados esperados

Tabla N°01. Resultados esperados

Ensayo	(*)Valor orientativo del laboratorio de Referencia – CEA SANIPES (Log10) UFC/g	Contenido
Enumeración de <i>Staphylococcus</i> coagulasa positivo	7.098	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923

(*)El valor orientativo que establece la Coordinación de Ensayos de Aptitud proviene de los datos de la homogeneidad.

5. Análisis Estadístico

El objetivo del tratamiento estadístico es obtener un resultado simple y transparente, de fácil comprensión para los laboratorios participantes, realizándose los siguientes pasos:

a. Eliminación previa de laboratorios

Se realiza una eliminación de laboratorios que proporcionan resultados que no cumplen las instrucciones solicitadas, y de aquellos que informan resultados no numéricos o en diferentes unidades de reporte.

No se reportaron resultados no numéricos o en diferentes unidades de reporte.

b. Conversión logarítmica

Para recuentos cuantitativos microbiológicos, es necesario una conversión logarítmica (log10) de los resultados, permitiendo con ello, obtener una distribución normal de resultados.



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”
“Año del Bicentenario del Congreso de la República del Perú”

Para los resultados “0” se considera “1” para poder obtener un valor de “0” en escala logarítmica y poder así hacer el tratamiento estadístico y luego calcular la media (X) y desviación estándar (S) para cada laboratorio.

c. Eliminación de resultados incongruentes

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 50% del valor de la mediana de la totalidad de los resultados.
- Eliminación de resultados por aplicación del **test estadístico de Cochran** para detectar laboratorios que presentan una variabilidad intra-laboratorio significativamente mayor que el resto de laboratorios.
- Eliminación de resultados por aplicación del **test de la función de densidad de Kernel** para asegurar así la distribución normal de los resultados, así como la Verificación de la simetría unimodal,

No se detectaron resultados incongruentes.

d. 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 13528), y la cual debe estar relacionada al valor asignado por el laboratorio de referencia (CEA-SANIPES), al ítem de ensayo respecto a las pruebas de homogeneidad y estabilidad del ítem de ensayo.

En este interlaboratorio el **valor asignado (X) = 7.193**



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
 “Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”
 “Año del Bicentenario del Congreso de la República del Perú”

e. **Desviación estándar “diana” o adecuada al fin pretendido (σ_{pt})**

La desviación estándar “diana” define la escala de variación aceptable entre los laboratorios para cada ensayo.

Para el cálculo de este valor se usó, valor de $\sigma_{pt} = 0.430$

f. **Incertidumbre del valor asignado**

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

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

Donde:

μ_x : Incertidumbre del valor asignado

S^* : Desviación estándar robusta

n : Número de laboratorios.

g. **Verificación de los resultados del proceso estadístico:**

-Relación entre la desviación robusta S^* y la desviación estándar diana (σ_{pt})

$$S^* < 1.2\sigma_{pt}$$

En este interlaboratorio se cumple este criterio.

-Relación entre la incertidumbre $\mu(X_{pt})$ y la desviación estándar diana (σ_{pt})

$$\mu(X_{pt})^2 / \sigma_{pt}^2 < 0.1$$

En este interlaboratorio se cumple este criterio.

h. **Criterios y Evaluación del desempeño**

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



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
 “Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”
 “Año del Bicentenario del Congreso de la República del Perú”

$$Z = \frac{x - X}{\sigma_{pt}}$$

Dónde:

x = Valor medio de los resultados de un laboratorio

X = Valor asignado

σ_{pt} = 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). Los valores de las Z se interpretan del modo siguiente:

Tabla N°02. Interpretación de los valores Z

z-score	Clasificación
$ Z \leq 2.000$	Satisfactorio (S)
$2.000 < Z < 3.000$	Cuestionable (C)
$ Z \geq 3.000$	Insatisfactorio (I)

6. Resultados

Los resultados de los participantes fueron reportados a través del correo interlaboratorios@sanipes.gob.pe, teniendo como fecha máxima de recepción el 07 de julio de 2022, éstos se presentan en la Tabla N°03.



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
 “Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”
 “Año del Bicentenario del Congreso de la República del Perú”

Tabla N°03. Resultados individuales de los participantes en la prueba de “Enumeración de *Staphylococcus coagulasa positivo*”, en matriz “concha de abanico” congelada para todos los participantes.

Enumeración de <i>Staphylococcus coagulasa positivo</i>											
Código	Expresión: (UFC/g)			Log X ₁	Log X ₂	Log X ₃	X	S	INTERVALO		Z-SCORE
	X1	X2	X3								
S-001	9500000	11000000	11000000	6.978	7.041	7.041	7.020	0.037	6.983	7.057	-0.403
S-003	47000000	44000000	40000000	7.672	7.643	7.602	7.639	0.035	7.604	7.674	1.037
S-004	14000000	15000000	13000000	7.146	7.176	7.114	7.145	0.031	7.114	7.176	-0.112
S-005	13000000	14000000	14000000	7.114	7.146	7.146	7.135	0.019	7.117	7.154	-0.135
S-006	13000000	15000000	16000000	7.114	7.176	7.204	7.165	0.046	7.119	7.211	-0.067
S-007	12000000	12000000	13000000	7.079	7.079	7.114	7.091	0.020	7.071	7.111	-0.239
S-008	17000000	15000000	19000000	7.230	7.176	7.279	7.228	0.051	7.177	7.280	0.081
S-010	24000000	22000000	23000000	7.380	7.342	7.362	7.361	0.019	7.343	7.380	0.391

