



PERÚ

Ministerio
de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de
Sanidad Pesquera

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

ORGANISMO NACIONAL DE SANIDAD PESQUERA
COORDINACIÓN DE ENSAYOS DE APTITUD - SANIPES
PROGRAMA DE ENSAYOS DE APTITUD 2023
“ENUMERACIÓN DE ESCHERICHIA COLI (NMP)”
INFORME FINAL 2023 - V

Fecha de emisión: 2023/11/27

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

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



ema 
ENSAYOS DE APTITUD
ACREDITADO PEA-ENS-18

Autorizado por:

Revisado por:

Ing. Adrián Ernesto Paredes Espinal

Director

Dirección de Fiscalización Sanitaria (DFS)

Blgo-Mblgo Eduard Manuel Villalobos Infante

Coordinador de Ensayos de Aptitud

Dirección de Fiscalización Sanitaria (DFS)

Página 1 de 14



CEA-FT-04, Rev. 03

Calle Amador Merino Reyna Nº 267 Piso 12 San Isidro - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2 - Callao
www.gob.pe/sanipes



Fecha: 2022/08/19



PERÚ

Ministerio
de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de
Sanidad Pesquera

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

DATOS DEL EQUIPO TÉCNICO:

Nombre	Formación	Cargo	Firma
Eduard Manuel Villalobos Infante	Biólogo Microbiólogo	Coordinador 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 de la unidad, la paz y el desarrollo”

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	6
4.3 Estabilidad	7
4.4 Distribución y Transporte.....	8
4.5 [] Resultados Esperados	8
5. Análisis Estadístico.....	9
6. Resultados.....	12
7. Comentarios	13
8. Anexos.....	14





PERÚ

Ministerio
de la Producción



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

1. Introducción

El Organismo Nacional de Sanidad Pesquera-SANIPES implementa, a través de la Dirección de Fiscalización Sanitaria (DFS), el Programa de Ensayos de aptitud dirigidos principalmente a las Entidades de Ensayo autorizadas por SANIPES, las cuales participan en la Certificación Sanitaria y los Controles Oficiales, 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 de Aptitud 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 ensayos de aptitud 2023, organizó la prueba de “Enumeración de *Escherichia coli* (NMP)”, ensayo usado como parte de los controles sanitarios oficiales del programa de control de agua y requisitos sanitarios de productos hidrobiológicos.

La cepa de *Escherichia coli* es una bacteria presente frecuentemente en el intestino distal de los organismos de sangre caliente. La mayoría de las cepas de *E. coli* son inocuas, pero algunas pueden causar graves intoxicaciones alimentarias como diarrea, infecciones urinarias, etc.

E. coli productora de toxina Shiga es una bacteria que puede causar graves enfermedades a través de los alimentos. El origen principal de los brotes de *E. coli* productora de toxina Shiga son los productos de carne picada cruda o poco cocinada, entre estos alimentos se encuentran los productos hidrobiológicos, los cuales, puede ser contaminado con este microorganismo a través de materia fecal, aunque en la mayoría de los casos remite espontáneamente, la enfermedad puede llegar a poner en peligro la vida. La presencia de esta bacteria o sus toxinas en alimentos procesados o en equipos de procesamiento de alimentos es generalmente un indicio de mala higiene.

Para el desarrollo del Ensayo de Aptitud de “Enumeración de *Escherichia coli* (NMP)”, se empleó la cepa de: *Escherichia coli* NCTC 12241. Este Ensayo de Aptitud 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”.



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

El diseño estadístico se realizó en el marco de la ISO 13528:2022 (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 de aptitud aseguraron que cada participante reciba ítems de ensayo comparables y estables durante el desarrollo del ensayo de aptitud.

El presente informe detalla la información sobre los resultados de los laboratorios participantes, la evaluación de los datos y su desempeño en el ensayo de aptitud para la Enumeración de *Escherichia coli* (NMP), desarrollado por la Coordinación de Ensayos de Aptitud (CEA) de SANIPES en referencia de la ISO/IEC 17043:2010, como Proveedor de Ensayos de Aptitud, desde el 18 de mayo del 2021 (N° de referencia: PEA-ENS-18), por la Entidad Mexicana de Acreditación-ema, siendo el alcance acreditado:

MATRIZ	PARAMETRO	SUBRAMA
Productos hidrobiológicos y sus derivados	Enumeración de <i>Escherichia coli</i> (NMP)	Microbiología

2. Declaración de Confidencialidad e Imparcialidad

Los participantes del ensayo de aptitud “Enumeración de *Escherichia coli* (NMP)”, 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.



