



PERÚ

Ministerio
de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de
Sanidad Pesquera

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”

“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

ORGANISMO NACIONAL DE SANIDAD PESQUERA
COORDINACIÓN DE ENSAYOS DE APTITUD - SANIPES
PROGRAMA DE ENSAYOS DE APTITUD 2024
“ENUMERACIÓN DE ESCHERICHIA COLI (NMP)”
INFORME FINAL 2024 - III

Fecha de emisión: 2024/06/13

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:

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 15

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





PERÚ

Ministerio
de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de
Sanidad Pesquera

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”

“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

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 del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

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	14
8.	Anexos.....	15





PERÚ

Ministerio
de la Producción



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”

“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

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 2024, 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 en algunos requisitos sanitarios de productos hidrobiológicos.

Escherichia coli, se ha utilizado durante mucho tiempo como indicador de la calidad del agua, es miembro de la flora fecal autóctona de animales de sangre caliente y su presencia en el agua se considera un indicador específico de contaminación fecal y posible presencia de patógenos entéricos. Las pruebas para *E. coli* son aplicables al análisis de aguas potables, superficiales, subterráneas y residuales. *E. coli* es una especie bacteriana perteneciente a la familia Enterobacteraceae, de morfología bacilar, Gram negativa, anaerobia facultativa, oxidasa negativa, no esporulada y que se caracteriza por su capacidad de fermentar la lactosa y producir gas a temperaturas medias de 35°C.

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”.





PERÚ

Ministerio
de la Producción



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”

“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

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.

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.

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.





PERÚ

Ministerio
de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de
Sanidad Pesquera

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”

“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

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 un (01) frasco plástico conteniendo 999 mL de muestra agua potable, debidamente cerrado 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 19242504 de fecha 2024-04-25, 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.

Para validar la homogeneidad del Ítem de Ensayo se realizó por duplicado el ensayo de “Enumeración de *Escherichia coli* (NMP)”, SMEWW-APHA-AWWA-WEF. PARTE 9221 F. 24th Edition. Multiple-Tube Fermentation Technique for Members of the Coliform Group. *Escherichia coli* Procedure Using Fluorogenic Substrate.

Página 6 de 15

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



BICENTENARIO
PERÚ
2024



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”

“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

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=0,504**; 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 **$S_s=0,189$; conforme**

4.3. Estabilidad

Los estudios de estabilidad de los Ítems de Ensayo enviados fueron desarrollados con la metodología “Enumeración de *Escherichia coli* (NMP)”, SMEWW-APHA-AWWA-WEF. PARTE 9221 F. 24th Edition. Multiple-Tube Fermentation Technique for Members of the Coliform Group. *Escherichia coli* Procedure Using Fluorogenic Substrate, 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 = 0,298**; respecto a los datos de homogeneidad. Desviación estándar de la “diana” (σ_{pt}) = **0,643**;

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

Resultado de la estabilidad: **Conforme**

- **Tiempo 0:** 0,188 < 0,193
0,130 < 0,193
- **Tiempo 1:** 0,131 < 0,193
0,053 < 0,193
- **Tiempo 2:** 0,053 < 0,193

Página 7 de 15



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”

“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

0,130 < 0,193

- **Tiempo 3:** 0,130 < 0,193

0,068 < 0,193

- **Tiempo 4:** 0,130 < 0,193

0,188 < 0,193

4.4. Distribución y Transporte

Para la “Enumeración de *Escherichia coli* (NMP)”, cada laboratorio participante recibió un (01) frasco de plástico conteniendo 999 mL de la matriz Agua Potable 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 fueron recogidos por los participantes en las instalaciones del SANIPES - Sede Callao y a su vez, enviados para los participantes que se encuentran fuera de Lima el 15 de mayo 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) NMP / 100mL	Contenido
Enumeración de <i>Escherichia coli</i> (NMP)	1,089	<i>Escherichia coli</i> NCTC 12241

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



PERÚ

Ministerio
de la Producción



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”

“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

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 poner 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,

Test Cochran: Participante Eliminado S-001

Test de la Mediana: Participante Eliminado S-003

Página 9 de 15

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





“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”

“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

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) = 0,961

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})

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

En este interlaboratorio se cumple este criterio.

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”

“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

- 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 del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

6. Resultados

Los resultados de los participantes fueron reportados a través del correo interlaboratorios@sanipes.gob.pe, teniendo como fecha máxima de recepción el 25 de mayo de 2024, 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 “agua potable” para todos los participantes.

