

ORGANISMO NACIONAL DE SANIDAD PESQUERA Y ACUÍCOLA
COORDINACIÓN DE ENSAYOS DE APTITUD-SANIPES
PROGRAMA INTERLABORATORIO-2021
“RECUENTO DE HETEROTROFOS EN PLACA (UFC/mL)”
INFORME FINAL 2021-V

Fecha de emisión: 2021/11/19

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 Anexo 8008.

Web: www.sanipes.gob.pe

Autorizado por:

Revisado por:

Blgo-Acui. Juan Manuel Ipanaqué Zapata
Director
Dirección de Fiscalización Sanitaria (DFS)

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




BICENTENARIO
PERÚ 2021

Página 1 de 12

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
 “Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia”

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	



BICENTENARIO PERÚ 2021

Página 2 de 12

CEA-FT-04, Rev. 01

Domingo Orué N° 165, piso 7, Surquillo - Lima
 Av. Carretera a Ventanilla km 5.2 – Callao
www.sanipes.gob.pe

Fecha: 2020/12/30

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.....	6
4.4	Distribución y Transporte	7
4.5	Contenido de los Ítem de Ensayo o Resultados Esperados.....	8
5.	Análisis Estadístico	8
6.	Resultados	10
7.	Comentarios.....	11
8.	Anexos	12



1. Introducción

El Organismo Nacional de Sanidad Pesquera-SANIPES a través de la Dirección de Fiscalización Sanitaria (DFS), en el marco de su competencia y como parte de las actividades de fiscalización; implementa el Programa de Ensayos Interlaboratorios, dirigido a su Red de laboratorios participantes en el Control y Certificación Oficial Sanitaria del sector pesquero y acuícola; el programa permite evaluar los resultados de los ensayos realizados con matrices hidrobiológicas, y así demostrar la confiabilidad y competencia técnica de los laboratorios.

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 al programa de ensayos de aptitud 2021, organizó la prueba de Recuento de Heterótrofos en placa (UFC/mL), ensayo usado como parte de los controles sanitarios oficiales del programa de control de agua y hielo y en algunos requisitos sanitarios de productos hidrobiológicos.

Las bacterias heterótrofas están presentes en todos los cuerpos de agua y constituyen un grupo de bacterias ambientales de amplia distribución. El recuento de heterótrofos es un procedimiento útil para estimar el número de bacterias heterótrofas vivas en el agua antes, durante y después de su tratamiento de potabilización, siendo este un indicador sanitario de aguas que busca proteger la salud pública y prevenir enfermedades dado que recuentos elevados de bacterias heterótrofas pueden indicar un peligro para la salud pública.

Para el desarrollo del interlaboratorio de recuento de heterótrofos en placa (UFC/mL) se empleó la cepa: *Escherichia coli* NCTC 12241. 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 17025:2017 “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 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 “Recuento de Heterótrofos en placa (UFC/mL)”, 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 “Recuento de Heterótrofos en placa (UFC/mL)”, recibieron un código para su identificación, el cual es conocido únicamente por las personas involucradas en la ejecución del interlaboratorio, de conformidad a la política de la Coordinación de Ensayos de Aptitud – SANIPES, de mantener la confidencialidad en los resultados obtenidos, en el 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 y publicados en la página web institucional.

3. Procedimiento

La información sobre el diseño del Ensayo de Aptitud “Recuento de Heterótrofos en placa (UFC/mL)”, se encuentra detallada 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 envió 1 frasco plástico sellado conteniendo 490 mL de la matriz Agua no potable, debidamente cerrado y sellado dentro de una bolsa de plástico 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 utilizó como microorganismo de interés:

- Lote liofilizado 1921137 de fecha 2021-07-13, cultivo liofilizado de *Escherichia coli* NCTC 12241.

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

4.2. Homogeneidad

Del 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 realizó por duplicado el ensayo de “Recuento de Heterótrofos en placa (UFC/mL)”, SMEWW-APHA-AWWA-WEF - 23rd Ed. 2017. Heterotrophic Plate Count, Part 9215 B. Pour Plate Method.

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=0.79. Se realizó el test de comparación de medias según la ISO 13528 (Desviación estándar de la “diana” = 0.46)

Criterio de homogeneidad: $S_s \leq 0.3 \sigma_{pt}$; (valor $S_s=0.125$, $\sigma_{pt}=0.46$)

Resultado de la Homogeneidad: **Conforme**

4.3. Estabilidad

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 estudios de estabilidad de los Ítems de Ensayo enviados fueron desarrollados con la metodología SMEWW-APHA-AWWA-WEF - 23rd Ed. 2017. Heterotrophic Plate Count, Part 9215 B. Pour Plate 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.

