

**UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA**

**FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFÍA**

**“ALBERTO CAZORLA TALLERI”**



**Proceso de habilitación del analista en ensayos microbiológicos para productos congelados de *Dosidicus gigas* (pota) en un laboratorio con acreditación ISO/IEC 17025:2017**

Trabajo de Suficiencia Profesional para optar el Título de Licenciado en Biología

**AUTOR:**

Deborath Alessandra Aguirre Alca

**ASESOR:**

MSc. León Villegas Vílchez

**Lima-Perú**

**2022**

## CONTENIDO

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>4</b>
	<b>Tipos de ensayos microbiológicos.....</b>	<b>4</b>
	<i>Dosidicus gigas</i> .....	4
	<b>Marco normativo.....</b>	<b>6</b>
	<b>Laboratorios acreditados por INACAL.....</b>	<b>7</b>
	<b>Microorganismos bacterianos.....</b>	<b>8</b>
	<b>Procedimientos normalizados para el análisis de los</b>	
	<b>Indicadores microbiológicos.....</b>	<b>9</b>
<b>III.</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>15</b>
	<b>Objetivo general.....</b>	<b>15</b>
	<b>Objetivos específicos.....</b>	<b>15</b>
<b>IV.</b>	<b>METODOLOGÍA .....</b>	<b>16</b>
	<b>Población.....</b>	<b>16</b>
	<b>Verificación del proceso de entrenamiento del analista acorde a la</b>	
	<b>ISO 17025:2017.....</b>	<b>16</b>
	<b>Evaluación del analista.....</b>	<b>17</b>
	<b>Análisis comparativo.....</b>	<b>21</b>
	<b>Análisis de etapas críticas.....</b>	<b>21</b>

<b>V.</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>23</b>
	<b>Verificación del cumplimiento del Procedimiento Interno para el</b>	
	<b>Plan de Capacitación del analista con los requisitos de la norma</b>	
	<b>ISO/IEC 17025.....</b>	<b>23</b>
	<b>Evaluación del analista.....</b>	<b>25</b>
	<b>Análisis comparativo.....</b>	<b>28</b>
	<b>Análisis crítico del proceso de habilitación.....</b>	<b>41</b>
<b>VI.</b>	<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>46</b>
<b>VII.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>54</b>
<b>VIII.</b>	<b>RECOMENDACIONES .....</b>	<b>55</b>
<b>IX.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>57</b>
<b>X.</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>63</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Fórmulas para el cálculo de precisión y veracidad para ensayos cuantitativos.....	19
Tabla 2.	Fórmulas para el cálculo de precisión y veracidad para ensayos Semi-cuantitativos.....	20
Tabla 3.	Fórmulas para el cálculo de exactitud relativa, sensibilidad y especificidad para ensayos cualitativos.....	21
Tabla 4.	Plan de capacitación del personal en función a los requerimientos de la norma ISO/IEC 17025:2017.....	24
Tabla 5.	Verificación de etapas del proceso de habilitación por analista.....	25
Tabla 6.	Valoración del contenido de la evaluación escrita.....	26
Tabla 7.	Promedios de la evaluación escrita por analista.....	27
Tabla 8.	Conformidad de la Precisión y Veracidad para análisis Cuantitativos y Semicuantitativos por analista.....	27
Tabla 9.	Conformidad de la Exactitud relativa, sensibilidad y especificidad para análisis Cualitativos por analista.....	28

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Presentaciones de pota congelada para exportación, 2020.....	5
Figura 2.	Destinos de exportación de pota congelada, 2020.....	5
Figura 3.	Exportación de pota congelada, 2016-2021.....	6
Figura 4.	Esquema para el recuento de aerobios mesófilos según la ISO 4833-1.....	10
Figura 5.	Esquema para la enumeración de <i>E. coli</i> según la ISO 16649-2.....	11
Figura 6.	Esquema para el recuento de <i>S. aureus</i> según la ISO 6888-1.....	11
Figura 7.	Esquema para la detección de <i>Salmonella</i> según la ISO 6579-1.....	12
Figura 8.	Esquema para la detección de <i>V. cholerae</i> según la FDA.....	13
Figura 9.	Esquema para la enumeración de <i>V. parahaemolyticus</i> según la FDA.....	14
Figura 10.	Comparación de medianas de los puntajes de evaluación escrita entre analistas.....	29
Figura 11.	Comparación de los valores de veracidad entre analistas para ensayos cuantitativos. Prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ( $p \leq 0.05$ ) (n=6).....	30
Figura 12.	Comparación de los valores de veracidad entre analistas por tipo de ensayo: A. Recuento de Aerobios mesófilos B. Recuento de <i>S. aureus</i> .....	31
Figura 13.	Comparación de los valores de precisión entre analistas para ensayos cuantitativos y semicuantitativo. Prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ( $p \leq 0.05$ ) (n=6).....	33

Figura 14.	Comparación de los valores de precisión entre analistas por tipo de ensayo: A. Aerobios mesófilos B. <i>E. coli</i> C. <i>S. aureus</i> D. <i>V. parahaemolyticus</i> .....	35
Figura 15.	Evaluación de exactitud relativa, sensibilidad y especificidad para el ensayo de Detección de <i>Salmonella spp</i> .....	36
Figura 16.	Evaluación de exactitud relativa, sensibilidad y especificidad para el ensayo de Detección de <i>V. cholerae</i> .....	37
Figura 17.	Puntajes de evaluación escrita por tipo de formación profesional y experiencia laboral (n=6).....	38
Figura 18.	Puntajes de precisión y veracidad por tipo de formación profesional y experiencia laboral (n=6).....	39
Figura 19.	Tiempo de duración (meses) del proceso de habilitación por analista.....	40
Figura 20.	Identificación de puntos críticos del proceso de habilitación.....	41
Figura 21.	Evaluación de los analistas en función a las etapas del análisis por tipo de ensayo.....	45

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Tabla de microorganismos indicadores de inocuidad alimentaria para productos congelados de pota.....	63
Anexo 2.	Requisitos para exportación de productos hidrobiológicos TUPA 30.....	63
Anexo 3.	Procedimiento de Entrenamiento y Capacitación del Personal de la empresa SL S.A.C. 2018-2021.....	64

## Resumen

La inocuidad alimentaria vela por el cumplimiento de las condiciones de higiene y seguridad de los alimentos. Para el análisis de los alimentos se emplean procedimientos estandarizados o validados garantizando así la buena calidad organoléptica, química y microbiológica de los alimentos. La norma ISO/IEC 17025:2017 establece los requerimientos para asegurar la confiabilidad de los resultados emitidos en laboratorios de ensayo. Un laboratorio acreditado bajo dicha norma debe contar con analistas que demuestren tener competencia técnica. En ese sentido, la empresa SL S.A.C. cuenta con un procedimiento para la habilitación del personal.

La alta demanda de productos de papa (*Dosidicus gigas*) para exportación y, asimismo, por la frecuencia de solicitud de informes de ensayo de calidad microbiológica emitidos por la empresa SL S.A.C. se requiere contar con analistas habilitados en dicho alcance.

En el presente trabajo se hizo un análisis crítico del proceso de habilitación del analista para los ensayos de recuento de *Aerobios mesófilos* y *S. aureus*, enumeración de *E. coli* y *V. parahaemolyticus* y detección de *Salmonella spp.* y *V. cholerae* en productos congelados de papa. Se recolectó la información de los 6 analistas autorizados para el alcance en mención y se realizó pruebas no paramétricas y gráficos descriptivos. Se identificó oportunidades de mejora en el proceso de habilitación. Los analistas presentaron diferencias en función a formación profesional y tiempo de experiencia laboral. Asimismo, se identificó requerimientos particulares del proceso de habilitación en función a cada tipo de ensayo.

Palabras clave: Productos hidrobiológicos, Indicadores microbiológicos, Inocuidad alimentaria, INACAL, SANIPES, desempeño, competencia técnica

## I. INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) se refiere a la inocuidad alimentaria como las condiciones de higiene y seguridad que permitirán que el alimento llegue al consumidor en un estado en el que no atente contra su salud y en condiciones óptimas para su consumo (OPS/OMS, 2021). Con el incremento y migración de la población de un país a otro surgió la necesidad de producir una mayor cantidad de alimentos. La producción, tratamiento y transporte de alimentos de forma industrializada al requerir de una mayor cantidad de procesos deberá contar con un control de calidad e inocuidad para evitar o identificar a tiempo la contaminación alimentaria (OMS, 2020).

En este sentido, la Organización Mundial del Comercio (OMC) reconoce la importancia de que los consumidores reciban alimentos inocuos durante el intercambio de productos alimenticios a causa del comercio entre países, haciendo uso de normas internacionales (OMC, 2019). Dichas normas estandarizan los procedimientos que garantizarán la buena calidad organoléptica, química y microbiológica de los alimentos; asimismo, permite eliminar las diferencias entre la regulación propia de cada país gracias a consensos en los que se toman en consideración las necesidades de todos los países (FAO, 2018).

La ISO (*International Organization for Standardization*) es una organización que establece acuerdos en conjunto con las entidades regulatorias representantes de cada país para estandarizar los procesos de evaluación y cumplimiento del aseguramiento de la calidad (ISO, 2021), siendo INACAL la entidad regulatoria en Perú para sistemas de gestión de la calidad. La ISO/IEC 17025:2017 es la norma que establece los lineamientos para la



implementación de Laboratorios de Ensayo y Calibración. Un laboratorio de análisis microbiológico de alimentos que trabaja bajo esta norma cuenta con un sistema de gestión de la calidad que brinda la validez, reproducibilidad y confiabilidad de los resultados emitidos, satisfaciendo así los requerimientos de los clientes (ISO, 2017). Dentro de ello, la selección y/o capacitación del personal de laboratorio y la posterior evaluación de su competencia técnica y habilidades para realizar los ensayos microbiológicos es indispensable.

El laboratorio SL S.A.C. cuenta con 30 métodos de ensayo acreditados para superficies en contacto con alimentos, ambientes, alimentos preparados, frutas y vegetales, especias, deshidratados, productos de confitería, bebidas y productos hidrobiológicos, dividiéndose estos últimos en crustáceos, moluscos cefalópodos, moluscos bivalvos y pescados (INACAL, 2021).

Los productos de la especie *Dosidicus gigas* (pota o calamar gigante) representan en Perú una fuente importante para la exportación. La pota está ampliamente distribuida en la costa peruana y entre los años 2007 y 2016 se registró una captura media anual de 866 mil toneladas (IMARPE, 2018). En el 2018, el 47.6% de las exportaciones relacionadas a productos pesqueros para Consumo Humano Directo (CHD) estuvo representado por la pota (ADEX, 2019), siendo considerado el segundo producto pesquero más exportado (Wikipesca, 2021).

La alta demanda de informes de ensayo de calidad microbiológica de productos congelados de pota para su posterior uso en la certificación sanitaria y exportación hace que se requiera una mayor cantidad de analistas habilitados en el alcance correspondiente. Para así mantener

la capacidad operativa de análisis microbiológico de la empresa SL S.A.C. y dar respuesta a los requerimientos de los clientes.

Acorde a la ISO/IEC 17025:2017 en el inciso 6.3.2. se señala que el analista deberá demostrar tener la competencia para poder realizar los ensayos que se le asigne. En este sentido, se identifica el rol del laboratorio que además de conocer las normativas para el análisis microbiológico correcto según el tipo de muestra, también tiene la labor de inducir, entrenar y evaluar al analista que ejecutará dichos ensayos. El analista deberá contar con una formación profesional que le permita desarrollar las habilidades necesarias para poner en práctica los análisis microbiológicos de alimentos siguiendo las buenas prácticas de laboratorio, el conocimiento teórico y práctico de los métodos y la interpretación de los resultados.

