

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la Universalización de la Salud”

ORGANISMO NACIONAL DE SANIDAD PESQUERA Y ACUÍCOLA
COORDINACIÓN DE ENSAYOS DE APTITUD-SANIPES
PROGRAMA INTERLABORATORIO
“DETECCIÓN DE *SALMONELLA SPP*”
INFORME FINAL 2020-I

Fecha de emisión: 2020/03/02

Datos de Contacto

Proveedor: Coordinación de Ensayos de Aptitud – SANIPES

Persona de Contacto: Coordinador de Pruebas de Proficiencia

Correo electrónico: Interlaboratorios@sanipes.gob.pe

Tel: (511) 213-8570 Anexo 7134.

Web: www.sanipes.gob.pe

Autorizado por:


Abg. Mercedes Govea Requena

Directora

**Dirección Sanitaria y de Normatividad
Pesquera y Acuícola**

Revisado por:


Blgo. Christian Miguel Rebatta Quintanilla
Coordinador de Pruebas de Proficiencia
Dirección Sanitaria y de Normatividad
Pesquera y Acuícola

Página 1 de 13



PERÚ

Ministerio
de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de
Sanidad Pesquera

"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"
"Año de la Universalización de la Salud"

DATOS DEL EQUIPO TÉCNICO:

Colaborador	Formación	Función	Firma
Christian Rebatta Quintanilla	Biólogo	Coordinador de Pruebas de Proficiencia	
Eduard Manuel Villalobos Infante	Biólogo Microbiólogo	Especialista de Pruebas Interlaboratorios	



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la Universalización de la Salud”

INDICE

1.	Introducción	4
2.	Declaración de Confidencialidad	5
3.	Procedimiento	5
4.	Ítem de Ensayo	5
4.1	Preparación de los ítems de ensayo	5
4.2	Homogeneidad	6
4.3	Estabilidad	8
4.4	Distribución y Transporte	10
4.5	Contenido de los Ítem de Ensayo o Resultados Esperados	10
5.	Análisis Estadístico	10
6.	Resultados	11
7.	Comentarios	12
8.	Anexos	13



PERÚ

Ministerio
de la Producción



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la Universalización de la Salud”

1. Introducción

El Organismo Nacional de Sanidad Pesquera-SANIPES implementa, a través de la Dirección Sanitaria y de Normatividad Pesquera y Acuícola, el Programa de Ensayos Interlaboratorios dirigidos a las Entidades de Ensayo autorizadas y previamente acreditadas por el INACAL, las cuales participan en el Control y Certificación Oficial Sanitaria del 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.

Las Pruebas 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 o extranjero, así como a las autoridades sanitarias extranjeras.

El SANIPES, continuando con su programa de Interlaboratorios, organizó la prueba Detección de *Salmonella spp.*, ensayo usado en la Certificación Oficial Sanitaria del sector pesquero y acuícola y en algunos requisitos sanitarios de productos hidrobiológicos.

Salmonella spp., es introducido al ecosistema marino como resultado de la contaminación por descargas domésticas, pudiendo ser transmitidos al hombre a través de alimentos preparados con especies marinas, especialmente moluscos filtradores, así como peces y crustáceos, los cuales son capaces de producir enfermedades gastrointestinales, calificada por la OMS como el principal causante de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA) y de mayor distribución.

Para el desarrollo del Interlaboratorio de *Salmonella spp.*, se emplearon cepas de interés tales como *Salmonella entérica, subespecie entérica serovariedad Typhi (Salmonella Typhi)* NCTC 10787, *Salmonella enterica subsp. diarizonae* ATCC 29934 y *Salmonella enterica subsp. entérica serovar Choleraesuis* ATCC 10708. 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" y la NTP ISO/IEC 17025:2006 "Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración". 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 interlaboratorios, 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



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la Universalización de la Salud”

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 Detección de *Salmonella spp*, desarrollado por la Coordinación de Ensayos de Aptitud de SANIPES en referencia de la ISO/IEC 17043:2010.

2. Declaración de Confidencialidad

Los participantes del ensayo interlaboratorio “Detección de *Salmonella spp*”, recibieron un código para su identificación, el cual es únicamente de conocimiento para las personas involucradas en la ejecución del interlaboratorio, de conformidad a la política del SANIPES de mantener la confidencialidad en los resultados obtenidos, en marco del cumplimiento de la norma ISO/IEC 17043:2010.

Los resultados del ensayo interlaboratorio serán comunicados a los participantes mediante correo electrónico u oficio. Si los resultados fueran no satisfactorios y/o cuestionables, se informará al participante, y se procederá a una posterior comunicación al área de Auditorías Sanitarias para que se realice el seguimiento según los procedimientos competentes vigentes.