PERÚ

Ministerio
de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de
Sanidad Pesquera

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

Los resultados del ensayo de aptitud 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 *Escherichia coli* (NMP)”, se encuentra detallado en el Anexo 01.

4. Ítem de Ensayo

4.1. Preparación de los Ítems de Ensayo

El Ítem de Ensayo de este ensayo de aptitud 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 una (01) bolsa de plástico selladas conteniendo 25 gramos de muestra concha de abanico (*Argopecten purpuratus*), debidamente cerrada y sellada 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 sea estéril.

Material Liofilizado

Para la preparación del material liofilizado se utilizó como microorganismos de interés:

- Lote liofilizado 19230510 de fecha 2023-10-05, cultivo liofilizado de *Escherichia coli* NCTC 12241.

Se envió un (01) 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: 2022.



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

Para validar la homogeneidad del Ítem de Ensayo se realizó por duplicado el ensayo de “Enumeración de *Escherichia coli* (NMP)”, ISO 16649-3:2015 COR 2016 - Microbiology of the food chain - Horizontal method for the numeration of beta glucuronidase-positive *Escherichia coli* - Part 3: Detection and most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-B-D-glucuronide.

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 el test de comparación de mediana, posteriormente un análisis de varianza (ANOVA) **p-valor=0,282**; según la ISO 13528:2022 (Desviación estándar de la “diana” (σ_{pt}) = **0,643**).

Criterio de homogeneidad: **$S_s \leq 0,3 \sigma_{pt}$**

Resultado de la Homogeneidad **$S_s=0,153$; conforme**

4.3. Estabilidad

Los estudios de estabilidad de los Ítems de Ensayo enviados fueron desarrollados con la metodología “Enumeración de *Escherichia coli* (NMP)”, ISO 16649-3:2015 COR 2016 - Microbiology of the food chain - Horizontal method for the numeration of beta glucuronidase-positive *Escherichia coli* - Part 3: Detection and most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-B-D-glucuronide, 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 de la muestra, durante el periodo de ejecución del Ensayo de Aptitud, se analizaron aleatoriamente del lote preparado 6 (seis) Ítems de Ensayo por duplicado a los 5, 10 y 15 días (Tiempo1, Tiempo2 y Tiempo3 respectivamente), de haber realizado el estudio de homogeneidad (ISO 13528: 2022).

Los datos fueron evaluados mediante un análisis de varianza (ANOVA) **p-valor = 0,929**; respecto a los datos de homogeneidad. Desviación estándar de la “diana” (σ_{pt}) = **0,643**;

Criterio de estabilidad: **$I \text{ Media de Homogeneidad-Media de estabilidad (día)} I \leq 0,3 \sigma_{pt}$**

Resultado de la estabilidad: **Conforme**



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

- **Primera evaluación:** 0,046 < 0,193
0,074 < 0,193
- **Segunda evaluación:** 0,113 < 0,193
0,027 < 0,193
- **Tercera evaluación:** 0,091 < 0,193
0,058 < 0,193

4.4. Distribución y Transporte

Para la “Enumeración de *Escherichia coli* (NMP)”, cada laboratorio participante recibió una (01) bolsa de plástico sellada conteniendo 25 gramos de la matriz concha de abanico y un (01) 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 y S-007.

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 ensayo de aptitud fueron recogidos por los participantes en las instalaciones del SANIPES - Sede Callao, el 25 de octubre del 2023, las instrucciones del ensayo de aptitud 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 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) NMP/g	Contenido
Enumeración de <i>Escherichia coli</i> (NMP)	2,632	<i>Escherichia coli</i> NCTC 12241

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



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

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 (\log_{10}) de los resultados, permitiendo con ello, obtener una distribución normal de resultados.

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 (\bar{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 estadístico de Cochran** para detectar laboratorios que presentan una variabilidad intralaboratorio significativamente mayor que el resto de laboratorios.
- 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 de la función de densidad de Kernel** para asegurar así la distribución normal de los resultados, así como la Verificación de la simetría unimodal,



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

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 13528:2022), 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 ensayo de aptitud el valor asignado (X) = 2,727

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 $\sigma_{pt} = 0,643$

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})

$$S^* < 1,2\sigma_{pt}$$



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

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:

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

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$	NO Satisfactorio (N)



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

6. Resultados

Los resultados de los participantes fueron reportados a través del correo interlaboratorios@sanipes.gob.pe, teniendo como fecha máxima de recepción el 09 de noviembre de 2023, éstos se presentan en la Tabla N° 03.