La evaluación del personal en proceso de habilitación puede ser realizada mediante la participación exitosa en pruebas de aptitud o su evaluación en función a una muestra con un inóculo de referencia, siendo el segundo tipo de evaluación el analizado en el presente trabajo.

El presente trabajo tiene como objetivo analizar el proceso de habilitación y evaluación del analista de laboratorio para los ensayos de recuento de *Aerobios mesófilos* y *Staphylococcus aureus*, enumeración de *Escherichia coli* y *Vibrio parahaemolyticus* y detección de *Salmonella spp.* y *Vibrio cholerae* en productos congelados de pota.

## **II. MARCO TEÓRICO**

### **A. Tipos de ensayos microbiológicos**

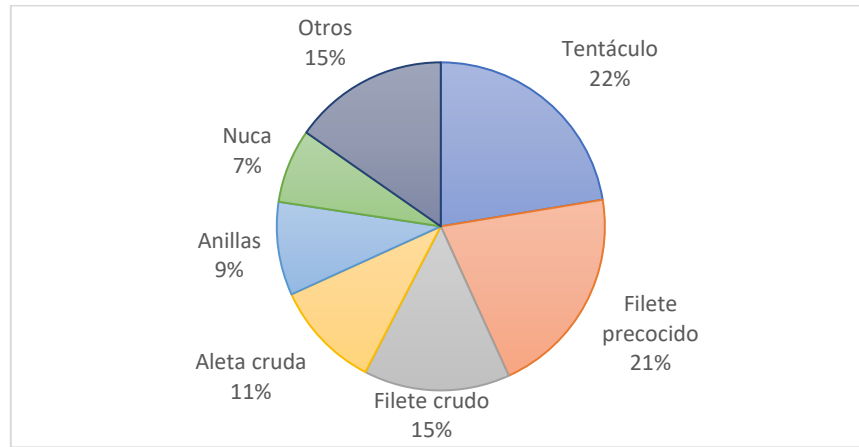
Existen tres tipos de ensayos microbiológicos identificados en la ISO/IEC 17025:2017. Los ensayos cualitativos, que están basados en métodos de detección y cuyo resultado expresa Ausencia o Presencia del microorganismo diana; los ensayos cuantitativos, basados en cuantificar la cantidad del microorganismo diana y cuyos resultados se expresan en UFC/g y ensayos semicuantitativos, que se basan en la cuantificación de un microorganismo diana expresado en valores de NMP/g.

### **B. *Dosidicus gigas***

La pota o en su nombre científico *Dosidicus gigas* es un molusco cefalópodo que posee una cabeza compuesta de brazos y un manto cilíndrico. Se alimenta principalmente de otros cefalópodos.

Uno de los motivos por los cuáles estos productos son importantes y altamente solicitados es porque presentan una alternativa de aporte nutricional diversificada. LA aleta contiene un alto valor proteico, mientras que en los tentáculos y la piel se puede recuperar colágeno y gelatina. (Ezquerro, 2019). Por tal motivo, existen diferentes presentaciones para la exportación como tentáculo congelado, filete precocido, anillas IQF, anillas congeladas, nuca congelada, entre otros (Figura 1.). Durante el 2020 las principales presentaciones fueron las siguientes:

**Figura 1. Presentaciones de pota congelada para exportación, 2020**



Fuente: Elaboración propia. Referencia: Informe anual de PromPerú, 2020.

Asimismo, la importancia de la exportación de la pota congelada se observa en los diferentes destinos a los que llega, siendo Corea del Sur, España y China los principales destinos durante el 2020 (Figura 2.). A continuación, los destinos de exportación de pota congelada para el año 2020:

**Figura 2. Destinos de exportación de pota congelada, 2020**

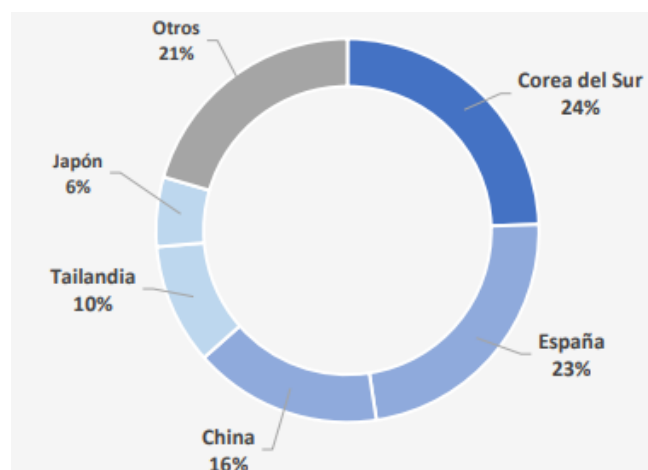
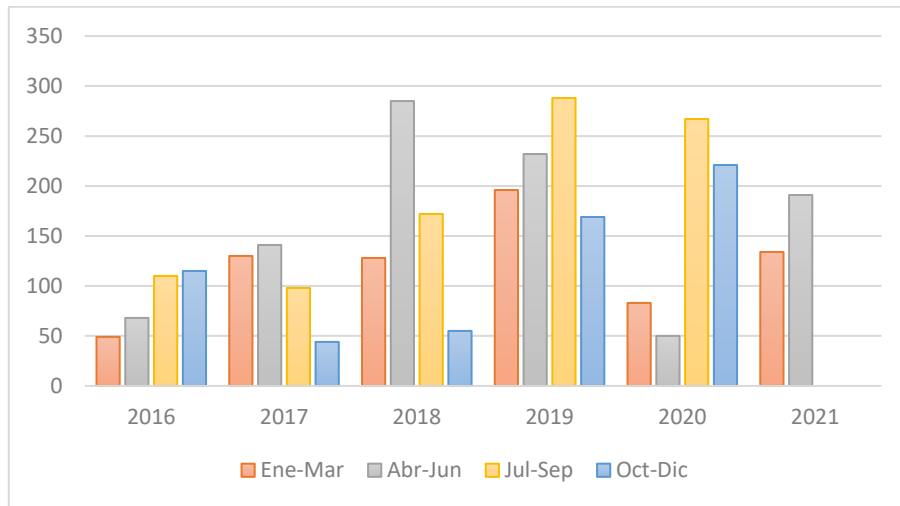


Gráfico extraído del Informe anual de PromPerú, 2020.

La exportación de pota ha venido en aumento desde el año 2016, tal y como se observa en la Figura 3., en donde se expresa los niveles de exportación representado en millones de dólares (US\$) por cada año.

**Figura 3. Exportación de pota congelada, 2016-2021**



Fuente: Elaboración propia. Referencia: BCRPData, 2021.

### C. Marco normativo

#### a. Análisis en un laboratorio acreditado bajo la ISO/IEC 17025:2017

El trabajo en un laboratorio de ensayo acreditado bajo la norma ISO/IEC 17025 debe cumplir con las especificaciones señaladas para garantizar el cumplimiento de lo relacionado a la estructura, recursos, procesos y sistema de gestión.

*“6.1. El laboratorio debe tener disponibles el personal, las instalaciones, el equipamiento (...) para realizar sus actividades de laboratorio”, ISO 17025.*

## **b. Requerimientos para exportación de productos hidrobiológicos por SANIPES**

El Organismo Nacional de Sanidad Pesquera (SANIPES) además de todas sus funciones establece normas sanitarias para productos provenientes de la pesca. Dentro de las disposiciones señaladas para la exportación, en el punto N°3 del TUPA 30 (Anexo 2.) aprobado por PRODUCE, se detalla que es necesario contar con un Informe de Ensayo por parte de un laboratorio que cuente con la autorización por SANIPES, para el lote que se va a exportar.

Lo que evidencia la necesidad de las empresas exportadoras de trabajar a la par con laboratorios de ensayo acreditados para los alcances requeridos.

## **D. Laboratorios acreditados por INACAL**

Los laboratorios de ensayo acreditados por INACAL y SANIPES poseen la autorización para diversos alcances, pero solo el 8% (10/122) para el alcance correspondiente a productos hidrobiológicos. Asimismo, es importante considerar la necesidad de brindar el soporte requerido por empresas que se encuentran en otros departamentos fuera de Lima. Actualmente solo existen 2 laboratorios para el alcance de moluscos cefalópodos fuera de Lima, ubicados en Chimbote.

## **E. Microorganismos bacterianos**

Los microorganismos bacterianos indicadores descritos por el Manual elaborado por SANIPES (Anexo 1.) son los siguientes:

La clasificación se realiza acorde a la referencia y cada descripción en función a la referencia.

### **Microorganismos indicadores de alteración:**

- a. Aerobios mesófilos a 30°C

Los microorganismos aerobios mesófilos son indicadores de malas condiciones de almacenamiento, aun considerando que la técnica de recuento en placa no permite determinar si son o no microorganismos patógenos.

### **Microorganismos indicadores de higiene:**

- a. *Escherichia coli*

Es bacilo gram negativo que pertenece al grupo de las enterobacterias. Se encuentra presente en el tracto entérico tanto de seres humanos como animales. La presencia de esta bacteria en alimentos es un indicador de contaminación fecal, ya sea directa o indirectamente.

### **Microorganismos patógenos:**

- a. *Salmonella spp.*

El género *Salmonella* presenta en la actualidad un aproximado de 2500 serovares. Algunas especies de *Salmonella* han sido encontradas en ambientes hídricos en los que habitan productos pesqueros. La presencia de dichas especies podría evidenciar una deficiencia en la sanitización de los productos previamente al procesamiento.

*b. Staphylococcus aureus*

La presencia de esta especie bacteriana en alimentos es una causante de intoxicación alimentaria, si es que el *Staphylococcus aureus* permanece largos períodos en el alimento puede empezar a producir toxinas que son resistentes a agentes externos como el calor. Asimismo, esta bacteria se encuentra constantemente en los ambientes de plantas procesadoras de alimentos.

*c. Vibrio cholerae y Vibrio parahaemolyticus*

Son bacterias gram negativas que poseen un flagelo polar. Las especies estudiadas en el presente trabajo crecen en ambientes salinos y climas templados.

La presencia de microorganismos en los alimentos en unas cantidades que superen los límites permitidos evidencia una mala práctica en la desinfección de los materiales o del manipulador en alguna etapa de la cadena del procesamiento y almacenamiento de un alimento o también del transporte de la materia prima (SANIPES, 2016).

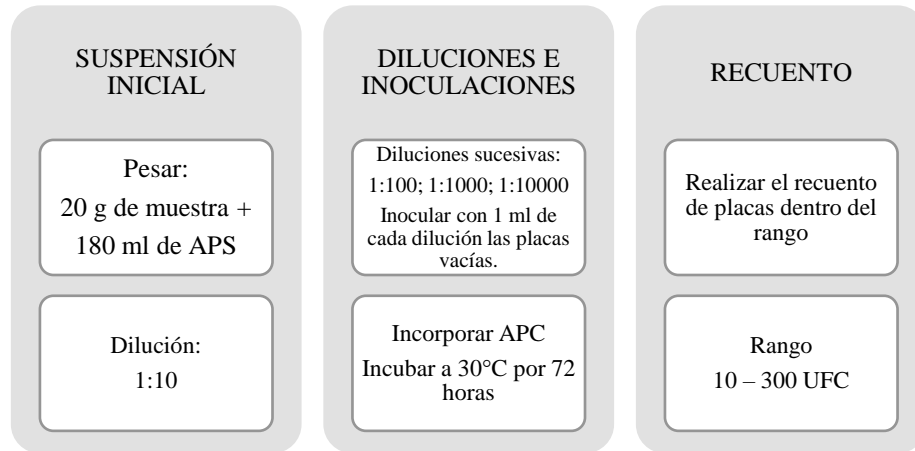
**F. Procedimientos normalizados para el análisis de los indicadores microbiológicos**

**a. Recuento de Aerobios mesófilos**

Para el análisis de aerobios mesófilos o microorganismos a 30°C acorde a la ISO 4833-1 (Figura 4.) se realiza la suspensión inicial en una proporción de 1:10 con el diluyente APS (Agua peptonada salina) y se realizan al menos tres diluciones sucesivas para poder encontrar placas dentro del rango contable.



