AUTORIDAD NACIONAL DE SANIDAD E INOCUIDAD EN PESCA Y ACUICULTURA

COORDINACIÓN DE ENSAYOS DE APTITUD - SANIPES

PROGRAMA DE ENSAYOS DE APTITUD 2024

"RECUENTO DE ENTEROBACTERIAS"

INFORME FINAL 2024 - X

Fecha de emisión: 2024/12/11

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.: -

Sitio Web:

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

Consulta de Alcance Acreditado:

https://catalogo.consultaema.mx:75/busqueda-proveedores-ensayos-de-aptitud

Autorizado por:

Firmado digitalmente por ENRIQUE APARICIO Edith Carmen FAU 20565429656 soft
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 12.12.2024 15:18:02 -05:00

Abg. Edith Carmen Enrique Aparicio
Directora
Dirección de Fiscalización Sanitaria (DFS)

Revisado por:

Firmado digitalmente por VILLALOBOS INFANTE Eduard Manuel FAU 20565429656 hard
Motivo: Soy el autor del documento
Fecha: 11.12.2024 17:05:34 -05:00

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

Ca. Amador Merino Reyna 267 Piso 12 San Isidro - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2
Callao www.gob.pe/sanipes

DATOS DEL EQUIPO TÉCNICO:

Nombre	Formación	Cargo	Firma
Eduard Manuel Villalobos Infante	Biólogo Microbiólogo	Coordinador de Ensayos de Aptitud	Firmado digitalmente por VILLALOBOS INFANTE Eduard Manuel FAU 20565429656 hard Motivo: Soy el autor del documento Fecha: 11.12.2024 17:06:14 -05:00
Carlos Gene Quiróz Gutierrez	Biólogo Microbiólogo	Responsable Técnico de Ensayos de Aptitud	Firmado digitalmente por QUIROZ GUTIERREZ Carlos Gene FAU 20565429656 hard Motivo: Soy el autor del documento Fecha: 11.12.2024 16:58:39 -05:00

Ca. Amador Merino Reyna 267 Piso 12 San Isidro - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2
Callao www.gob.pe/sanipes

INDICE

1. Introducción 4

2. Declaración de Confidencialidad e Imparcialidad 5

3. Procedimiento 5

4. Ítem de Ensayo 6

4.1 Preparación de los Ítems 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 8

6. Resultados 12

7. Comentarios 14

8. Anexos 15

Ca. Amador Merino Reyna 267 Piso 12 San Isidro - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2
Callao www.gob.pe/sanipes

Ponle PUNCHE y ganamos todos PERÚ
BICENTENARIO PERÚ 2024

1. Introducción

La Autoridad Nacional de Inocuidad en Pesca y Acuicultura-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 2024, organizó la prueba de "Recuento de Enterobacterias", ensayo usado en la Certificación Sanitaria del sector pesquero y acuícola y en algunos requisitos sanitarios de productos hidrobiológicos.

Las Enterobacterias son una gran familia de bacterias gramnegativas reconocidas como un grupo importante en la industria alimentaria para monitorear la higiene y el saneamiento. Este grupo incluye una gama completa de microorganismos, incluidas todas las bacterias Coliformes. Sus miembros abarcan desde bacterias como la *Salmonella* y la *Escherichia coli*, bien conocidas por causar enfermedades transmitidas por los alimentos. Las Enterobacterias se caracterizan por ser anaerobios facultativos, con forma de varilla, negativos a la oxidasa, que fermentan la glucosa en ácido y / o dióxido de carbono y generalmente móviles. Las Enterobacterias no patógenas se consideran "organismos indicadores" en la industria alimentaria, ya que su detección y enumeración puede indicar un procesamiento inadecuado y un saneamiento deficiente en el entorno de procesamiento.

Para el desarrollo del Ensayo de Aptitud de "Recuento de Enterobacterias", se empleó la siguiente cepa: *Klebsiella aerogenes* NCTC 10006. 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".