Tabla N° 03. Resultados individuales de los participantes en la prueba de “Enumeración de *Escherichia coli* (NMP)”, en matriz “concha de abanico” para todos los participantes.

Enumeración de <i>Escherichia coli</i>											
Código	Expresión: NMP/g			Log ₁₀ X ₁	Log ₁₀ X ₂	Log ₁₀ X ₃	X	S	INTERVALO		Z-SCORE
	X ₁	X ₂	X ₃								
S-001	460	460	1100	2,663	2,663	3,041	2,789	0,219	2,570	3,008	0,096
S-002	790	460	490	2,898	2,663	2,690	2,750	0,128	2,622	2,879	0,036
S-003	490	460	700	2,690	2,663	2,845	2,733	0,098	2,634	2,831	0,009
S-004	78	93	78	1,892	1,968	1,892	1,918	0,044	1,873	1,962	-1,259
S-005	700	790	700	2,845	2,898	2,845	2,863	0,030	2,832	2,893	0,211
S-006	490	330	490	2,690	2,519	2,690	2,633	0,099	2,534	2,732	-0,146
S-007	930	430	430	2,968	2,633	2,633	2,745	0,193	2,552	2,939	0,028

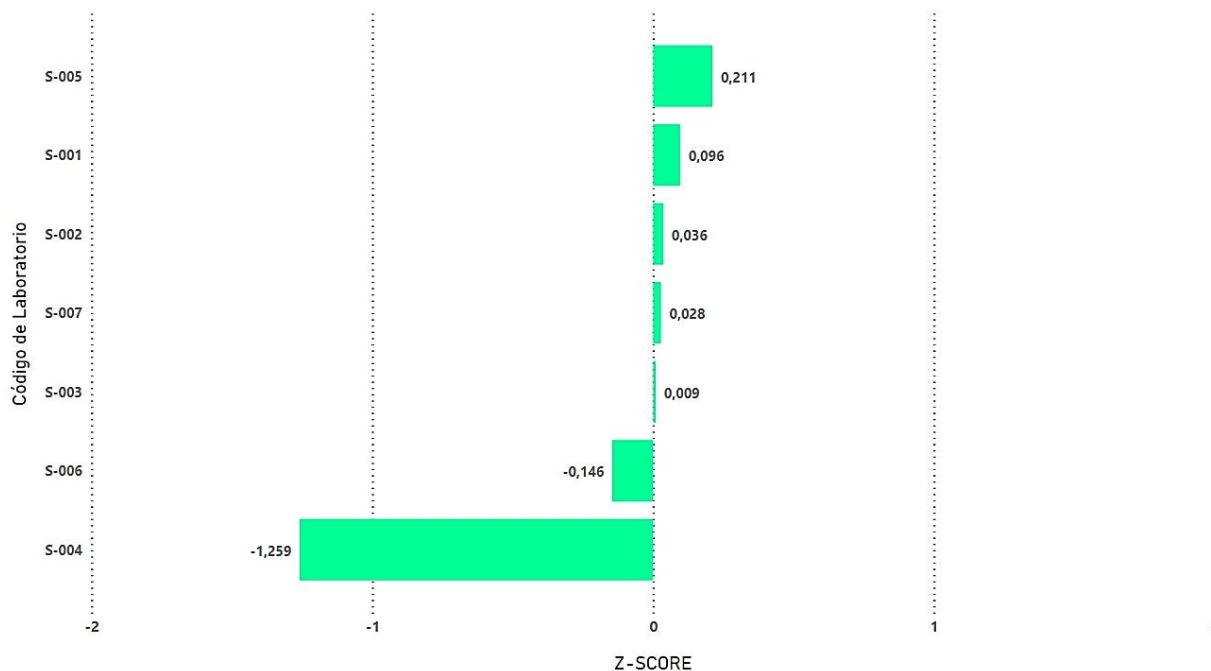
Datos Estadísticos

N° LABS	7
Valor asignado (X*)	2,727
SD robusta (S*)	0,108
SD diana (σ_{pt})	0,643
Incertidumbre del valor asignado (μ_x)	0,050

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

Gráfico N°01. Resultados de los participantes (estadístico Z-SCORE) en la prueba de “Enumeración de *Escherichia coli* (NMP)”, en matriz “concha de abanico”.