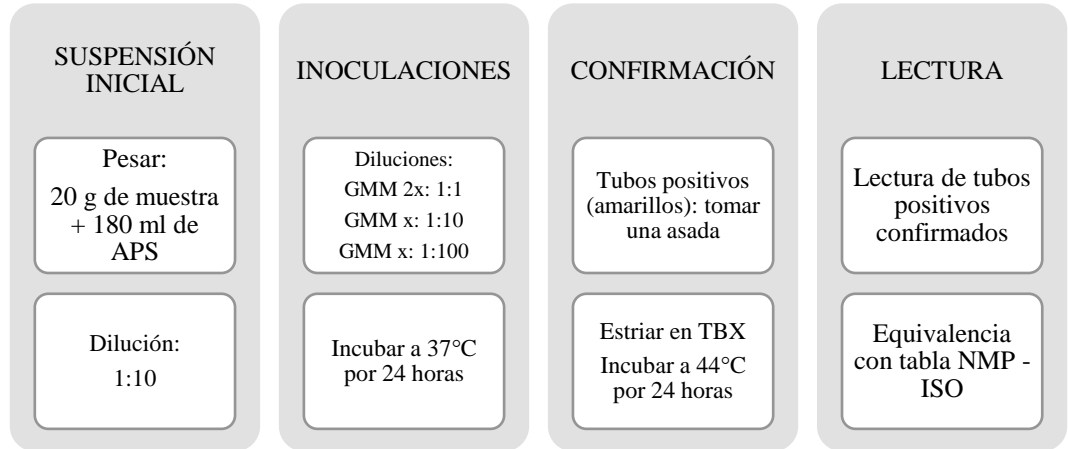
**Figura 4. Esquema para el recuento de aerobios mesófilos según la ISO 4833-1**



**b. Enumeración de *Escherichia coli***

La enumeración de *E. coli* acorde a la ISO 16649-2 (Figura 5.) se realiza preparando una suspensión inicial de 1:10 con el diluyente APS (agua peptonada salina) y realizando el inóculo para 1g (1:1), 0.1g (1:10), 0.01g (1:100) y 0.001g (1:1000) como mínimo, si se sospecha que la muestra puede encontrarse más contaminada se pueden realizar más diluciones debido a que la interpretación en la tabla de equivalente de NMP de las lecturas se tomará hasta encontrar que la última dilución no presente ningún tubo virado (positivo) y se multiplicará por la dilución correspondiente considerando las tres últimas diluciones.

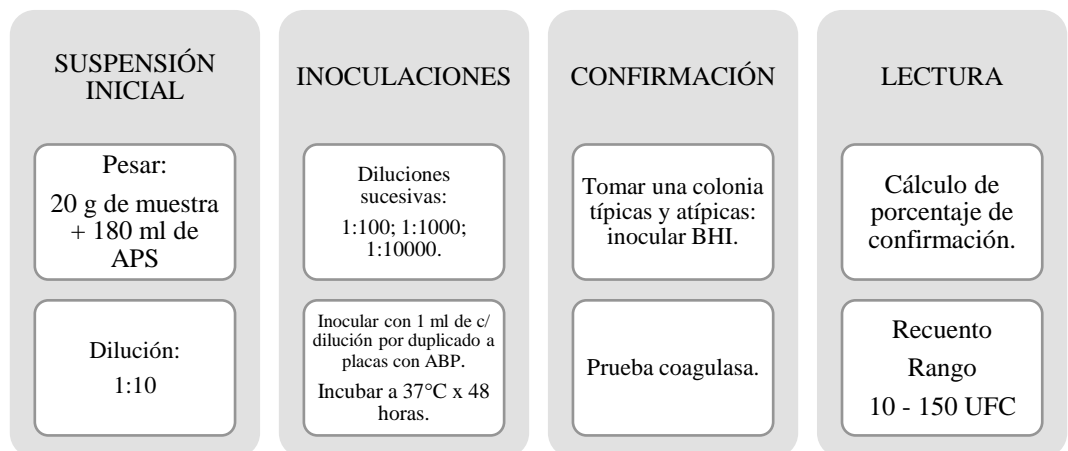
**Figura 5. Esquema para la enumeración de *E. coli* según la ISO 16649-2**



**c. Recuento de *Staphylococcus aureus***

Para el recuento de *S. aureus* según la ISO 6888-1 (Figura 6.) se prepara una suspensión inicial de 1:10 con APS y se realizan las diluciones sucesivas inoculando por extensión 1 ml del inóculo en placas de diámetro de 155 mm con medio de cultivo *Baird parker* conteniendo yema de huevo y telurito. Estos últimos reactivos permiten identificar el crecimiento de la colonia típica con un halo y centro negro.

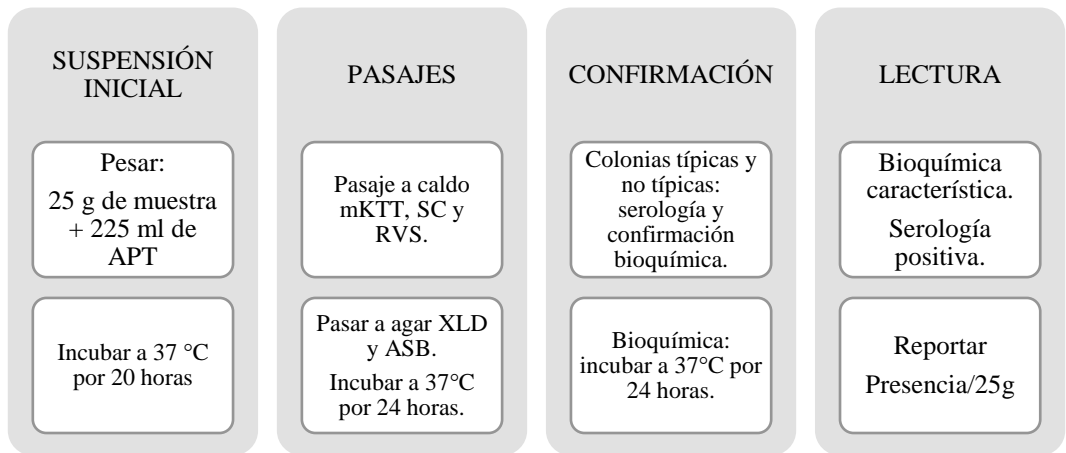
**Figura 6. Esquema para el recuento de *S. aureus* según la ISO 6888-1**



**d. Detección de *Salmonella spp.***

Para la detección de *Salmonella spp.* se emplea el medio APT (Agua peptonada tamponada) como medio de pre-enriquecimiento y como medios de cultivo de enriquecimiento selectivo se tiene al medio Muller Kaufmann tetracionato, al caldo selenito y al caldo Rappaport Vassiliadis como se muestra en la Figura 7. Y dentro de las bioquímicas se trabaja con medio TSI, úrea y antisueros O y H.

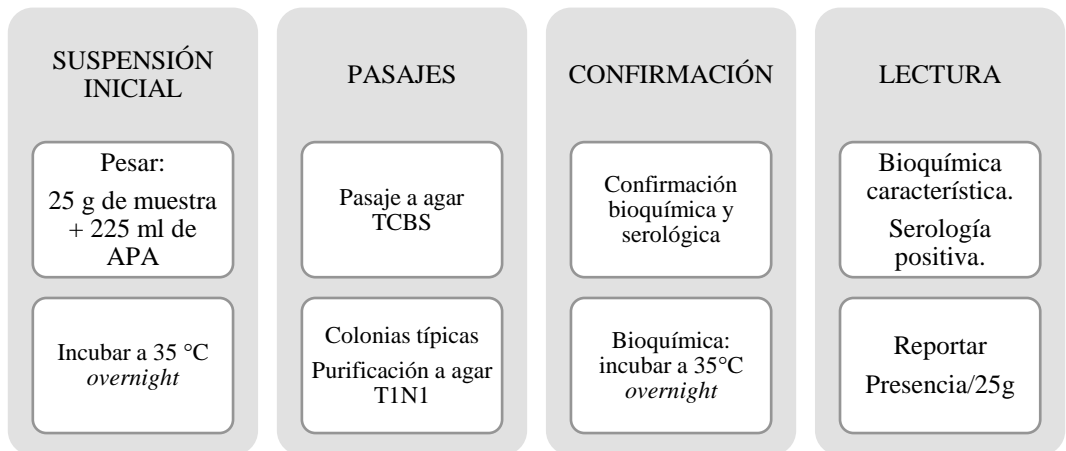
**Figura 7. Esquema para la detección de *Salmonella* según la ISO 6579-1**



**e. Detección de *Vibrio cholerae***

La detección de *V. cholerae* según la FDA en el capítulo de *Vibrios* (Figura 8.9) requiere del pre-enriquecimiento con caldo APA (agua peptonada alcalina) y se señala en el método realizar una primera incubación de 6-8 horas y una segunda incubación de la misma suspensión inicial *overnight*. Asimismo, se deberá tomar la asada para el pasaje a agar selectivo del crecimiento formado en la superficie del caldo incubado con la muestra.

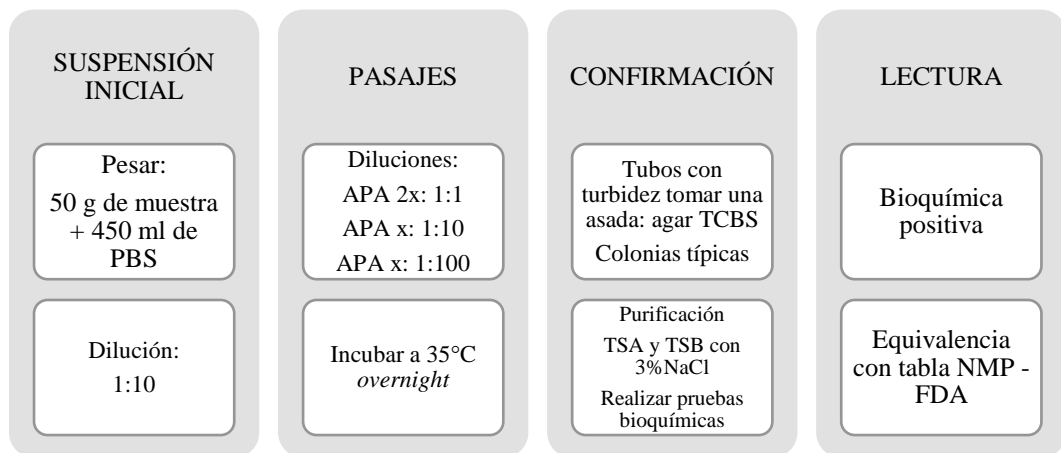
**Figura 8. Esquema para la detección de *V. cholerae* según la FDA**



**f. Enumeración de *Vibrio parahaemolyticus***

Para la enumeración de *V. parahaemolyticus* se prepara una suspensión inicial de 1:10 pesando 50 gramos de muestra en el diluyente PBS (Tampón fosfato salino, de sus siglas en inglés) y se realiza diluciones sucesivas para 1g (1:1), 0.1g (1:10), 0.01g (1:100) y 0.001g (1:1000) como se muestra en la Figura 9. Dentro de las pruebas bioquímicas se evalúa la capacidad de consumir determinados aminoácidos como arginina, ornitina y la tolerancia a sal para determinar la especie de *Vibrio*.