Ca. Amador Merino Reyna 267 Piso 12 San Isidro - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2
Callao www.gob.pe/sanipes

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 el Recuento de Enterobacterias, 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 de Aptitud "Recuento de Enterobacterias", 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 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 "Recuento de Enterobacterias", se encuentra detallado en el Anexo 01.

Ca. Amador Merino Reyna 267 Piso 12 San Isidro - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2
Callao www.gob.pe/sanipes

Ponle Punche y ganamos todos PERÚ
BICENTENARIO PERÚ 2024

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.

Contenido del Ítem de Ensayo

Matriz

Se distribuyó una (01) bolsa de plástico sellada conteniendo 15 gramos de muestra Harina de Pescado, 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 microorganismo de interés: *Klebsiella aerogenes* NCTC 10006; N° del lote del liofilizado 11240711 de fecha 2024-11-07.

Se envió un (01) vial de vidrio sellado con precinto de aluminio, conteniendo una suspensión microbiana liofilizada de los microorganismos anteriormente descritos.

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.

Para validar la homogeneidad del Ítem de Ensayo se realizó por duplicado el ensayo de "Recuento de Enterobacterias", usando el método ICMSF Microorganismos de los Alimentos 1 2a. ed. pág. 149 - 150 reimpresión 2000.

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=0,996**; según la ISO 13528:2022 (Desviación estándar de la "**diana" (σ_{pt}) = 0,350**).

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

Resultado de la Homogeneidad $\mathbf{S_s=0,040}$; **conforme**

Ca. Amador Merino Reyna 267 Piso 12 San Isidro - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2
Callao www.gob.pe/sanipes

Ponle PUNCHE y ganamos todos PERÚ
BICENTENARIO PERÚ 2024

4.3. Estabilidad

Los estudios de estabilidad de los Ítems de Ensayo enviados fueron desarrollados con la metodología "Recuento de Enterobacterias", usando el método ICMSF Microorganismos de los Alimentos 1 2a. ed. pág. 149 - 150 reimpresión 2000, 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 10 (diez) Ítems de Ensayo por duplicado en 5 tiempos diferentes, el primer tiempo (T_0) antes de la entrega de los participantes, el segundo tiempo (T_1) el mismo día de la entrega de la ronda y los otros 3 tiempos a los 5, 10 y 15 días (T_2, T_3 y T_4 respectivamente), de la entrega de la ronda (ISO 13528).

Los datos fueron evaluados mediante un análisis de varianza (ANOVA) **p-valor = 0,089**; respecto a los datos de homogeneidad. Desviación estándar de la **"diana" (σ_{pt}) = 0,350**;

Criterio de estabilidad**: I Media de Homogeneidad-Media de estabilidad (día) I ≤ 0,3 σ_{pt}**

Resultado de la estabilidad: **Conforme**

- **Tiempo 0:** 0,001 < 0,105
  0,002 < 0,105
- **Tiempo 1:** 0,002 < 0,105
  0,001 < 0,105
- **Tiempo 2:** 0,076 < 0,105
  0,021 < 0,105
- **Tiempo 3:** 0,041 < 0,105
  0,088 < 0,105
- **Tiempo 4:** 0,104 < 0,105
  0,097 < 0,105

Ca. Amador Merino Reyna 267 Piso 12 San Isidro - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2
Callao www.gob.pe/sanipes

Ponle PUNCHE y ganamos todos PERÚ
BICENTENARIO PERÚ 2024

4.4. Distribución y Transporte

Para la "Recuento de Enterobacterias", cada laboratorio participante recibió una (01) bolsa de plástico sellada conteniendo 15 gramos de la matriz Harina de Pescado 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, S-007, S-008 y S-009.