Evaluación cuantitativa Satisfactoria: $|Z| \leq 2.00$

Evaluación cuantitativa Cuestionable: $2.00 < |Z| < 3.00$

Evaluación cuantitativa Insatisfactoria: $|Z| \geq 3.00$



Datos Estadísticos

N° LABS	8
Valor asignado (X*)	7.193
SD robusta (S*)	0.148
SD diana (σ_{pt})	0.430
Incertidumbre del valor asignado (μ_x)	0.064



PERÚ

Ministerio
de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de
Sanidad Pesquera

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”
“Año del Bicentenario del Congreso de la República del Perú”

7. Comentarios

Participaron 8 laboratorios, acreditados en la Norma NTP ISO/IEC 17025:2017 y autorizados por SANIPES.

De los resultados reportados por los laboratorios participantes, obtuvieron un rendimiento satisfactorio 8/8 (100.0%), en el interlaboratorio para la “Enumeración de *Staphylococcus* coagulasa positivo”, en matriz “concha de abanico” congelada 2022-IV.

Esta prueba interlaboratorio para efectos de auditorías sanitarias no reemplaza los ensayos de aptitud que debe realizar el participante en cumplimiento de las directrices de su ente acreditador.

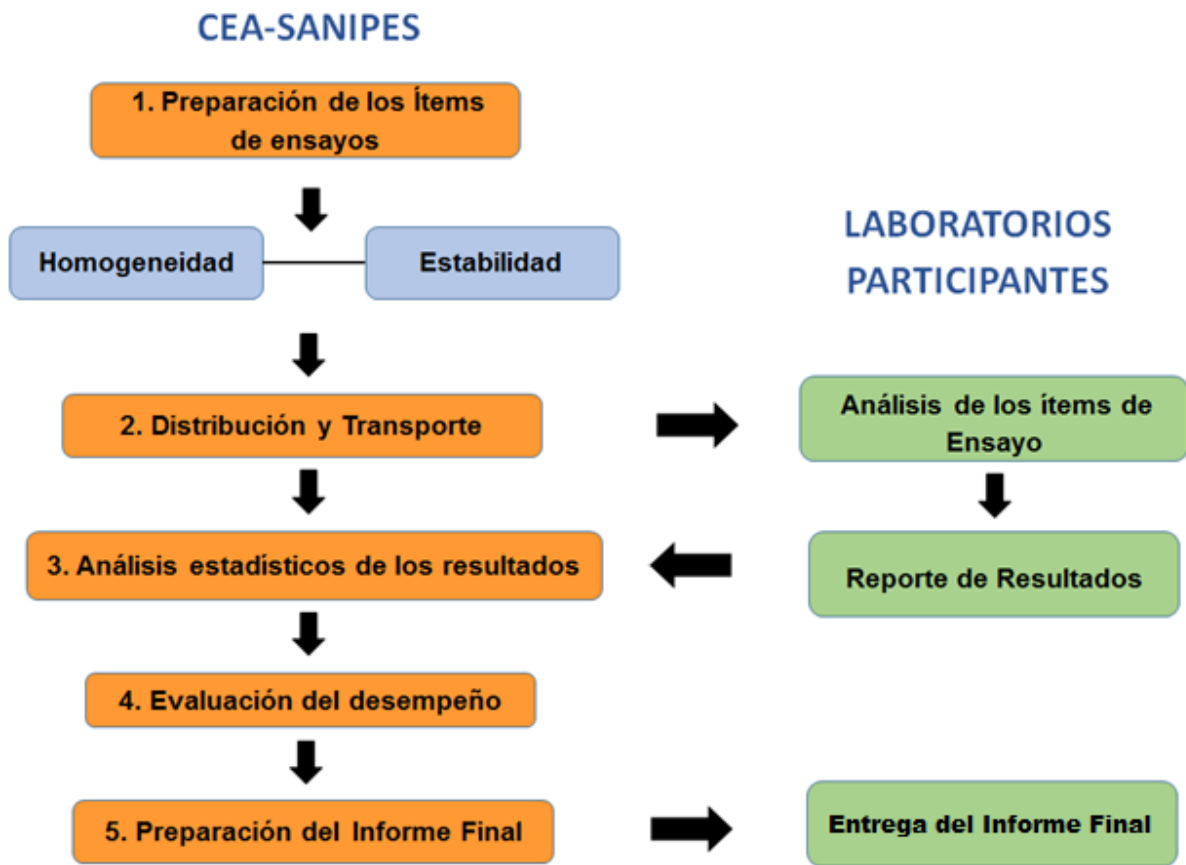


“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional”
“Año del Bicentenario del Congreso de la República del Perú”

8. Anexos

Anexo 1

Diseño del Ensayo de Aptitud “Enumeración de *Staphylococcus coagulasa* positivo”



-----Fin del documento-----