**Figura 9. Esquema para la enumeración de *V. parahaemolyticus* según la FDA**



### **III. OBJETIVOS**

#### **Objetivo general**

Analizar el proceso de habilitación de analistas bajo la ISO 17025:2017 en ensayos microbiológicos para productos congelados de pota en el laboratorio SL S.A.C.

#### **Objetivos específicos**

- A. Realizar un análisis del proceso de capacitación del analista de la empresa SL S.A.C. acorde a los requerimientos de la ISO 17025:2017.
- B. Evaluar el desempeño de los analistas para productos congelados de pota.
- C. Realizar un análisis comparativo entre los analistas en función a su formación académica, tiempo de servicio y tipo de ensayo.
- D. Analizar las etapas críticas del proceso de habilitación para productos congelados de pota de los analistas de la empresa SL S.A.C.

## **IV. METODOLOGÍA**

### **Población**

Para el presente trabajo se consideró la participación de 6 analistas que actualmente están laborando en la empresa SL S.A.C. y pasaron por el proceso de habilitación bajo el Procedimiento Interno POS-N°080 de Habilidad y supervisión del personal de la empresa SL S.A.C. para productos congelados de pota de la matriz de productos hidrobiológicos cefalópodos.

Se codificó a cada analista como Analista-01 al Analista-06.

A continuación, se detallan los pasos de la metodología que permitirán que se analice el proceso de Habilidad del analista en ensayos microbiológicos desde la verificación del proceso interno de habilitación hasta las oportunidades de mejora a partir del estudio de las variaciones entre analistas.

#### **A. Paso 1: Verificación del proceso de entrenamiento del analista acorde a la ISO 17025:2017**

Se realizó la comparación entre los requerimientos de la norma ISO/IEC 17025:2017 y el Procedimiento Interno POS-N°080 de Habilidad y supervisión de la empresa SL S.A.C.

## **B. Paso 2: Evaluación del analista**

### **Metodología de evaluación del desempeño del analista**

Se tomaron las herramientas de la evaluación del desempeño del analista descritos en el Procedimiento Interno de la empresa POS-N°080 de la Habilitación y supervisión del analista. Las herramientas que se emplearon para la evaluación fueron:

- Lista de verificación de etapas de habilitación.
- Evaluaciones escritas.
- Evaluación de la precisión, veracidad, exactitud relativa, especificidad y sensibilidad a partir del análisis de muestras previamente inoculadas.

### **Métodos microbiológicos de ensayo**

Los métodos para los análisis microbiológicos usados son métodos normalizados ISO y FDA para los 6 indicadores de inocuidad alimentaria de la matriz de cefalópodos congelados, que son Aerobios mesófilos, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* y *Salmonella spp.*

### **Evaluación escrita**

La prueba escrita consistió en una serie de 7 preguntas enfocadas a las etapas del análisis microbiológico. Esta prueba escrita fue tomada por cada tipo de ensayo, obteniéndose 6 resultados de calificaciones por cada analista. De acuerdo con el procedimiento interno de Habilitación y supervisión del personal, el puntaje mínimo aprobatorio es 16/20.



### **Evaluación práctica de resultados de muestras inoculadas**

Se tomó la información del Registro de Habilitación Interno de los analistas REG-N°184 de la empresa. La evaluación de los resultados obtenidos por los analistas en proceso de habilitación a partir del análisis de muestras inoculadas con analitos de concentración conocida se basó en las fórmulas descritas en el Procedimiento Interno POS-N°080 que a su vez hace referencia a la ISO 5725-1: “Exactitud (veracidad y precisión) [...] Principios generales y definiciones”.

La evaluación práctica consistió en entregar al analista en proceso de habilitación 10 muestras por cada uno de los 6 ensayos microbiológicos. Cada muestra entregada fue previamente inoculada por el analista líder con un analito conocido en cuanto a concentración y tipo de microorganismo. Para poder otorgar la habilitación en muestras congeladas de pota y a su vez en la matriz de moluscos cefalópodos, se emplearon las muestras de anillas de pota congeladas, pasta de pota congelada y aleta de pota congelada.

En el caso de ensayos cualitativos las muestras se encontraban inoculadas con un microorganismo diana y un microorganismo no diana. Asimismo, las muestras se encontraban inoculadas con baja concentración, media concentración y alta concentración. Los criterios de aceptación con los que se evaluó a los analistas para dar conformidad a su habilitación se consideraron acorde al procedimiento interno vigente para la fecha de habilitación de cada analista.

**a. Ensayos cuantitativos**

Para los resultados de los ensayos de Recuento de Aerobios mesófilos y *S. aureus* se analizó primero que los resultados sigan una distribución normal y se calculó los parámetros de precisión y veracidad, este último en términos de porcentaje de recuperación como se muestra en la Tabla 1.

**Tabla 1. Fórmulas para el cálculo de precisión y veracidad para ensayos cuantitativos**

<b>Precisión</b>	<b>Veracidad</b>
$ \text{[LogA]}_{\text{máximo}} - \text{[LogA]}_{\text{mínimo}} $	$\% \text{ recuperación} = \frac{(\text{Valor central})}{(\text{Valor esperado})} \times 100\%$
A: valor obtenido por el analista.	Valor central: promedio de los valores obtenidos por el analista. Valor esperado: valor de referencia.

**b. Ensayos semi-cuantitativos**

Para los resultados de los ensayos de enumeración de *V. parahaemolyticus* y *E. coli* se analizó primero que sigan una distribución normal y se realizó la evaluación estadística haciendo uso de los parámetros de precisión y veracidad como se muestra en la Tabla 2.

**Tabla 2. Fórmulas para el cálculo de precisión y veracidad para ensayos semi-cuantitativos**

Precisión	Veracidad
$S_{Teórica} = k \times \sqrt{\frac{(\text{Log } (f))}{n}}$	$LI_{Ref} \leq A \leq LS_{Ref}$
<p>k: factor numérico para 10 muestras (k=0.58).            f: factor de dilución entre las diluciones sucesivas.            n: número de tubos por dilución.</p>	<p>A: cada valor obtenido por el analista.            LI<sub>Ref</sub>: Límite inferior de referencia en la Tabla de NMP el 95% de confianza.            LS<sub>Ref</sub>: Límite superior de referencia en la Tabla de NMP el 95% de confianza.</p>

**c. Ensayos cualitativos**

Para los ensayos de detección de *V. cholerae* y *Salmonella spp.* se analizó los resultados de ausencia y presencia en función al parámetro de exactitud relativa como se muestra en la Tabla 3.

**Tabla 3. Fórmulas para el cálculo de exactitud relativa, sensibilidad y especificidad para ensayos cualitativos**

<b>Exactitud relativa</b>	<b>Sensibilidad</b>	<b>Especificidad</b>
$\%ER = \frac{(a + b)}{N} \times 100\%$	$SN = \frac{a}{(a + a')} \times 100\%$	$ES = \frac{b}{(b + b')} \times 100\%$
a: número de resultados positivos coincidentes con inóculos positivos para la técnica. b: número de resultados negativos coincidentes con inóculos negativos para la técnica. N: número total de muestras analizadas.	a': número de resultados falsos negativos.	b': número de resultados falsos negativos.

**C. Paso 3: Análisis comparativo**

Se comparó los resultados obtenidos de las evaluaciones de desempeño de los analistas como precisión, veracidad y evaluaciones escritas por analista.

**D. Paso 4: Análisis de etapas críticas**

**Recolección de información**

- Se revisó la información contenida en el *Curriculum vitae* bajo el formato de la empresa para extraer la información de fecha de ingreso y experiencia previa.
- Se revisó el Registro Interno REG-N°184 de la evidencia de entrenamiento del personal para obtener la duración del proceso de habilitación de cada analista.
- Se obtuvo los resultados de la evaluación del desempeño a partir del Informe de Habilitación final de cada analista.

### **Análisis de problemas, posibles causas y efectos**

- Se realizó un análisis descriptivo mediante el empleo de gráficos para mostrar las características de tiempo de experiencia previa, formación académica y tiempo de duración del proceso de habilitación de cada analista.
- Se empleó un Diagrama de Ishiwaka para enfatizar en los puntos críticos del proceso de habilitación analizados.

### **Análisis estadístico no paramétrico de la información**

Los análisis estadísticos de los resultados de las comparaciones se realizaron usando el paquete estadístico R para la prueba de Kruskal-Wallis ( $p \leq 0.05$ ) y la prueba de rangos con signo de Wilcoxon ( $p \leq 0.1$ ) como métodos de análisis no paramétricos.

## **V. RESULTADOS**

A continuación, se presentan los resultados obtenidos a partir de la información de los 6 analistas que pasaron por el proceso de habilitación en la empresa SL S.A.C.

### **A. Verificación del cumplimiento del Procedimiento Interno para el Plan de Capacitación del analista con los requisitos de la norma ISO/IEC 17025:2017**

El procedimiento interno para la capacitación del personal (Anexo 3.) fue comparado con los requisitos generales y específicos de la norma ISO/IEC 17025:2017 relativos a la estructura, recursos, proceso y sistema de gestión en función a lo correspondiente a la labor del analista que trabaja en los ensayos microbiológicos de alimentos como se muestra en la Tabla 4.

El procedimiento interno de entrenamiento cumplió con los requisitos relativos a la estructura y del proceso. Sin embargo, no se encontró la evidencia descrita en el procedimiento interno de entrenamiento sobre la inclusión de los incisos 6.3.3. y 8.6.1. de los requisitos relativos a los recursos y sistema de gestión, respectivamente.

**Tabla 4. Plan de capacitación del personal en función a los requerimientos de la norma ISO/IEC 17025:2017**

<b>Inciso de la Norma</b>	<b>Inciso general</b>	<b>Descripción</b>	<b>Inciso del Plan de capacitación del personal</b>	<b>Tipo de capacitación</b>	<b>Conclusión</b>
5.6.	5. Requisitos relativos a la estructura	El analista debe identificar desviaciones del sistema de gestión de la calidad	6.A.	T	✓
		El analista debe garantizar que se trabaje eficazmente	Del 1 al 7	T/P	✓
6.2.1.	6. Requisitos relativos a los recursos	El analista debe demostrar competencia y trabajar asegurando la calidad	Del 1 al 7	T/P	✓
6.2.6		El analista debe estar autorizado para desarrollar, modificar, verificar y validar métodos	5	T/P	✓
		El analista deberá demostrar la capacidad de analizar los resultados	5.E.	T	✓
6.3.3.		El analista deberá verificar las condiciones ambientales	F	F	F
6.4.1.		El analista deberá tener acceso a materiales, reactivos y consumibles para el análisis	2.B.	T	✓
6.4.4.		El analista deberá verificar el buen funcionamiento de los equipos	3.A.	T	✓
7.5.1.	7. Requisitos del proceso	El analista debe completar los registros técnicos para cada actividad	7.A.	T	✓
7.7.1.		El analista debe incluir el uso de materiales de referencia	2.B.	T	✓
8.6.1.	8. Requisitos del sistema de gestión	El analista debe identificar oportunidades de mejora	F	F	F

Fuente: Elaboración propia.

## B. Evaluación del analista

### Verificación de etapas de proceso de habilitación

Dentro de procedimiento interno de habilitación y supervisión del personal se encuentran descritas las etapas de Inducción, entrenamiento y evaluación del analista (Tabla 5.). A partir de la recolección de información se encontró que los 6 analistas conocieron las diferentes áreas internas del laboratorio de Microbiología, así como las diferentes áreas dentro de la empresa con las que trabaja en conjunto el laboratorio como parte de la Inducción. Sin embargo, a 4 analistas no se les informó detalladamente sus funciones. Asimismo, en el procedimiento interno, en la parte de entrenamiento, se señala que el analista deberá observar a los analistas con experiencia y habilitados realizando diferentes etapas de los ensayos microbiológicos. No obstante, se encontró sin el visto bueno el casillero de 3 de los analistas en dicha fase del proceso de habilitación. Además, 4 analistas no pasaron por la etapa de trabajo bajo supervisión del analista líder, como se señala en el procedimiento interno. Y para la etapa de evaluación, se encontró que fue realizada para los 6 analistas en proceso de habilitación.

