



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

ORGANISMO NACIONAL DE SANIDAD PESQUERA Y ACUÍCOLA
PROGRAMA INTERLABORATORIO
“ENUMERACIÓN DE COLIFORMES TERMOTOLERANTES (NMP)
2020-V”
INFORME FINAL

Fecha de emisión: 2020/12/14

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 Anexo 8008.

Web: www.sanipes.gob.pe

Autorizado por:



Dra. Mercedes Govea Requena
Directora

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

Revisado por:



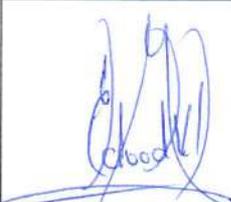
Blgo. Eduard Manuel Villalobos Infante
Coordinador de Ensayos de Aptitud
Dirección Sanitaria y de Normatividad
Pesquera y Acuícola

Página 1 de 10



“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
Eduard Manuel Villalobos Infante	Biólogo	Coordinador de Ensayos de Aptitud	 
Christian Miguel Rebatta Quintanilla	Biólogo	Responsable Técnico de Ensayos de Aptitud	 



“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 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	7
5. Análisis Estadístico	7
6. Resultados.....	8
7. Comentarios	9
Anexos.....	10





“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 su Red de laboratorios autorizados, las cuales participan en los Controles Oficiales y Certificación 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 la Red de laboratorios, 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 ronda “Enumeración de Coliformes Termotolerantes (NMP)” en matriz de Agua de Mar, ensayo usado en los Controles oficiales y Certificación Sanitaria del sector pesquero y acuícola y en algunos requisitos sanitarios de productos hidrobiológicos.

Los coliformes fecales, están definidos como un subconjunto de los coliformes totales que crecen y fermentan la lactosa en elevada temperatura de incubación, por lo tanto, también son designados como coliformes termotolerantes. Este grupo de microorganismos se desarrollan a temperatura promedio de 44.5°C y está conformado principalmente por *Escherichia coli*.

Los coliformes termotolerantes, son el indicador estándar de elección para las aguas que son empleadas en los criaderos de moluscos bivalvos y otras especies del sector pesquero y acuícola.

Para el desarrollo del Interlaboratorio de “Enumeración de Coliformes Termotolerantes (NMP)”, se empleó como cepa de interés *Escherichia coli* ATCC 25922. Esta prueba fue realizada 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 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 los resultados de los laboratorios participantes, la evaluación de los datos y su desempeño en el Interlaboratorio para la “Enumeración de Coliformes Termotolerantes (NMP)”,



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

desarrollado por la Coordinación de Ensayos de Aptitud de SANIPES en referencia de la ISO/IEC 17043:2010.

2. Declaración de Confidencialidad e Imparcialidad

Los participantes del ensayo Interlaboratorio “Enumeración de Coliformes Termotolerantes (NMP)”, 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 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.

Los resultados del ensayo Interlaboratorio serán comunicados a los participantes mediante correo electrónico u oficio y publicados en la página web institucional. 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.

3. Procedimiento

La información sobre el diseño del Ensayo de Aptitud “Enumeración de Coliformes Termotolerantes (NMP)”, se encuentra detallado en el Anexo 01.

4. Ítems de Ensayo

4.1. Preparación de los Ítems de Ensayo

El ítem de ensayo de éste 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 conteniendo 125 ml de la matriz Agua de Mar, debidamente sellada 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.





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

Material Liofilizado

Para la preparación del ítem de ensayo se utilizó como microorganismos de interés el Lote liofilizado 8202010 de fecha 2020/10/22, cultivo liofilizado de *Escherichia coli* ATCC 25922. 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 Enumeración de Coliformes termotolerantes (NMP) del microorganismo inoculado mediante el método Enumeración de Coliformes Termotolerantes (NMP) Multiple-tube Fermentation Technique for Members of the Coliform Group. Thermotolerant (fecal) coliform procedure. Thermotolerant coliform test (EC medium). SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 9221E.1, 23rd Ed.

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=0.26, posteriormente se realizó el test de comparación de medias según la ISO 13528 (Desviación estándar de la “diana” (σ_{pt}) = 0.899).

Criterio de homogeneidad: $S_s \leq 0.3 \sigma_{pt}$
Resultado de la Homogeneidad $S_s=0.108$



4.3. Estabilidad

Los estudios de estabilidad de los ítems de ensayo enviados fueron desarrollados con la metodología Enumeración de Coliformes Termotolerantes (NMP) Multiple-tube Fermentation Technique for Members of the Coliform Group. Thermotolerant (fecal) coliform procedure. Thermotolerant coliform test (EC medium). SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 9221E.1, 23rd Ed., 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).