Z-SCORE por Código de Laboratorio



7. Comentarios

Participaron 07 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 07/07 (100,0%), en el Ensayo de Aptitud para el “Enumeración de *Escherichia coli* (NMP)” 2023-V, en la matriz “concha de abanico”.



PERÚ

Ministerio de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de
Sanidad Pesquera

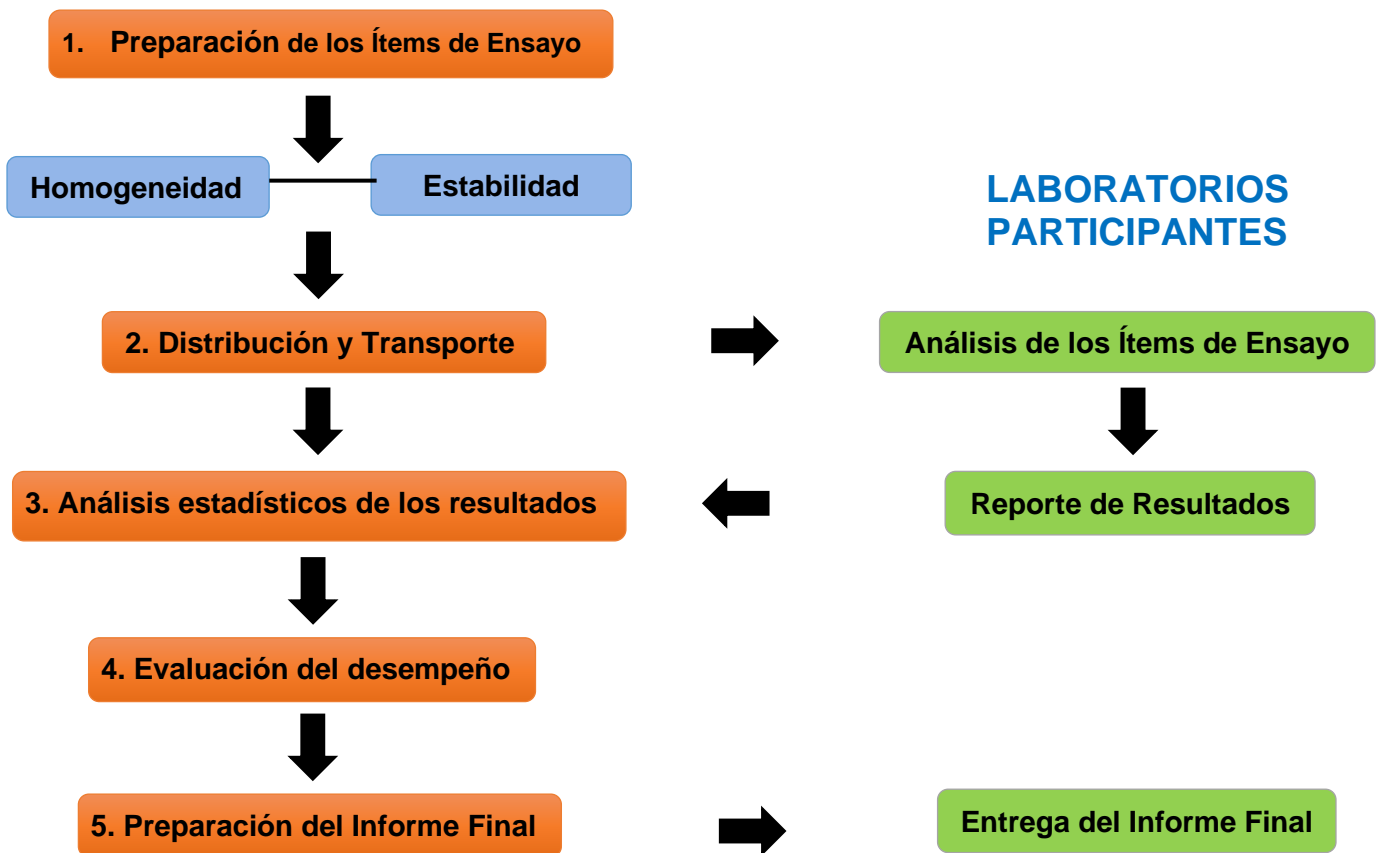
“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

8. Anexos

Anexo 1

Diseño del Ensayo de Aptitud “Enumeración de *Escherichia coli* (NMP)”

CEA-SANIPES



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