**Tabla 5. Verificación de etapas del proceso de habilitación por analista**

Etapa	Sub-etapa	Analista 1	Analista 2	Analista 3	Analista 4	Analista 5	Analista 6
Inducción	Visita a todas las áreas	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	Explicación del MOF	✓	✓	F	F	F	F
Entrenamiento	Observación	✓	✓	F	F	✓	F
	Trabajo bajo supervisión del analista líder	✓	✓	F	F	F	F
	Trabajo individual-independiente	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Evaluación	Evaluación teórica	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	Evaluación práctica	✓	✓	✓	✓	✓	✓

Fuente: Elaboración propia.



## Evaluación escrita

Los conceptos evaluados para la prueba escrita (Tabla 6.) se describen a continuación.

Cada una de las etapas respondió a las etapas generales de análisis microbiológico de cada método de ensayo.

**Tabla 6. Valoración del contenido de la evaluación escrita**

Contenido	Valoración
Proceso de preparación y homogeneización de la muestra	4
Diluyente utilizado y diluciones	1
Temperaturas de incubación de cada etapa	2
Criterios de aseguramiento de la calidad del método	3
Control positivo y control negativo	2
Rango contable y/o características bioquímicas	4
Cálculo de resultado de una muestra problema	4

Fuente: Elaboración propia.

De los 6 analistas solo 3 obtuvieron un puntaje aprobatorio en todas las evaluaciones (Tabla 7.). Para los analistas que tuvieron puntajes menores a 16 se encontró que dichas evaluaciones correspondían a tipos de ensayos microbiológicos cuantitativos o semicuantitativos, mientras que los puntajes mayores se obtuvieron en las pruebas correspondientes a ensayos cualitativos.

**Tabla 7. Promedios de la evaluación escrita por analista**

Analista	Evaluación escrita	Puntaje mínimo	Puntaje máximo
Analista 1	19 ± 1	18	20
Analista 2	19 ± 1.7	16	20
Analista 3	17 ± 3.2	13	20
Analista 4	14 ± 2.3	11	16
Analista 5	19 ± 1.6	16	20
Analista 6	16 ± 2.1	13	19

### Evaluación práctica

Para los ensayos cuantitativos y semicuantitativos, primero se evaluó que los resultados obtenidos de las 10 repeticiones por cada ensayo para el cálculo de la precisión y la veracidad tuvieran una distribución normal. Al tener una distribución normal, se procedió a calcular los valores según lo señalado en las tablas 1 y 2.

Se observó que todos los analistas tuvieron conformidad en relación con sus valores de precisión y veracidad para los ensayos de Recuento de Aerobios mesófilos, Recuento de *Staphylococcus aureus*, Enumeración de *Escherichia coli* y Enumeración de *Vibrio parahaemolyticus* (Tabla 8).

**Tabla 8. Conformidad de la Precisión y Veracidad para análisis Cuantitativos y Semicuantitativos por analista**

Producto	Anillas		Pasta		Aleta	
	Precisión	Veracidad	Precisión	Veracidad	Precisión	Veracidad
Analista 1	C	C	C	C	C	C
Analista 2	C	C	C	C	C	C
Analista 3	C	C	C	C	C	C
Analista 4	C	C	C	C	C	C
Analista 5	C	C	C	C	C	C
Analista 6	C	C	C	C	C	C

C: Conforme; NC: No conforme

Fuente: Elaboración propia.

Teniendo en consideración que el procedimiento interno señala un criterio de aceptación de 100% para los ensayos cualitativos, se encontró que 3 analistas tuvieron conformidad en los 3 productos y 3 tipos de valores. Mientras que de los 3 analistas que tuvieron al menos una evaluación desaprobatoria, 2 de ellos solo aprobaron en la prueba de especificidad. Siendo el analista 4 el que presentó la mayor cantidad de evaluaciones desaprobadas como se observa en la Tabla 9.

**Tabla 9. Conformidad de la Exactitud relativa, sensibilidad y especificidad para análisis Cualitativos por analista**

Producto	Anillas			Pasta			Aleta		
	ER	SN	ES	ER	SN	ES	ER	SN	ES
Analista 1	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Analista 2	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Analista 3	NC	NC	C	NC	NC	C	NC	NC	C
Analista 4	NC	NC	C	NC	NC	NC	NC	NC	NC
Analista 5	C	C	C	C	C	C	C	C	C
Analista 6	NC	NC	C	NC	NC	C	NC	NC	C

C: Conforme; NC: No conforme; ER: Exactitud relativa; SN: Sensibilidad; ES: Especificidad.

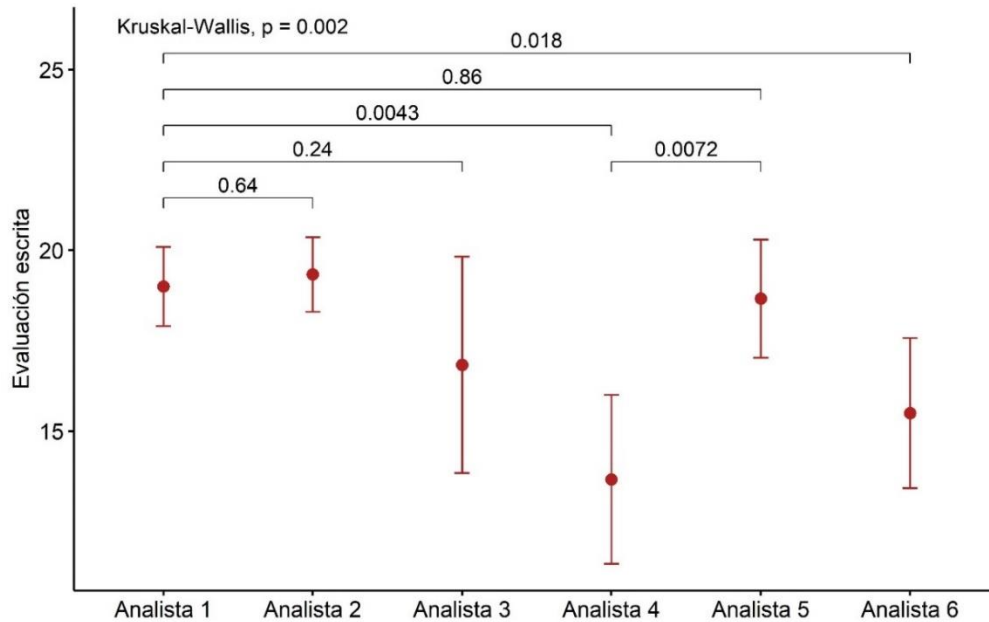
Fuente: Elaboración propia.

### C. Análisis comparativo

Al aplicar la prueba de Kruskal-Wallis se encontró que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas de los puntajes de evaluación escrita de los analistas ( $p = 0.002 \leq 0.05$ ).

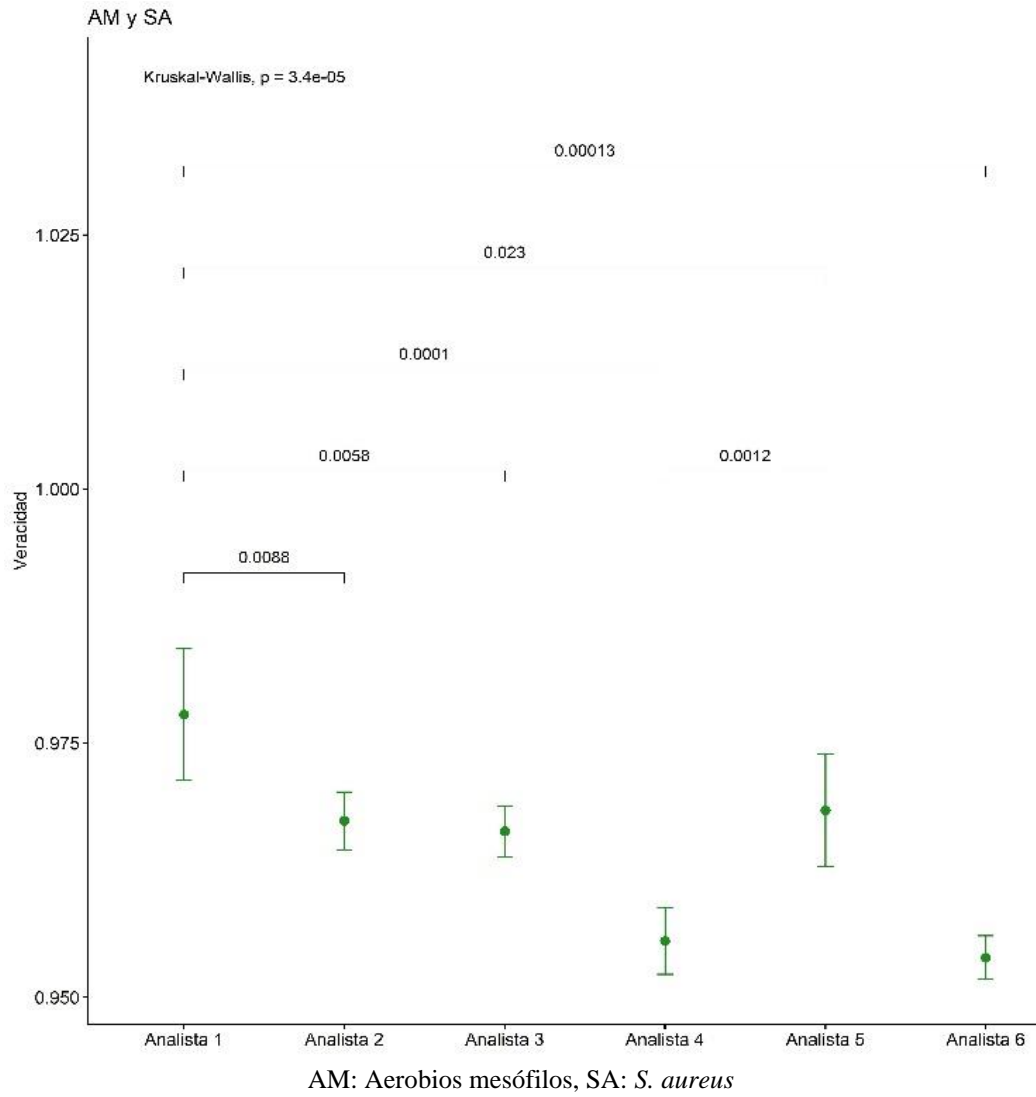
Como se observa en la Figura 10. los analistas 1, 2 y 5 presentaron puntajes altos y cercanos a 20, siendo el analista 4 quien presentó el puntaje más bajo. Luego de realizar el análisis de Wilcoxon se pudo determinar que no existe una diferencia significativa entre las medianas de los analistas 1, 2, 3 y 5. Sin embargo, se observa que los puntajes del analista 3 se encuentran más dispersos considerando su valor mínimo y máximo.