Para efectos de este interlaboratorio, se realizará otra ronda para los laboratorios que hayan obtenidos resultados no satisfactorios y/o cuestionables, esperando que se hayan identificado y corregido los causales.

3. Procedimiento

La información sobre el diseño del Ensayo de Aptitud “Detección de *Salmonella spp*”, se encuentra detallado en el Anexo 01.

4. Ítems de ensayo

4.1. Preparación de los ítems de ensayo

Los ítems de ensayo de este interlaboratorio fueron preparados 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.



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la Universalización de la Salud”

Matriz

Se distribuyó 20 gramos de pescado congelado (“Perico”: *Coryphaena hippurus*) en bolsas estériles debidamente selladas en condiciones asépticas. Se verificó previamente a la distribución, que el mecanismo de sellado prevenga la contaminación y que la matriz no contenga los microorganismos de interés de esta ronda.

Material Liofilizado

Para la preparación del ítem de ensayo se utilizaron como microorganismos de interés con Lote 01 de fecha 2020/01/18, cultivo liofilizado de *Salmonella entérica, subespecie entérica serovariedad Typhi (Salmonella Typhi)* NCTC 10787, *Salmonella enterica subsp. diarizonae* ATCC 29934 y *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraesuis* ATCC 10708, para su conservación y distribución.

4.2. Homogeneidad

De cada lote preparado se seleccionaron aleatoriamente 10 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 determinó la presencia y ausencia del microorganismo inoculado mediante el método ISO 6579-1:2017 - Método horizontal para la detección de *Salmonella* spp. Parte 1: Detección de *Salmonella* spp.

Para el análisis de homogeneidad, se utilizó ítems de ensayos seleccionados al azar del lote preparado y considerado homogéneo cuando presentaron el 100 % de resultados previstos, conforme a su preparación (Tabla N°08: Fórmula para calcular % coincidencia).

El resultado de los análisis de homogeneidad, con su validación estadística, se presenta en las Tablas N° 01, 02 y 03, demostrándose que los ítems de ensayo presentaron una homogeneidad apropiada para ser utilizados en la prueba interlaboratorio.

4.2.1 Homogeneidad de la muestra *Salmonella typhi* NCTC 10787



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la Universalización de la Salud”

Tabla N°01. Resultados de la homogeneidad de la muestra (Presencia/Ausencia)

<i>Salmonella entérica, subespecie entérica serovariedad Typhi (Salmonella Typhi) NCTC 10787</i>				
N.º de Ítems de ensayo	Resultado 1		Resultado 2	
	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
R1	Presencia	-	Presencia	-
R2	Presencia	-	Presencia	-
R3	Presencia	-	Presencia	-
R4	Presencia	-	Presencia	-
R5	Presencia	-	Presencia	-
R6	Presencia	-	Presencia	-
R7	Presencia	-	Presencia	-
R8	Presencia	-	Presencia	-
R9	Presencia	-	Presencia	-
R10	Presencia	-	Presencia	-

R = Replica del ítems de ensayo

Resultado obtenido: **100%** de las muestras presencia de *Salmonella Typhi* NCTC 10787
Homogeneidad: **Aprobada**

4.2.2 Homogeneidad de la muestra *Salmonella diarizonae* ATCC 29934

Tabla N°02. Resultados de la homogeneidad de la muestra (Presencia/Ausencia)

<i>Salmonella enterica subsp. diarizonae</i> ATCC 29934				
Nº de Ítems de ensayo	Resultado 1		Resultado 2	
	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
R1	Presencia	-	Presencia	-
R2	Presencia	-	Presencia	-
R3	Presencia	-	Presencia	-
R4	Presencia	-	Presencia	-
R5	Presencia	-	Presencia	-
R6	Presencia	-	Presencia	-
R7	Presencia	-	Presencia	-
R8	Presencia	-	Presencia	-
R9	Presencia	-	Presencia	-
R10	Presencia	-	Presencia	-

R = Replica del ítems de ensayo

Resultado obtenido: **100%** de las muestras presencia de *Salmonella diarizonae* ATCC 29934.
Homogeneidad: **Aprobada**

"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"
"Año de la Universalización de la Salud"

4.2.3 Homogeneidad de la muestra *Salmonella choleraesuis* ATCC 10708

Tabla N°03. Resultados de la homogeneidad de la muestra (Presencia/Ausencia)