Enumeración de <i>Escherichia coli</i> (NMP) 2024-III												
Código	Unidad de Reporte	Expresión: NMP / 100 ml			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	NMP/100 ml	6,9	9,2	16	0,839	0,964	1,204	1,002	0,186	0,817	1,188	0,065
S-002	NMP/100 ml	9,2	9,2	6,9	0,964	0,964	0,839	0,922	0,072	0,850	0,994	-0,060
S-003	NMP/100 ml	2,2	2,2	2,2	0,342	0,342	0,342	0,342	0,000	0,342	0,342	-0,961
S-004	NMP/100 ml	9,2	12	9,2	0,964	1,079	0,964	1,002	0,067	0,936	1,069	0,065
S-005	NMP/100 ml	12	9,2	9,2	1,079	0,964	0,964	1,002	0,067	0,936	1,069	0,065
S-006	NMP/100 ml	9,2	9,2	9,2	0,964	0,964	0,964	0,964	0,000	0,964	0,964	0,005
S-007	NMP/100 ml	6,9	9,2	6,9	0,839	0,964	0,839	0,880	0,072	0,808	0,953	-0,125





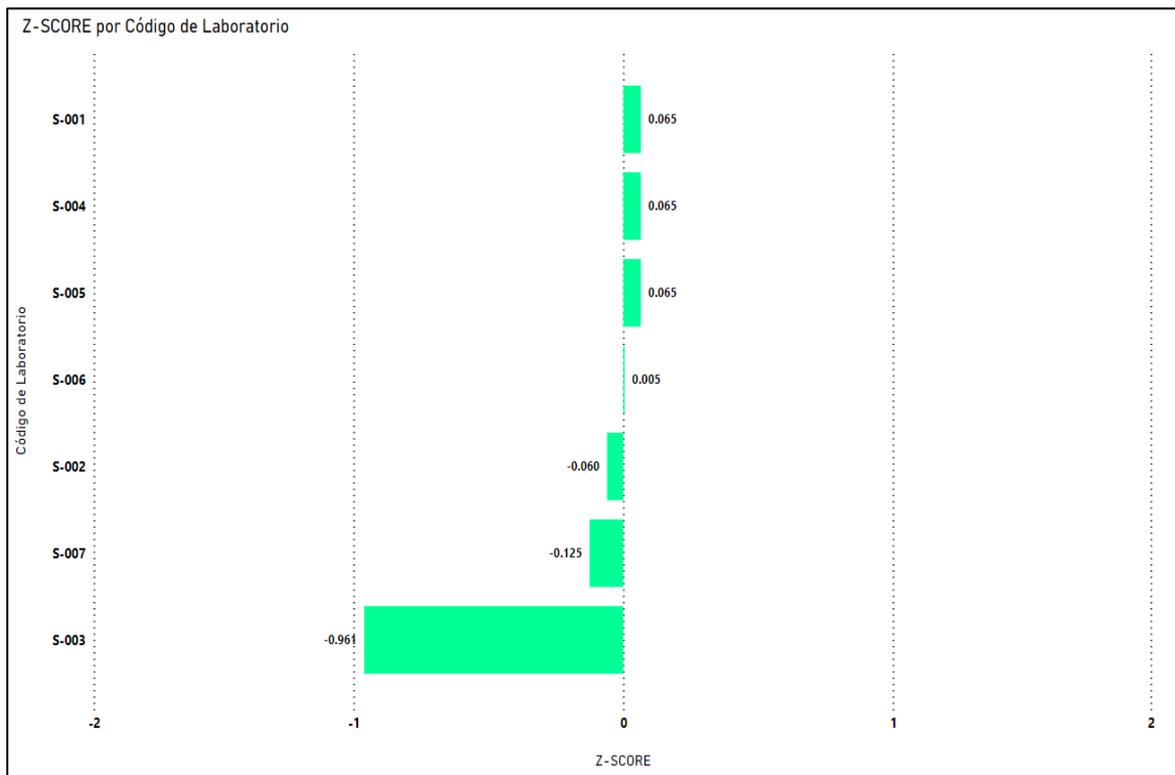
“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

PARTICIPANTES ELIMINADOS:	
Expresión incorrecta:	
Nº réplicas insuficientes:	
Falsos positivos:	
Falsos negativos:	
Test Cochran:	S-001
Test Mediana:	S-003
Test de Kernel:	

Datos Estadísticos

Nº LABS	5
Valor asignado (X*)	0,961
SD robusta (S*)	0,059
SD diana (σ_{pt})	0,643
Incertidumbre del valor asignado (μ_x)	0,033

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





PERÚ

Ministerio
de la Producción



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”

“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

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)”, 2024-III, en la matriz “agua potable”.