**Figura 10. Comparación de medianas de los puntajes de evaluación escrita entre analistas**



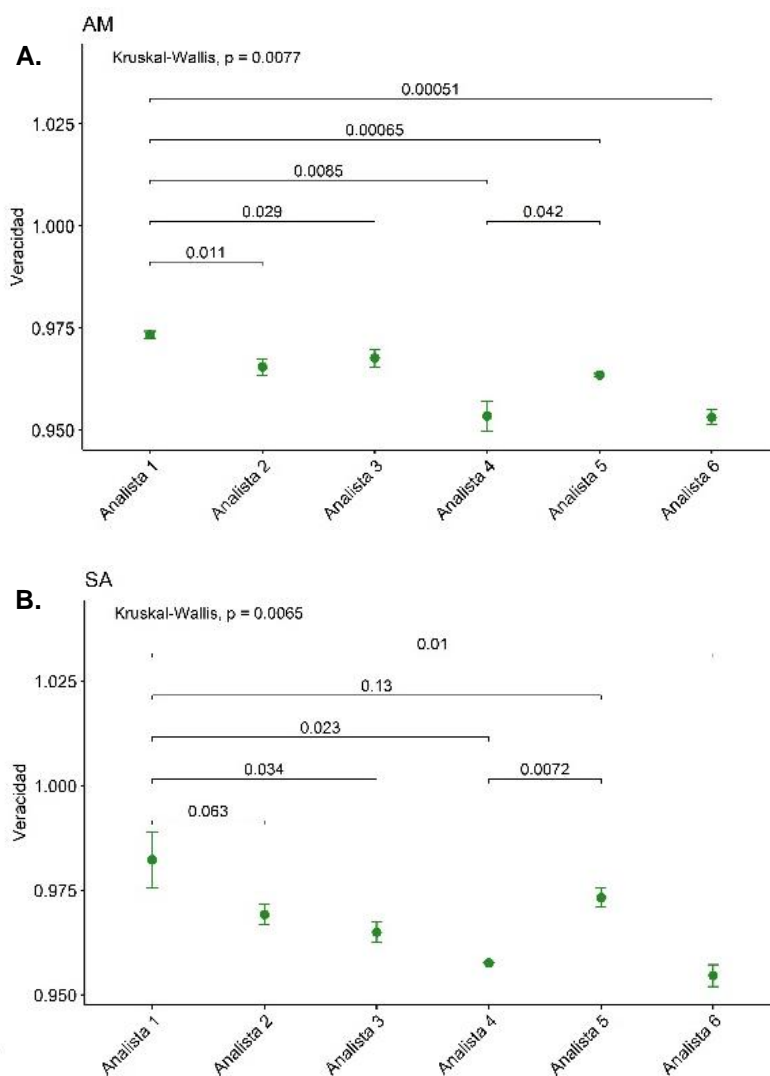
Con relación al cálculo de la veracidad de los resultados obtenidos por los analistas para los ensayos semicuantitativos de *E. coli* y *Vibrio parahaemolyticus*, se encontró que los 6 analistas tuvieron un valor de 100% de veracidad es por ello por lo que no se precisó hacer una gráfica. Para los ensayos cuantitativos de Recuento de Aerobios mesófilos y Recuento de *Staphylococcus aureus*, el analista 1 tuvo una mayor veracidad en relación con los analistas 4 y 6, que fueron quienes obtuvieron los valores más bajos de veracidad (Figura 11.). Sin embargo, se obtuvo valores de veracidad entre 95% y 100%, siendo todo mayores al criterio mínimo de aceptación de 70%.

**Figura 11. Comparación de los valores de veracidad entre analistas para ensayos cuantitativos. Prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ( $p \leq 0.05$ ) (n=6)**



Para analizar qué tipo de ensayo aportó a la mayor o menor veracidad de cada analista, se realizó la prueba entre las 3 repeticiones por cada analista para cada ensayo microbiológico (Figura 12. A. y B.) No obstante, se observó que tenían un comportamiento similar para ambos tipos de ensayo, observándose solo que el analista 1 tuvo una mayor veracidad para el ensayo de *S. aureus* (Figura 12. B.) en comparación con el de Aerobios mesófilos.

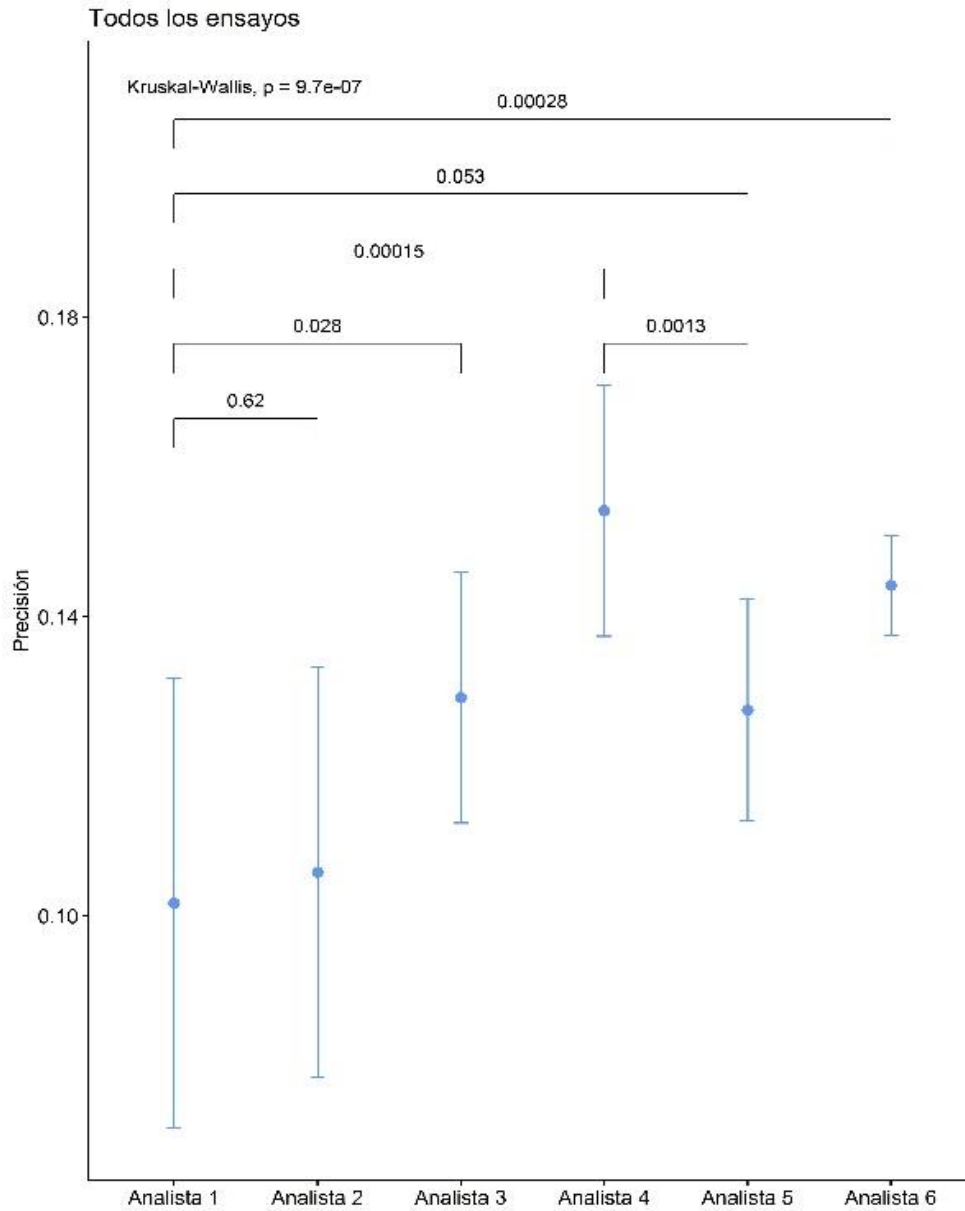
**Figura 12. Comparación de los valores de veracidad entre analistas por tipo de ensayo: A. Recuento de Aerobios mesófilos B. Recuento de *S. aureus***



Para los valores de precisión se considera que un valor más bajo indica una mejor precisión. La precisión obtenida por los analistas para los ensayos cuantitativos y semicuantitativos muestra que los analistas 1 y 2 tienen una mejor precisión, asimismo el analista 4 muestra ser el menos preciso. Mientras que los analistas 3 y 5 poseen un valor de precisión similar entre sí (Figura 13.).

**Figura 13. Comparación de los valores de precisión entre analistas para ensayos cuantitativos y semicuantitativo. Prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ( $p \leq 0.05$ )**

(n=6)

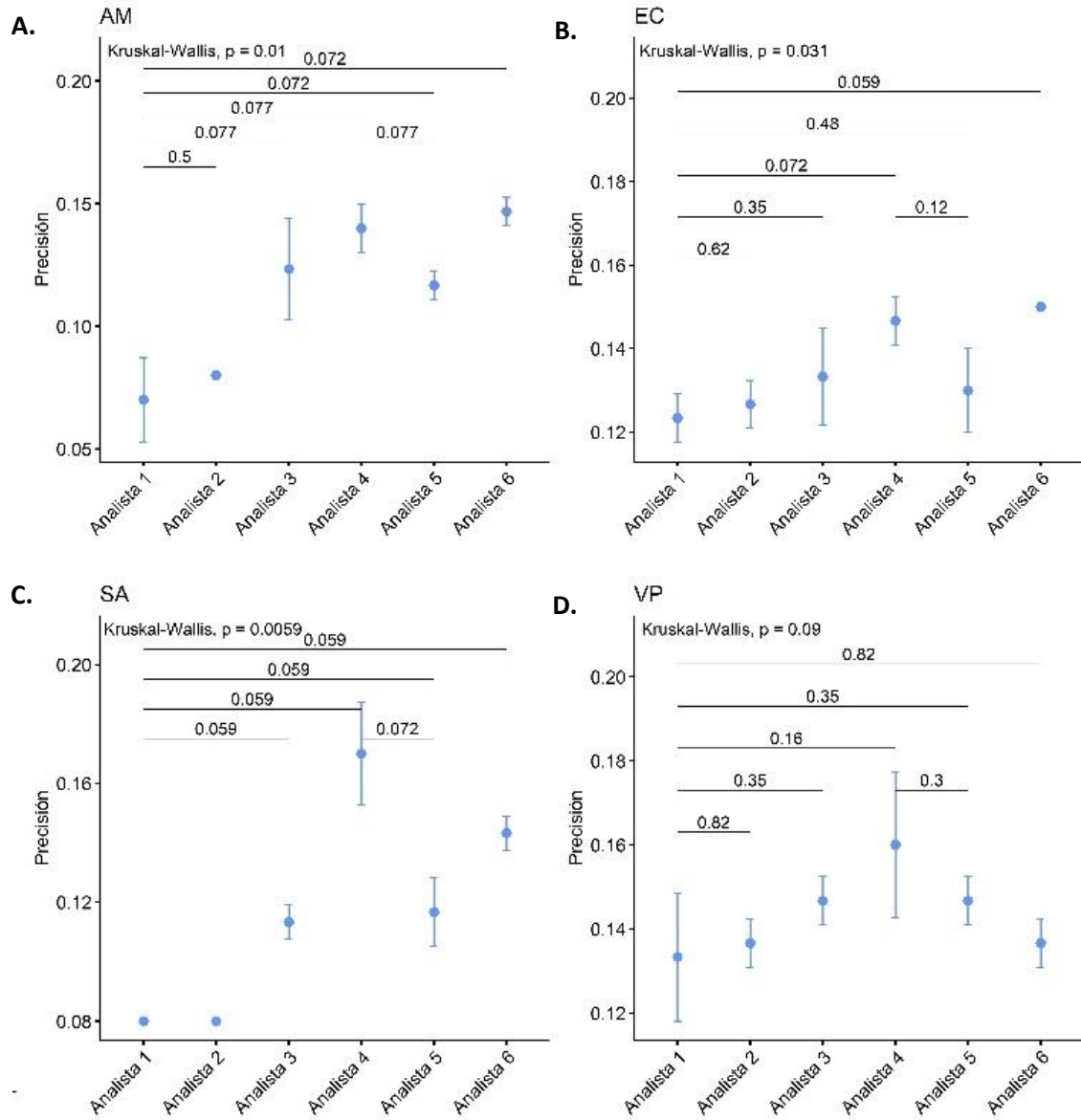




Asimismo, se analizó las 3 repeticiones para cada uno de los ensayos cuantitativos y semicuantitativos y la prueba de Kruskal-Wallis sugiere que existe diferencia significativa entre al menos 2 de los analistas para los ensayos de Aerobios mesófilos (Figura 14. A.), *E. coli* (Figura 14. B.) y *S. aureus* (Figura 14. C.), más no para *V. parahaemolyticus* (Figura 14. D.). Sin embargo, los valores de Wilcoxon mostrarían diferencias significativas para la comparación entre analistas solo si se considera un nivel de confianza del 90%. Asimismo, se observa que los analistas tuvieron una mejor precisión para los ensayos cuantitativos que para los ensayos semicuantitativos.