El material fue acondicionado en cajas térmicas con geles refrigerantes para mantener la temperatura hasta la llegada a los laboratorios. Los Ítems de Ensayo fueron recogidos por los participantes en las instalaciones del SANIPES Sede Callao y enviados a los laboratorios fuera de Lima, el 20 de noviembre del 2024, asegurándose de mantener las condiciones de transporte; 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 Nº 01. Resultados esperados

Ensayo	(*) Valor orientativo del laboratorio de Referencia – CEA SANIPES (Log10) UFC/g	Analito de interés
Recuento de Enterobacterias	4,885	*Klebsiella aerogenes* NCTC 10006

(*) 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.

Ca. Amador Merino Reyna 267 Piso 12 San Isidro - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2
Callao www.gob.pe/sanipes

Participante Eliminado**: S-005**

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 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 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.

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) = 4,729**

Ca. Amador Merino Reyna 267 Piso 12 San Isidro - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2
Callao www.gob.pe/sanipes

Ponle Punche y ganamos todos PERÚ
BICENTENARIO PERÚ 2024

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 σ_{pt} = 0,350

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})

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

En este interlaboratorio se cumple este criterio.

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

$$\boldsymbol{\mu(Xpt)^2/\sigma_{pt}{}^2 < 0,1}$$

En este interlaboratorio se cumple este criterio.

Ca. Amador Merino Reyna 267 Piso 12 San Isidro - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2
Callao www.gob.pe/sanipes

Ponle PUNCHE y ganamos todos PERÚ
BICENTENARIO PERÚ 2024

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 Nº02. 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)

Ca. Amador Merino Reyna 267 Piso 12 San Isidro - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2
Callao www.gob.pe/sanipes

Ponle PUNCHE y ganamos todos PERÚ
BICENTENARIO PERÚ 2024

6. Resultados

Los resultados de los participantes fueron reportados a través del correo interlaboratorios@sanipes.gob.pe, teniendo como fecha máxima de recepción de los resultados el 30 de noviembre para los participantes de Lima y el 02 de diciembre para los participantes fuera de Lima; éstos se presentan en la Tabla Nº 03.

Tabla Nº 03. Resultados individuales de los participantes en la prueba de "Recuento de Enterobacterias", en matriz "Harina de Pescado" para todos los participantes.

Recuento de Enterobacterias 2024-X												
Código	Unidad de Reporte	Expresión: UFC / g			$Log_{10} X_1$	$Log_{10} X_2$	$Log_{10} X_3$	Promedio por Cada participante	Desviación estándar: (S)	INTERVALO		Z-SCORE
		X_1	X_2	X_3								
S-001	UFC/g	28000	28000	27000	4,447	4,447	4,431	4,442	0,009	4,433	4,451	**-0,821**
S-002	UFC/g	42000	38000	45000	4,623	4,580	4,653	4,619	0,037	4,582	4,656	**-0,315**
S-003	UFC/g	76000	70000	77000	4,881	4,845	4,886	4,871	0,022	4,848	4,893	**0,405**
S-004	UFC/g	35000	35000	38000	4,544	4,544	4,580	4,556	0,021	4,535	4,577	**-0,495**
S-005	UFC/g	23000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S-006	UFC/g	95000	78000	87000	4,978	4,892	4,940	4,936	0,043	4,894	4,979	**0,592**
S-007	UFC/g	28000	23000	22000	4,447	4,362	4,342	4,384	0,056	4,328	4,440	**-0,987**
S-008	UFC/g	80000	90000	85000	4,903	4,954	4,929	4,929	0,026	4,903	4,954	**0,571**
S-009	UFC/g	90000	92000	92000	4,954	4,964	4,964	4,961	0,006	4,955	4,966	**0,661**