Los datos fueron analizados mediante el análisis de varianza (ANOVA) p-valor=0.52, respecto a los datos de homogeneidad.

Se realizó el test de comparación de medias según la ISO 13528 (Desviación estándar de la “diana”= 0.46)

Criterio de estabilidad: **| Media de Homogeneidad- Media de estabilidad (día) | ≤ 0.3 opt**

- Primera evaluación: $0.037 < 0.138$
- Segunda evaluación: $0.017 < 0.138$
- Tercera evaluación: $0.085 < 0.138$

Resultado de la estabilidad: **Conforme**

4.4. Distribución y Transporte

Para el “Recuento de Heterótrofos en placa (UFC/mL)”, cada laboratorio participante recibió un (1) frasco plástico conteniendo 490 mL de la matriz Agua no potable 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-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 13 de septiembre del 2021, las instrucciones del interlaboratorio y los acuerdos con los participantes fueron entregadas junto con los Ítems de Ensayo.

NOTA 1: CEA-SANIPES no se responsabiliza por la estabilidad y homogeneidad de los Ítems de Ensayo, si éstos 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 de laboratorio de Referencia- CEA SANIPES (Log10) UFC/mL	Microorganismos de Interés
Recuento de Heterótrofos en placa (UFC/mL) CEA-SANIPES 2021-V	4.562	<i>Escherichia coli</i> NCTC 12241

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

El primer paso consiste en realizar 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.

b. Conversión logarítmica

La conversión logarítmica (log10) de los resultados, permite obtener una distribución de Gauss (normal) y realizar todos los cálculos estadísticos en escala logarítmica.

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

c. 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 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.



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).

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 cálculo de este valor se usó la referencia de otros organizadores de interlaboratorios.

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. 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).



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia”

Los valores de las Z se interpretan del modo siguiente:

$|z| \leq 2$ “Satisfactorio”

$2 < |z| < 3$ “Cuestionable”

$|z| \geq 3$ “Insatisfactorio”

6. Resultados

- Los resultados de los participantes fueron reportados a través del correo interlaboratorios@sanipes.gob.pe, teniendo como fecha máxima de recepción el 23 de septiembre de 2021, estos se presentan en la Tabla N°02.

Tabla N°02. Resultados individuales de los participantes en la prueba de “Recuento de Heterótrofos en placa (UFC/mL)”, en matriz Agua no potable para todos los participantes.

EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO DE LOS PARTICIPANTES									
Código Participante	(UFC/g)		Log X ₁	Log X ₂	X	S	INTERVALO		Z-SCORE
	X ₁	X ₂							
S-001	17000	17000	4.230	4.230	4.230	0.000	4.230	4.230	-0.2
S-002	26000	26000	4.415	4.415	4.415	0.000	4.415	4.415	0.2
S-003	350000	430000	5.544	5.633	5.589	0.063	5.526	5.652	2.7
S-004	13000	15000	4.114	4.176	4.145	0.044	4.101	4.189	-0.4
S-005	20000	20000	4.301	4.301	4.301	0.000	4.301	4.301	-0.1
S-006	23000	23000	4.362	4.362	4.362	0.000	4.362	4.362	0.1
S-007	18000	17000	4.255	4.230	4.243	0.018	4.225	4.260	-0.2
S-008	38000	37000	4.580	4.568	4.574	0.008	4.566	4.582	0.5
S-009	27000	26000	4.431	4.415	4.423	0.012	4.412	4.435	0.2
S-010	21000	23000	4.322	4.362	4.342	0.028	4.314	4.370	0.0

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

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

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

ELIMINADOS PARA EL CALULO DEL VALOR ASIGNADO

Test Mediana: **ninguno**

Test Cochran: **S-003**

Test Kernel: **ninguno**



BICENTENARIO
PERÚ 2021

Página 10 de 12

Datos Estadísticos:

Nº LABS	10
Valor asignado (X*)	4.33
SD robusta (S*)	0.13
SD diana (σ_{pt})	0.46
Incertidumbre (μ)	0.05

7. Comentarios

Participaron 10 laboratorios con sistema de gestión en la Norma NTP ISO/IEC 17025 y autorizados por SANIPES.

De los resultados reportados por los laboratorios participantes, obtuvieron un rendimiento satisfactorio 09/10 (90 %) y un rendimiento cuestionable 01/10 (10%), en el interlaboratorio de “Recuento de Heterótrofos en placa (UFC/mL)”, en matriz agua no potable. 2021- V.

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 “Recuento de Heterótrofos en placa (UFC/mL)”