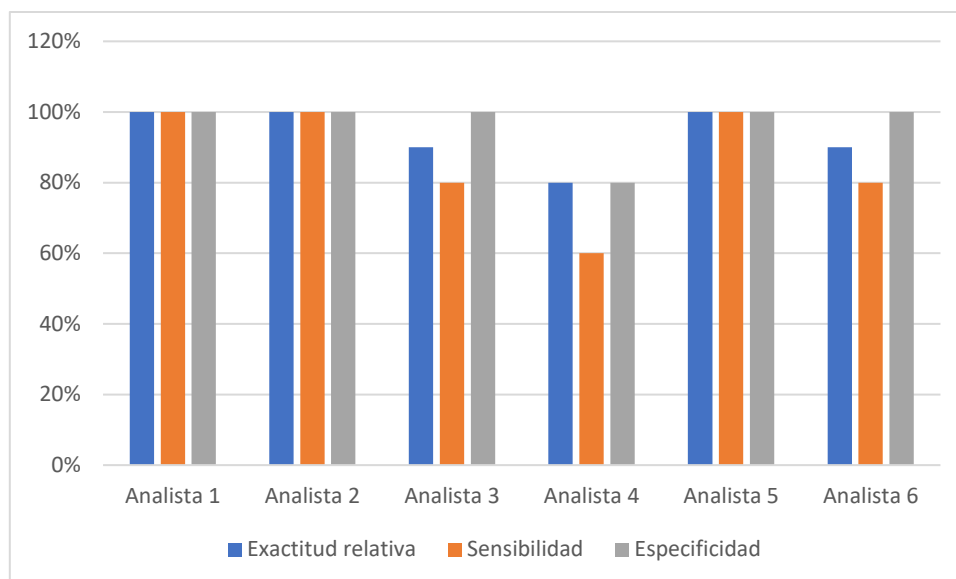
**Figura 14. Comparación de los valores de precisión entre analistas por tipo de ensayo:**

**A. Aerobios mesófilos B. *E. coli* C. *S. aureus* D. *V. parahaemolyticus***



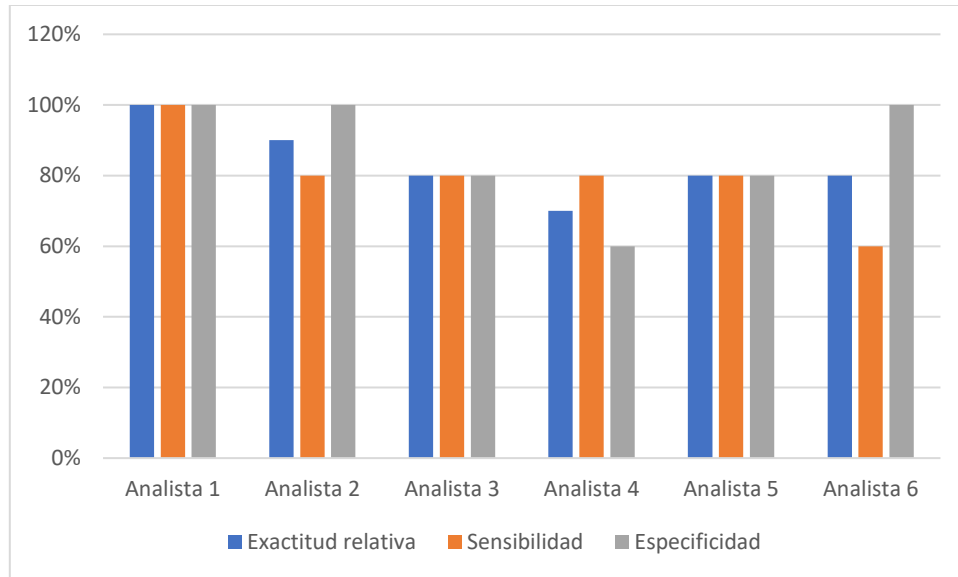
En relación con los ensayos cualitativos, para el ensayo de Detección de *Salmonella spp.* se observa en la Figura 15. que los analistas 1, 2 y 5 poseen una exactitud relativa, sensibilidad y especificidad del 100%. El analista 4 posee el valor más bajo de sensibilidad y especificidad. Asimismo, todos los analistas a excepción del 4, poseen una especificidad del 100%.

**Figura 15. Evaluación de exactitud relativa, sensibilidad y especificidad para el ensayo de Detección de *Salmonella spp.***



Para el segundo ensayo cualitativo de Detección de *V. cholerae* se encontró que solo el analista 1 presenta el 100% en los tres parámetros, mientras que solo los analistas 2 y 6 presentan 100% para el parámetro de especificidad. Siendo el analista 4 el que presenta el menor valor de especificidad y el analista 6, el menor valor de sensibilidad. Todos los analistas presentan un valor de sensibilidad  $\leq 80\%$  a excepción del analista 1 (Figura 16.)

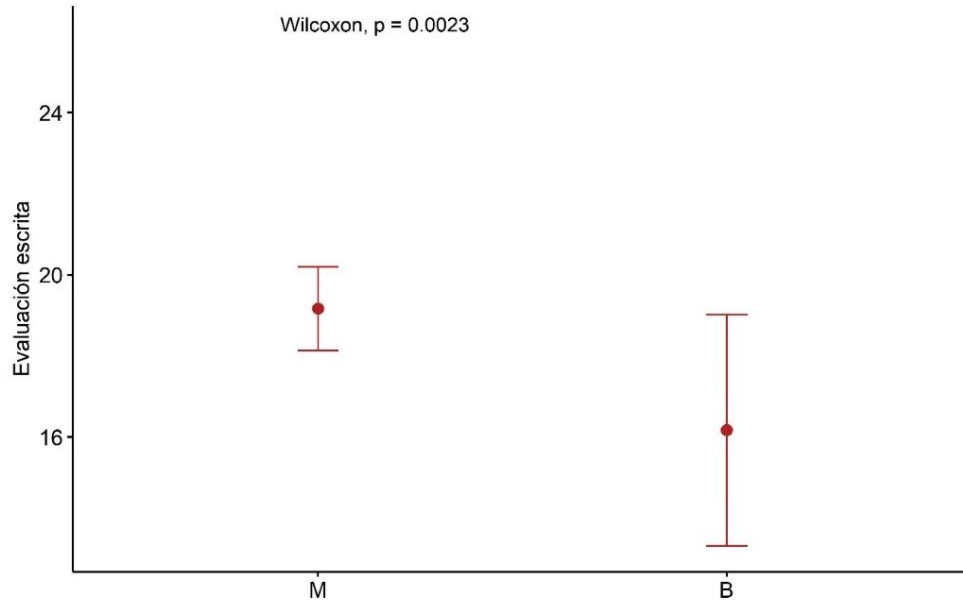
**Figura 16. Evaluación de exactitud relativa, sensibilidad y especificidad para el ensayo de Detección de *V. cholerae***



Las variables experiencia laboral y formación académica se encontró que no eran variables independientes. Dentro de la población estudiada se encontró que, de los 6 analistas, 2 tenían una formación profesional de Biólogos con especialidad en Microbiología y 4 analistas tenían una formación de Biólogos sin ninguna especialización en particular. Asimismo, 3 de los analistas, los 2 microbiólogos y un biólogo tuvieron de 2 a más años de experiencia laboral previa al ingreso a la empresa SL S.A.C.

Los analistas con especialización en microbiología presentaron puntajes de su prueba escrita más altos que los que tuvieron una formación de biólogos en general (Figura 17.).

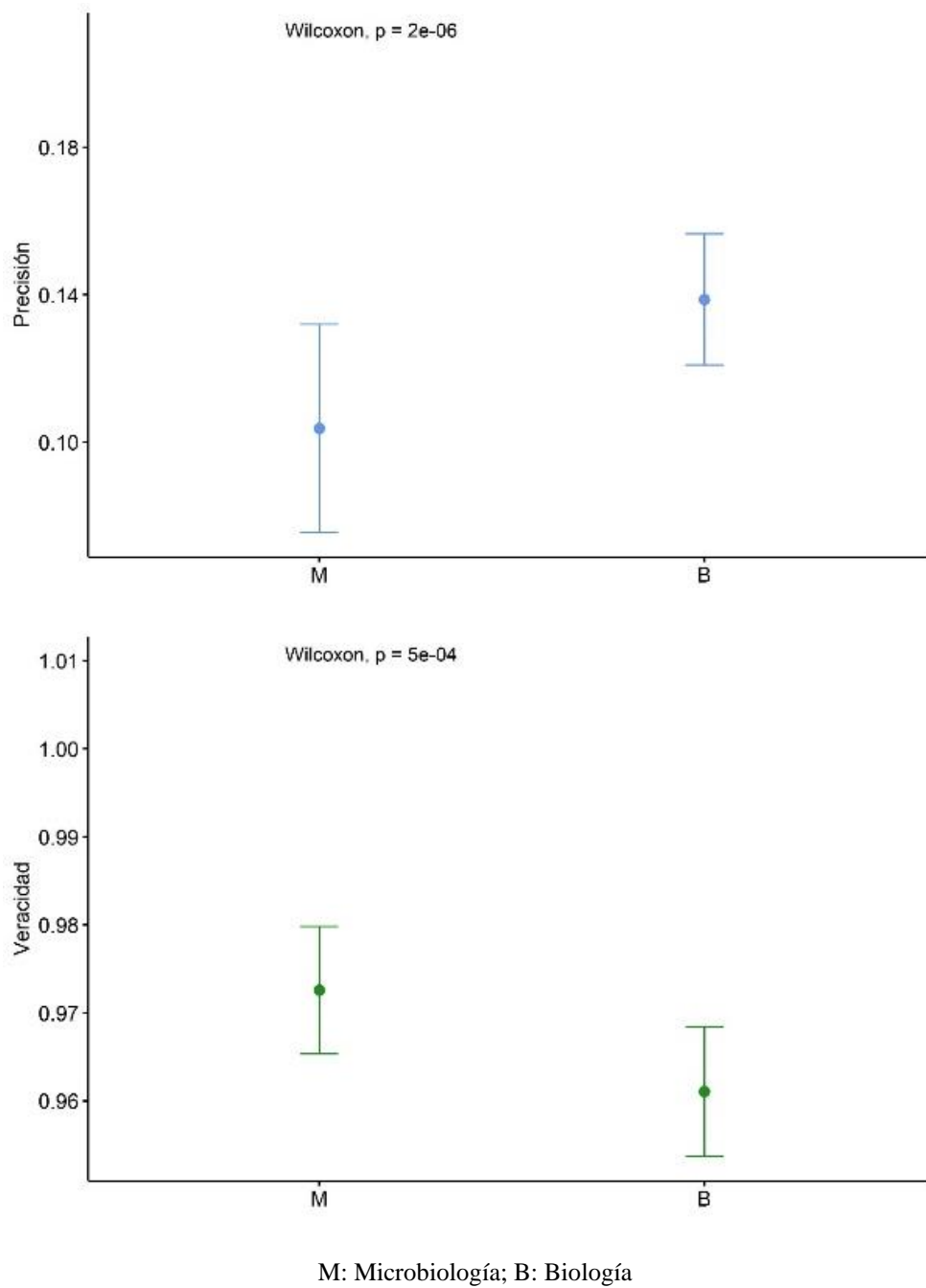
**Figura 17. Puntajes de evaluación escrita por tipo de formación profesional y experiencia laboral (n=6)**



M: Microbiología; B: Biología.