N° de Ítems de ensayo	Resultado 1		Resultado 2	
	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
R1	Presencia	-	Presencia	-
R2	Presencia	-	Presencia	-
R3	Presencia	-	Presencia	-
R4	Presencia	-	Presencia	-
R5	Presencia	-	Presencia	-
R6	Presencia	-	Presencia	-
R7	Presencia	-	Presencia	-
R8	Presencia	-	Presencia	-
R9	Presencia	-	Presencia	-
R10	Presencia	-	Presencia	-

R = Replica del ítems de ensayo

Resultado obtenido: **100%** de las muestras presencia de *Salmonella choleraesuis*.
Homogeneidad: **Aprobada**

4.3. Estabilidad

Los estudios de estabilidad de los ítems de ensayo enviados fueron desarrollados con la metodología ISO 6579-1:2017 - Método horizontal para la detección de *Salmonella* spp. Parte 1: Detección de *Salmonella* spp, durante el periodo establecido, a fin 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 del lote preparado (ISO 13528: 2015) y se evaluó su estabilidad durante 3 periodos de tiempo diferentes (dentro del plazo de ensayo establecido).

Al respecto, se debe indicar que el lote de material se considera estable cuando el 100% de los ítems de ensayo presentan los resultados previstos según la preparación (Tabla N°08: Fórmula para calcular % coincidencia).

Los resultados de análisis de estabilidad presentados en las Tablas N°04,05 y 06, demuestran que los ítems de ensayo son lo suficientemente estables para el propósito de este interlaboratorio.

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la Universalización de la Salud”

4.3.1 Resultados de la prueba de estabilidad de la muestra

Tabla N°04. Resultados de la estabilidad de la muestra (*Salmonella typhi*)

<i>Salmonella entérica, subespecie entérica serovariedad Typhi (Salmonella typhi) NCTC 10787</i>				
Tiempo	Resultado 1		Resultado 2	
	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
2020/01/20	Presencia	-	Presencia	-
2020/01/27	Presencia	-	Presencia	-
2020/01/30	Presencia	-	Presencia	-

Resultado obtenido: **100%** de las muestras presencia de *Salmonella typhi*.

Estabilidad: **Aprobada**

Tabla N°05. Resultados de la estabilidad de la muestra (*Salmonella diarizonae*)

<i>Salmonella enterica subsp. diarizonae ATCC 29934</i>				
Tiempo	Resultado 1		Resultado 2	
	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
2020/01/20	Presencia	-	Presencia	-
2020/01/27	Presencia	-	Presencia	-
2020/01/30	Presencia	-	Presencia	-

Resultado obtenido: **100%** de las muestras presencia de *Salmonella diarizonae*

Estabilidad: **Aprobada**

Tabla N°06. Resultados de la estabilidad de la muestra (*Salmonella choleraesuis*)

<i>Salmonella enterica subsp. Entérica serovar Choleraesuis ATCC 10708</i>				
Tiempo	Resultado 1		Resultado 2	
	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
2020/01/20	Presencia	-	Presencia	-
2020/01/27	Presencia	-	Presencia	-
2020/01/30	Presencia	-	Presencia	-

Resultado obtenido: **100%** de las muestras presencia de *Salmonella choleraesuis*

Estabilidad: **Aprobada**

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la Universalización de la Salud”

4.4. Distribución y Transporte

Para la detección de *Salmonella* spp, cada laboratorio participante recibió 3 bolsas conteniendo 20 g de matriz pescado congelado (c/u) y 3 viales con Liofilizado para la fortificación de la matriz, ambos sellados e identificado con etiquetas impermeables.

Los laboratorios participantes fueron codificados según los Códigos: S-001, S-002, S-010, S-012, y S-014

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 20 de enero del 2020, las instrucciones del interlaboratorio fueron entregadas junto con los ítems de ensayo.

NOTA 1: Coordinación de Ensayo de Aptitud (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. Contenido de los ítems de ensayo o resultados esperados

Tabla N°07. Resultados esperados

Código de los ítems de ensayo	Resultado esperado	Microorganismos de Interés
M-1	Presencia	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>diarizonae</i> ATCC 29934
M-2	Presencia	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>Entérica</i> serovar <i>Choleraesuis</i> ATCC 10708
M-3	Presencia	<i>Salmonella</i> entérica, subespecie entérica serovariedad <i>Typhi</i> (<i>Salmonella typhi</i>) NCTC 10787

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la Universalización de la Salud”

5. Análisis Estadístico

El objetivo del tratamiento estadístico es obtener un resultado simple y transparente, de fácil comprensión para los laboratorios participantes; la evaluación cualitativa se realiza en base al reporte de falsos positivos, falsos negativos o resultados correctos.

