

ORGANISMO NACIONAL DE SANIDAD PESQUERA Y ACUÍCOLA
COORDINACIÓN DE ENSAYOS DE APTITUD-SANIPES
PROGRAMA INTERLABORATORIO 2022
“NUMERACIÓN DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESÓFILOS
VIABLES”
INFORME FINAL 2022-III

Fecha de emisión: 2022/04/29

Datos de Contacto

Proveedor: Coordinación de Ensayos de Aptitud – SANIPES

Persona de Contacto: Coordinador de Ensayos de Aptitud

Correo electrónico: Interlaboratorios@sanipes.gob.pe

Teléfono: (511) 213-8570

Web: www.sanipes.gob.pe

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)

DATOS DEL EQUIPO TÉCNICO:

<u>Nombre</u>	<u>Formación</u>	<u>Cargo</u>	<u>Firma</u>
Eduard Manuel Villalobos Infante	Biólogo Microbiólogo	Coordinador General de Ensayos de Aptitud	

Christian Miguel Rebatta Quintanilla	Biólogo	Responsable Técnico de Ensayos de Aptitud	
--------------------------------------	---------	---	--

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

INDICE

1.	Introducción.....	4
2.	Declaración de Confidencialidad e Imparcialidad	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	7
4.4	Distribución y Transporte	7
4.5	Contenido de los Ítem de Ensayo o Resultados Esperados.....	8
5.	Análisis Estadístico	8
6.	Resultados	11
7.	Comentarios.....	12
8.	Anexos	13

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, dando inicio a su programa de Interlaboratorios 2022, organizó la prueba de Numeración de microorganismos aerobios mesófilos viables, ensayo usado en la Certificación Sanitaria del sector pesquero y acuícola y en algunos requisitos sanitarios de productos hidrobiológicos.

Los microorganismos aerobios mesófilos son un grupo heterogéneo de microorganismos, capaces de desarrollarse en presencia de oxígeno a una temperatura comprendida entre 29°C a 36°C. Su presencia en alimentos refleja la calidad sanitaria del alimento (indicador microbiológico) y las condiciones a los que estuvo expuesto durante su manipulación y elaboración. Un recuento elevado de estos microorganismos puede significar; excesiva contaminación de la materia prima, deficiente manipulación durante el proceso de elaboración, posibilidad de presencia de microorganismos patógenos y alteración del alimento.

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 “Numeración de microorganismos aerobios mesófilos viables”, 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 “Numeración de microorganismos aerobios mesófilos viables”, 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.

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 “Numeración de microorganismos aerobios mesófilos viables”, 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.

Matriz

Se distribuyó 20 gramos de Pota precocida (*Dosidicus gigas*), 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 utilizaron como microorganismos de interés:

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

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 “Numeración de Aerobios mesófilos viables”, usando el método FDA/BAM Online 8th Ed. Rev. A/1998. January 2001 - Chapter 3. Aerobic Plate Count. Conventional Plate Count Method.

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=0.757** posteriormente se realizó el test de comparación de medias según la ISO 13528 (Desviación estándar de la “diana” (σ_{pt}) = **0.450**).

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

Resultado de la Homogeneidad **$S_s=0.133$, conforme**

4.3. Estabilidad

Los estudios de estabilidad de los Ítems de Ensayo enviados fueron desarrollados con la metodología “Numeración de Aerobios mesófilos viables”, usando el método FDA/BAM Online 8th Ed. Rev. A/1998. January 2001 - Chapter 3. Aerobic Plate Count. Conventional Plate Count Method, durante el periodo de ensayo 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 de los lotes preparados (ISO 13528: 2015) y se evaluó su estabilidad durante 3 periodos de tiempo diferentes (dentro del plazo de ensayo establecido).

Los datos fueron evaluados mediante un análisis de varianza (ANOVA) p-valor=0.312, respecto a los datos de homogeneidad. Se realizó el test de comparación de medias según la ISO 13528 (Desviación estándar de la “diana” (σ_{pt}) = 0.450).

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

Resultado de la estabilidad: **Conforme**

- **Primera evaluación:** $0.020 < 0.135$
- **Segunda evaluación:** $0.115 < 0.135$
- **Tercera evaluación:** $0.045 < 0.135$

4.4. Distribución y Transporte

Para la “Numeración de Aerobios mesófilos viables”, cada laboratorio participante recibió una (1) bolsa de plástico sellada conteniendo 20 gramos de muestra (Pota precocida) 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-002, S-003, S-004, S-005, S-006, S-007, S-008, S-009 y S-011.

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 30 de

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

marzo del 2022, las instrucciones del interlaboratorio y los acuerdos con los participantes fueron entregadas junto con los Ítems de Ensayo.

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. Contenido de los Ítems de Ensayo o resultados esperados

Tabla N°01. Resultados esperados

Identificación	(*)Valor orientativo del laboratorio de Referencia – CEA SANIPES (Log10) UFC/g	Microorganismo aerobio mesófilo
Numeración de Aerobios mesófilos viables CEA-SANIPES 2022-III	7.562	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923

(*)El valor orientativo que establece la organización 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.

(Para los resultados “0” se considera “1” para poner 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 elimina 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,

En este interlaboratorio 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) = 7.763**

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 la referencia SR de aerobios de la ISO 19036 e ISO 4833-1, valor: $\sigma_{pt} = 0.450$.

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 $u(X_{pt})$ y la desviación estándar diana (σ_{pt})

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

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:

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

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

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

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 11 de abril de 2022, éstos se presentan en la Tabla N°03.