Los datos fueron evaluados estadísticamente mediante el análisis de varianza (ANOVA) p -valor=0.33, 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}) = 0.899).

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





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

Resultado de la estabilidad:

- Primera evaluación: $0.037 < 0.27$
- Segunda evaluación: $0.115 < 0.27$
- Tercera evaluación $0.115 < 0.27$

4.4. Distribución y Transporte

Para la “Enumeración de Coliformes Termotolerantes (NMP)”, cada laboratorio participante recibió 1 (un) frasco plástico conteniendo 125 mL de la matriz Agua de Mar y un (1) vial de vidrio sellados con precinto de aluminio conteniendo una suspensión microbiana liofilizada para la fortificación de la matriz, ambos sellados e identificado con etiquetas impermeables.

Los laboratorios participantes fueron codificados según los Códigos: S-004, S-009, S-010 y S-011

El material fue acondicionado en cajas térmicas con geles refrigerantes para mantener la temperatura hasta la llegada a los laboratorios. El ítem de ensayo del presente interlaboratorio fue recogido por los participantes en las instalaciones del SANIPES - Sede Callao, el 26 de octubre del 2020, las instrucciones del interlaboratorio fueron entregadas junto con el ítem de ensayo.



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

Tabla N°01. Resultados esperados



Identificación	Rango esperado	Microorganismos de Interés
Enumeración de Coliformes termotolerantes CEA-SANIPES 2020-V	1000 -10000 NMP/100 ml	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922

5. Análisis Estadístico

El objetivo del tratamiento estadístico es obtener un resultado simple y transparente, de fácil comprensión para los laboratorios participantes; dado el número reducido de los laboratorios y la variación propia del método de Número más Probable. La evaluación se realiza con el intervalo de confianza de la MODA obtenido del estudio de homogeneidad.

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

Criterios y Evaluación del desempeño

Para el análisis estadístico de la prueba interlaboratorio se considera como satisfactorio si el promedio de los resultados del laboratorio está dentro del intervalo de confianza de la MODA referente a los resultados de la homogeneidad.

6. Resultados

Los resultados de los participantes fueron reportados a través del correo interlaboratorios@sanipes.gob.pe, teniendo como fecha máxima de recepción el 05 de noviembre de 2020, estos se presentan en la tabla N°02 tabla N°03 y tabla N°04

Tabla N°02. Resultados individuales de los participantes de Enumeración de Coliformes Termotolerantes, en matriz agua de mar.

Resultados Coliformes Termotolerantes							
Código del Participante	R1	R2	log 10	log 10	Promedio	Intervalo de confianza log	Evaluación
S-004	4900	7900	3.690	3.898	3.7939	3-4	Satisfactorio
S-009	3300	4900	3.519	3.690	3.6044		Satisfactorio
S-010	2200	2400	3.342	3.380	3.3613		Satisfactorio
S-011	4600	3300	3.663	3.519	3.5906		Satisfactorio

Tabla N°03. Criterio para evaluación del desempeño: Enumeración de Coliformes Termotolerantes, en matriz agua de mar

MODA	Resultados	Límite inferior	Límite superior	Log Límite Inf.	Log Límite Sup.
(Homogeneidad)	3300	1000	10000	3	4





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

Tabla N°4. Resumen de resultados

Prueba	Evaluación satisfactoria	Evaluación no satisfactoria	Porcentaje de resultados satisfactorios
Enumeración de Coliformes Termotolerantes	4	0	100.0 %

7. Comentarios

Participaron 4 laboratorios de la Red de laboratorios SANIPES, acreditados en la Norma NTP ISO/IEC 17025:2006 o NTP ISO/IEC 17025:2017, los cuales utilizaron los siguientes métodos:

- Enumeración de Coliformes Termotolerantes (NMP) Multiple-tube Fermentation Technique for Members of the Coliform Group. Thermotolerant (fecal) coliform procedure. Thermotolerant coliform test (EC medium). SMEWW-APHA-AWWA-WEF Part 9221E.1, 23rd Ed 2017.
- SMEWW-APHA-AWWA-WEF part 9221 E2, 23rd Ed.2017. Multiple tube fermentation technique for –members of the coliform Group Fecal Procedure. Thermotolerant coliform direct test (A-1 medium).

De los resultados reportados por los laboratorios participantes, obtuvieron un rendimiento satisfactorio 4/4 (100.0%), en el interlaboratorio para la Enumeración de Coliformes Termotolerantes 2020-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.



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

8. Anexos

Anexo 1

Diseño del Ensayo de Aptitud “Enumeración de Coliformes termotolerantes”

CEA-SANIPES