Criterios y Evaluación del desempeño

Para el análisis estadístico de la prueba interlaboratorio cualitativa (presencia/ausencia) de *Salmonella* spp, se calculó el porcentaje de coincidencia (Tabla N°08). Un resultado es clasificado como satisfactorio si el porcentaje de coincidencia es igual a 100 %; no permitiendo resultados falsos positivos o falsos negativos.

Tabla N°08. Cálculo de porcentaje de coincidencia

Resultado reportado	Resultado esperado	
	Presencia	Ausencia
Presencia	Verdadero positivo (VP)	Falso Positivo (FP)
Ausencia	Falso negativo (FN)	Verdadero Negativo (VN)

$$\% \text{ Coincidencia} = \frac{VN + VP}{VP + FP + FN + VN} \times 100$$

6. Resultados

Los resultados de los participantes fueron reportados a través del correo interlaboratorios@sanipes.gob.pe, teniendo como fecha máxima de recepción el 30 de enero de 2020, estos se presentan en la Tabla N°09 y tabla N°10

Tabla N°09. Resultados cualitativos individuales de los participantes de Detección de *Salmonella* spp, en matriz pescado congelado para todos los participantes.

Código de participante	Ítem de ensayo	Método	Resultado cualitativo esperado	Resultado del participante	Desempeño (% coincidencia)	EVALUACIÓN CUALITATIVA
S-001	M-1	ISO 6579-1:2017. First Edition (Excepto ítem 9.3.3; 9.4.3 y Annex D) Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration	Presencia	Presencia	100	Satisfactorio
	M-2		Presencia	Presencia		



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la Universalización de la Salud”

	M-3	and serotyping of Salmonella - Part 1: Detection of Salmonella spp.	Presencia	Presencia		
S-002	M-1	ISO 6579-1.201, Excepto Ítem 9.3.3, 9.4.3 y 9.5.6 (NAC)	Presencia	Presencia	100	Satisfactorio
	M-2		Presencia	Presencia		
	M-3		Presencia	Presencia		
S-010	M-1	ISO 6579-1:2017	Presencia	Presencia	100	Satisfactorio
	M-2		Presencia	Presencia		
	M-3		Presencia	Presencia		
S-012	M-1	ISO 6579-1 (2017) First Edition. Excepto Annex D. Part. I. Detection of Salmonella Spp.	Presencia	Presencia	100	Satisfactorio
	M-2		Presencia	Presencia		
	M-3		Presencia	Presencia		
S-014	M-1	ICMSF Microorganismos de los Alimentos. Su significado y métodos de enumeración. Pág. 172-176 Ítem 10: (a) y (c), 177 II – 178 III, 2da Ed. Reimpresión 2000. 1983.	Presencia	Presencia	100	Satisfactorio
	M-2		Presencia	Presencia		
	M-3		Presencia	Presencia		

Resultado obtenido: 5/5 participantes con una coincidencia del 100%, en la prueba en Detección de *Salmonella* spp.
Prueba de detección: 100 % Satisfactorio

Tabla N°10. Resumen de resultados

Prueba	Resultados reportados	Resultados correctos	Resultados errados	Porcentaje de coincidencia
Detección de <i>Salmonella</i> spp.	15	15	0	100.0 %

7. Comentarios

Participaron 5 laboratorios autorizados como Entidades de Apoyo de SANIPES, acreditados en la Norma NTP ISO/IEC 17025:2006 o NTP ISO/IEC 17025:2017, los cuales utilizaron los siguientes métodos: ISO 6579-1:2017. First Edition (Excepto ítem 9.3.3; 9.4.3 y Annex D) Microbiology of the food chain - Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of Salmonella - Part 1: Detection of Salmonella spp.; ISO 6579-1.201, Excepto Ítem 9.3.3, 9.4.3 y 9.5.6 (NAC); ISO 6579-1:2017; ISO 6579-1:2017; ICMSF Microorganismos de los Alimentos. Su significado y métodos de enumeración. Pág. 172-176 Ítem 10: (a) y (c), 177 II – 178 III, 2da Ed. Reimpresión 2000. 1983.

De los resultados reportados por los laboratorios participantes, obtuvieron un rendimiento satisfactorio 5/5 (100.0%), en el interlaboratorio para la Detección de *Salmonella* spp. 2020- I.

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la Universalización de la Salud”

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.

8. Anexos

Anexo 1

Diseño del Ensayo de Aptitud “Detección de *Salmonella* spp”