Tabla N°03. Resultados individuales de los participantes en la prueba de “Numeración de Aerobios mesófilos viables”, en matriz Pota precocida para todos los participantes.

Numeración de Aerobios mesófilos viables											
Código	Expresión: (ufc/g)			Log X ₁	Log X ₂	Log X ₃	X	S	INTERVALO		Z-SCORE
	X1	X2	X3								
S-001	98000000	88000000	86000000	7.991	7.944	7.934	7.957	0.030	7.926	7.987	0.431
S-002	14000000	14000000	14000000	7.146	7.146	7.146	7.146	0.000	7.146	7.146	-1.370
S-003	76000000	80000000	84000000	7.881	7.903	7.924	7.903	0.022	7.881	7.924	0.311
S-004	66000000	63000000	64000000	7.820	7.799	7.806	7.808	0.010	7.798	7.819	0.102
S-005	57000000	60000000	61000000	7.756	7.778	7.785	7.773	0.015	7.758	7.788	0.023
S-006	78000000	79000000	89000000	7.892	7.898	7.949	7.913	0.032	7.881	7.945	0.334
S-007	42000000	40000000	42000000	7.623	7.602	7.623	7.616	0.012	7.604	7.628	-0.325
S-008	75000000	80000000	82000000	7.875	7.903	7.914	7.897	0.020	7.877	7.917	0.299
S-009	65000000	64000000	68000000	7.813	7.806	7.833	7.817	0.014	7.804	7.831	0.121
S-011	16000000	15000000	18000000	7.204	7.176	7.255	7.212	0.040	7.172	7.252	-1.224

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	10
Valor asignado (X^*)	7.763
SD robusta (S^*)	0.205
SD diana (σ_{pt})	0.450
Incertidumbre (μ)	0.065

7. Comentarios

Participaron 10 laboratorios, acreditados en la Norma NTP ISO/IEC 17025:2017 y autorizados por SANIPES.

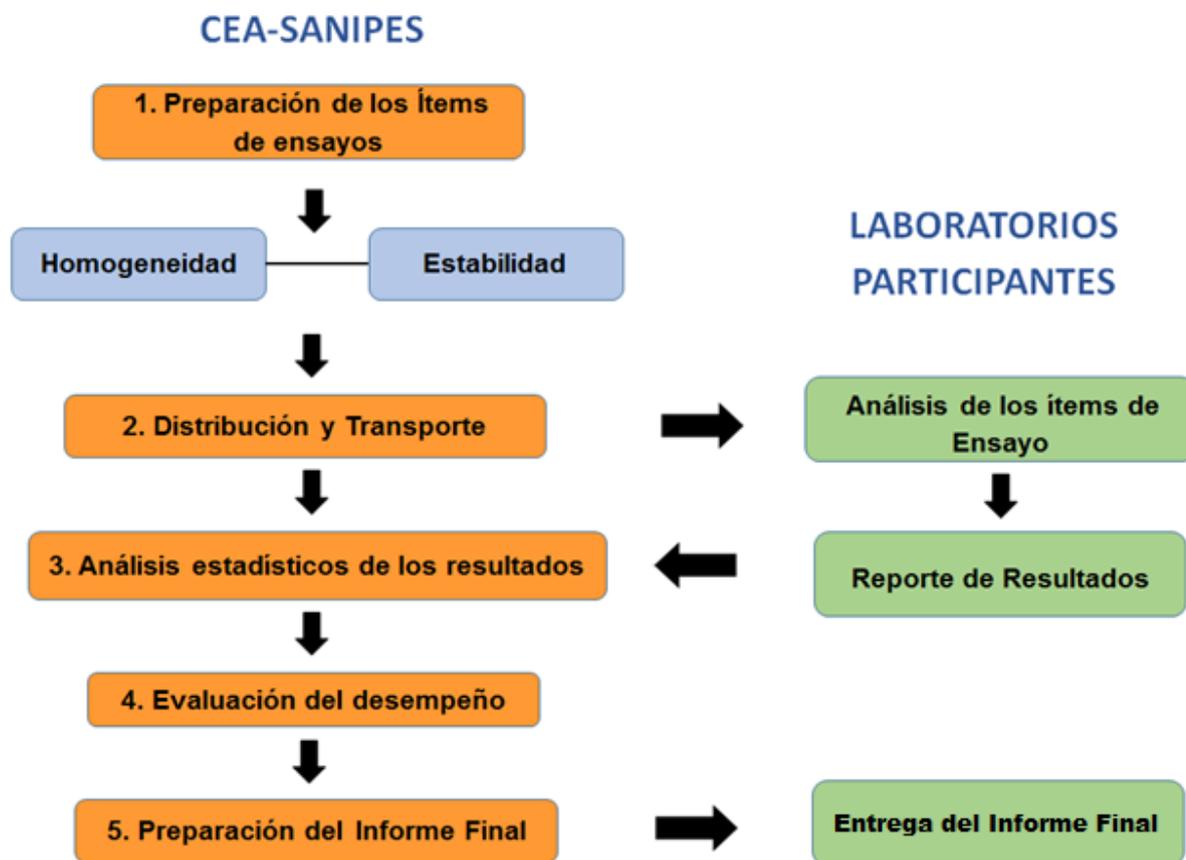
De los resultados reportados por los laboratorios participantes, obtuvieron un rendimiento satisfactorio 10/10 (100.0%), en el interlaboratorio para la “Numeración de Aerobios mesófilos viables”, en matriz pota precocida 2022-III.

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 “Numeración de Aerobios mesófilos viables”



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