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.





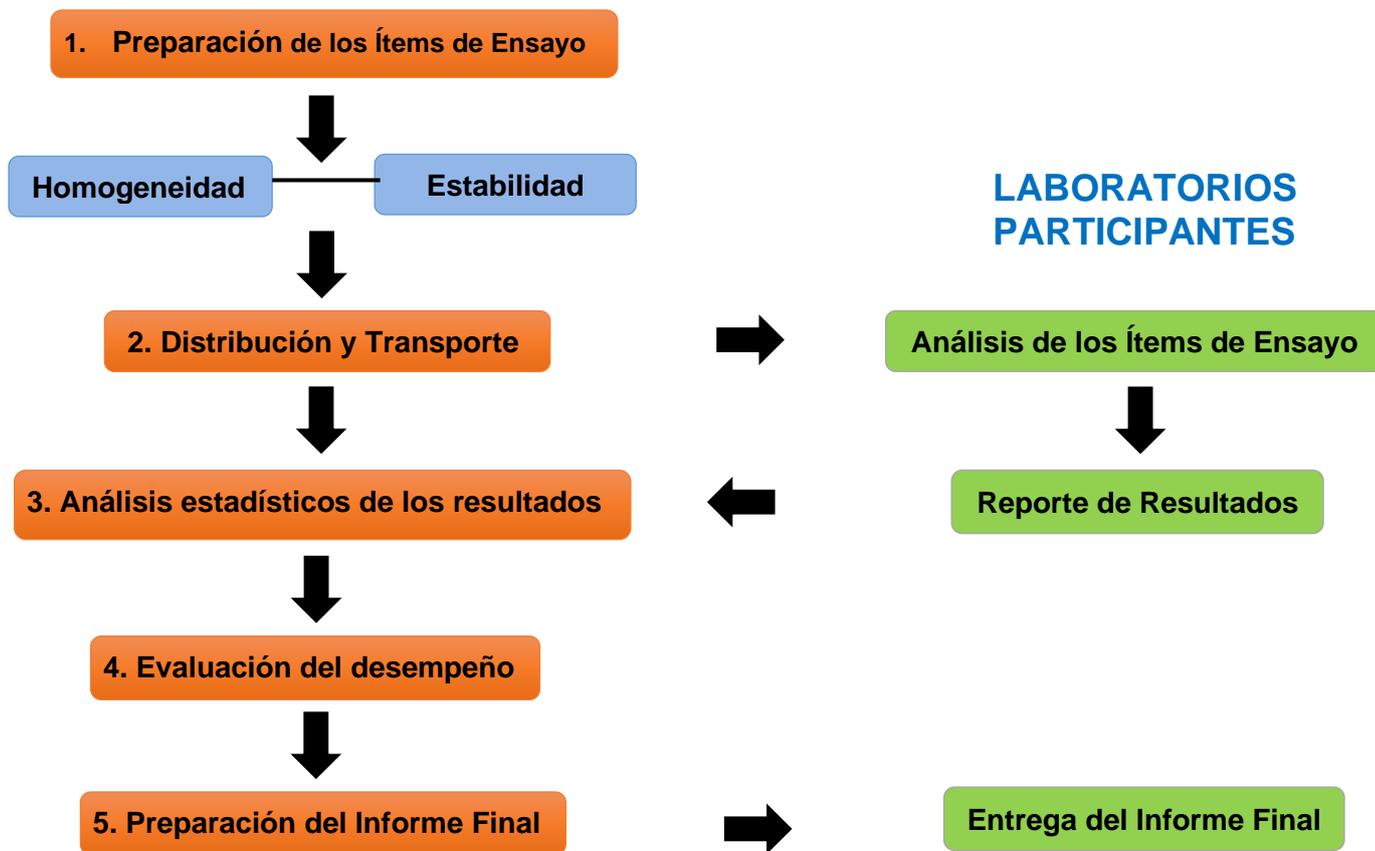
“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

8. Anexos

Anexo 1

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

CEA-SANIPES



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