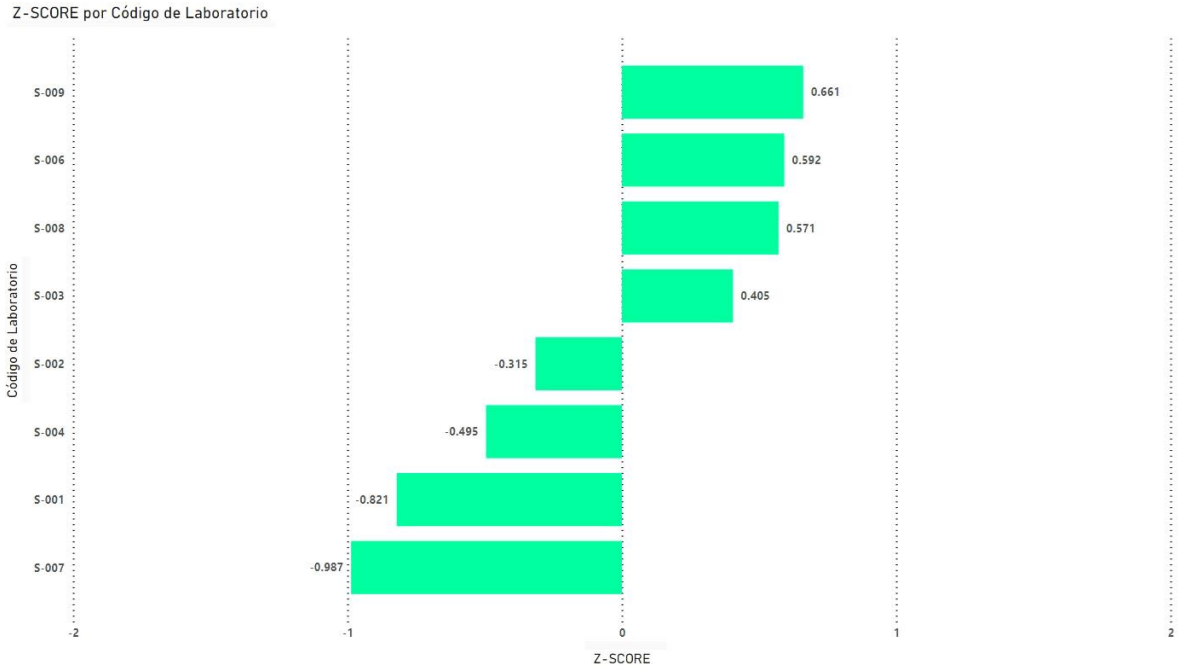
Ca. Amador Merino Reyna 267 Piso 12 San Isidro - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2
Callao www.gob.pe/sanipes

Participantes eliminados	
Expresión incorrecta:	-
Nº réplicas insuficientes:	S-005
Falsos positivos:	-
Falsos negativos:	-
Test Cochran:	-
Test Mediana:	-
Test de Kernel:	-

Datos Estadísticos

N° Participantes	8
Valor asignado (X*)	4,729
SD robusta (S*)	0,299
SD diana (σ_{pt})	0,350
Incertidumbre del valor asignado (μ_x)	0,130

Gráfico Nº01. Resultados de los participantes (estadístico Z-SCORE) en la prueba de "Recuento de Enterobacterias", en matriz "Harina de Pescado".



Ca. Amador Merino Reyna 267 Piso 12 San Isidro - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2
Callao www.gob.pe/sanipes

Ponle PUNCHE y ganamos todos PERÚ
BICENTENARIO PERÚ 2024

7. Comentarios

Participaron 09 laboratorios de ensayo, los cuales emplearon diferentes metodologías para la determinación del analito de interés.

De los resultados reportados por los laboratorios participantes, obtuvieron un rendimiento satisfactorio 08/09 (88,9%), en el Ensayo de Aptitud para la “Recuento de Enterobacterias”, 2024-X, en la matriz “Harina de Pescado”.

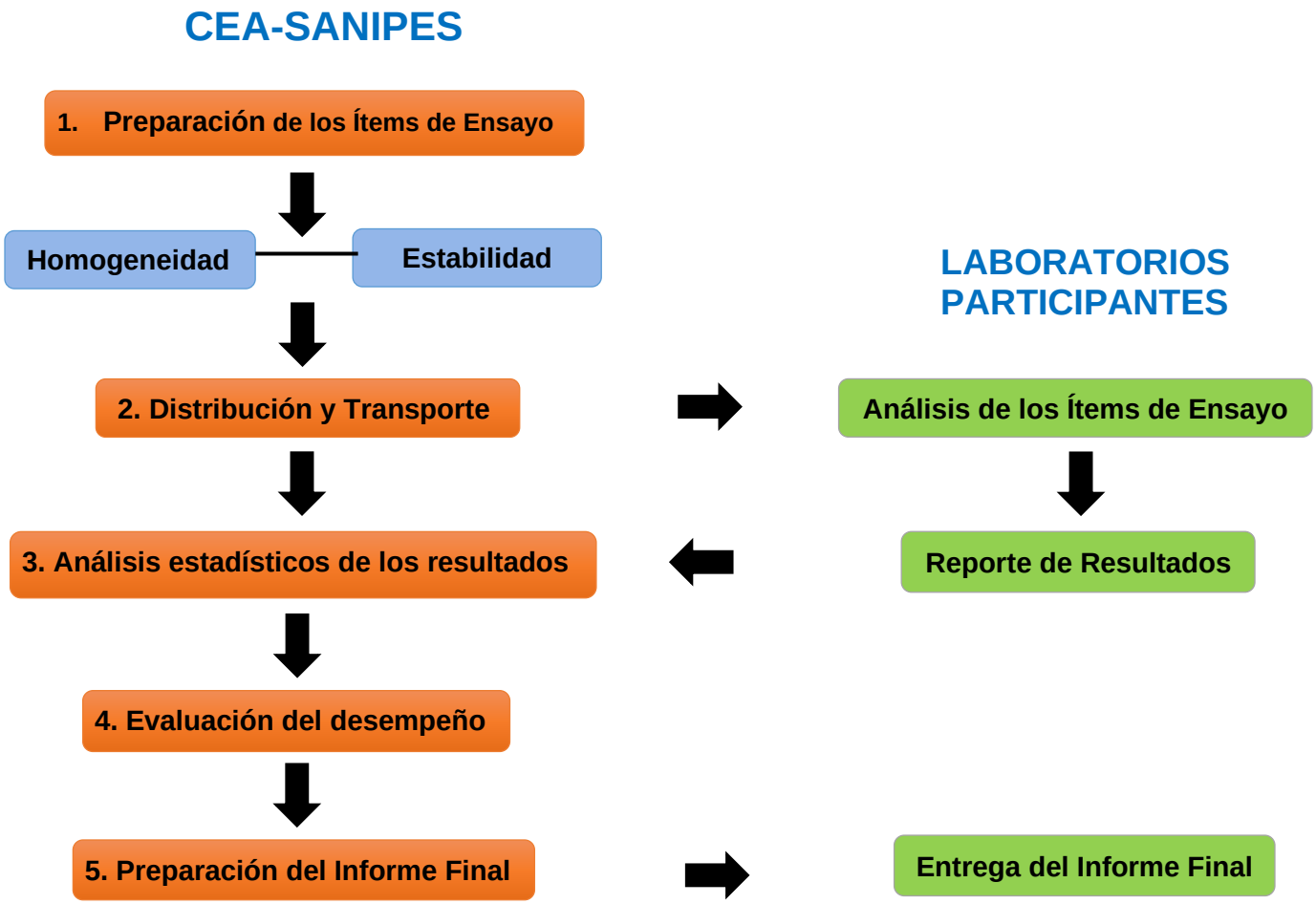
Este ensayo de aptitud para efectos de auditorías sanitarias no reemplaza los ensayos de aptitud que debe realizar el participante en cumplimiento de las directrices de su ente acreditador.

Ca. Amador Merino Reyna 267 Piso 12 San Isidro - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2
Callao www.gob.pe/sanipes

8. Anexos

Anexo 1

Diseño del Ensayo de Aptitud "Recuento de Enterobacterias"



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

Ca. Amador Merino Reyna 267 Piso 12 San Isidro - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2
Callao www.gob.pe/sanipes