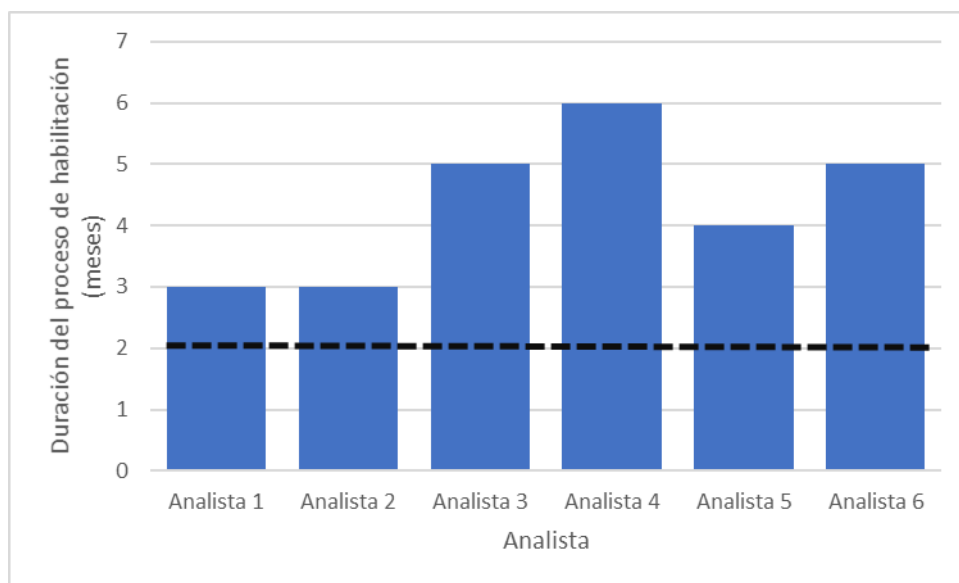
En relación con los valores de precisión y veracidad se encontró que los analistas con una formación en microbiología tuvieron mejores parámetros de precisión y veracidad que aquellos que solo tuvieron una formación de biólogos. (Figura 18.).

**Figura 18. Puntajes de precisión y veracidad por tipo de formación profesional y experiencia laboral (n=6)**



El plan de entrenamiento contempla actividades que deberían tomar un total de 1 – 2 meses en la ejecución. Sin embargo, se observa en la Figura 19. que los procesos de habilitación de los analistas para productos hidrobiológicos toman más de lo establecido. Siendo el analista 4 el que tardó más en su proceso de habilitación, seguido de los analistas 3 y 6. Asimismo, los analistas 1 y 2 fueron quienes tuvieron un menor tiempo de proceso de habilitación, quienes además tuvieron una formación universitaria en microbiología y más años de experiencia laboral respecto a los otros analistas.

**Figura 19. Tiempo de duración (meses) del proceso de habilitación por analista**

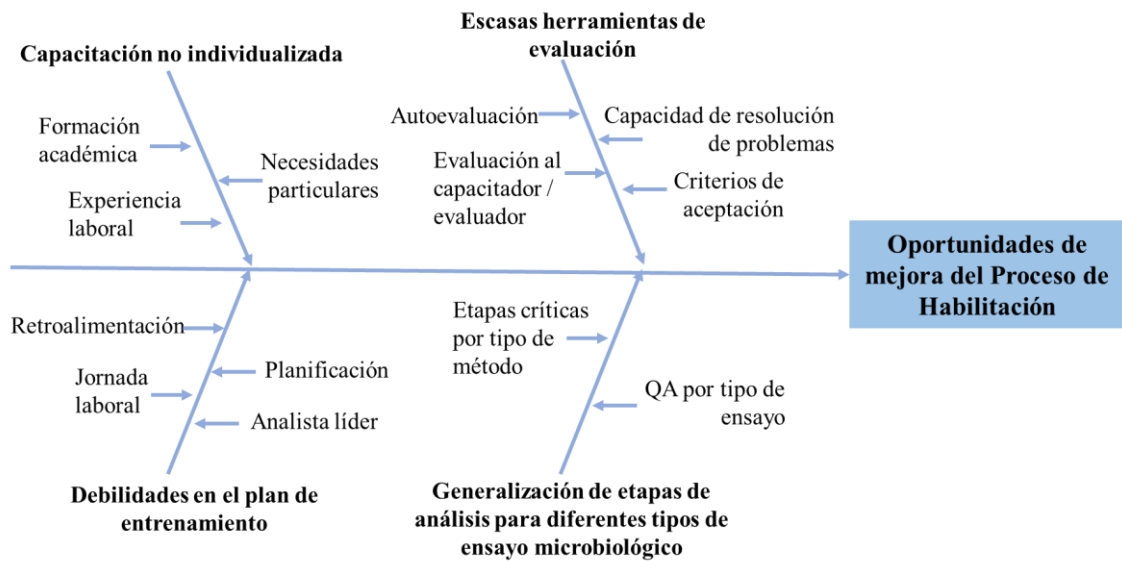


- - - -: Tiempo que debería tomar el proceso de habilitación según Procedimiento Interno.

## D. Análisis crítico del proceso de habilitación

Mediante la revisión del procedimiento interno y los resultados de los analistas, se identificó los siguientes puntos críticos (Figura 20.):

**Figura 20. Identificación de puntos críticos del proceso de habilitación**



Fuente: Elaboración propia.

### Capacitación no individualizada

- **Formación académica y experiencia laboral:** El análisis de la población de trabajo permitió inferir que poseer más experiencia y tener una especialidad en Microbiología significaría tener un mejor desempeño debido a que ambas variables no fueron independientes en el presente estudio. El tener una especialización en el área de Microbiología permitió una mayor familiarización con los términos y técnicas mientras que a los biólogos sin especialización podría tomarles más tiempo el periodo de interiorización de conceptos y fundamentos.



- **Necesidades particulares:** Se consideró importante el uso de herramientas para identificar las necesidades particulares de cada analista antes de iniciar el plan de capacitación. En función al tipo de formación profesional recibida y evaluación de su experiencia previa.

### **Herramientas para la evaluación**

- **Autoevaluación:** Los analistas que presentaron puntajes bajos en las pruebas escritas o valores bajos en las pruebas estadísticas para la evaluación práctica podrían haber sido conscientes de sus debilidades y fortalezas frente a los conocimientos con una autoevaluación inicial.
- **Capacidad de resolución de problemas:** La diferencia entre los puntajes escritos y evaluación práctica evidencia que durante el escenario real se suscitaron problemas o situaciones de toma de decisiones por resolver e intervinieron más variables durante el análisis. Se consideró importante la evaluación de la capacidad de resolución de problemas del analista para poder analizar y/o tener en consideración la autonomía del analista.
- **Evaluación al evaluador:** La participación del evaluador significó una inversión de tiempo y se consideró importante añadir una evaluación al evaluador para ver si las herramientas o la comunicación entre el evaluador y el analista fue significativa e interiorizada por parte del analista.
- **Criterios de aceptación:** Los criterios de aceptación usados se basaron en herramientas empleadas para la validación o verificación de métodos; sin embargo, para evaluar al analista intervienen más factores. Asimismo, se refleja en que solo se tomaron dos tipos de evaluaciones al analista.

## Plan de entrenamiento

- **Retroalimentación:** No se observó la retroalimentación oportuna para poder hacer del proceso de habilitación un proceso más corto y corregir o evaluar oportunamente las destrezas del analista.
- **Jornada laboral:** El plan de entrenamiento del analista es tan importante como realizar las actividades de rutina y producción diaria, debido a que el tiempo invertido en formar y evaluar al analista generará a corto plazo un analista con las habilidades requeridas para la emisión de resultados. Se observó que el analista invertía tiempo en actividades para las cuales todavía no estaba totalmente entrenado.
- **Planificación:** Se consideró que existen dos posibles motivos de retraso en el proceso de entrenamiento del analista:
  - a. Complejidad de los métodos, teniendo que repetirse la toma de evaluaciones para conseguir la aprobación.
  - b. Falta de tiempo para dar inicio o culminar etapas de entrenamiento o evaluación completas por ingreso de altas cantidades de muestra y trabajo de rutina.
- **Analista líder:** Se observó que el analista líder concentraba todas las actividades del proceso de habilitación del personal, haciéndose también imprescindible su presencia o participación para que continúe el proceso de habilitación, dejando de lado el potencial de los analistas que también cuentan con experiencia.

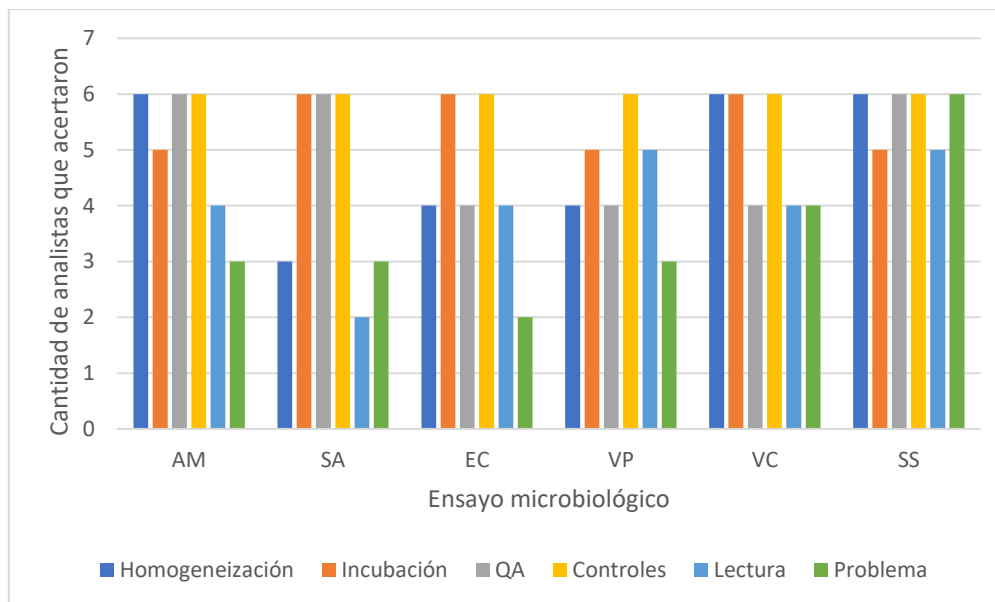
### **Particularidad de cada tipo de ensayo microbiológico**

Las etapas de cada tipo de análisis microbiológico se pueden agrupar de forma general como se observa en la Figura 21. Se puede observar que la mayor cantidad de aciertos se encuentra en los ensayos cualitativos y el de Aerobios mesófilos. La etapa de QA o *Quality Assessment* está relacionada con el conocimiento y puesta en práctica de todos los controles para el aseguramiento de la calidad que se requiere por cada tipo de ensayo microbiológico. Para la cual se observó una menor cantidad de aciertos en los ensayos semicuantitativos y el de *V. cholerae*.

Las etapas de incubación y controles consisten en el conocimiento teórico de la temperatura ideal para el crecimiento óptimo de cada microorganismo y los controles positivos y negativos, respectivamente, y representó un nivel aceptable de aciertos entre analistas.

Las etapas que alcanzaron niveles más bajos en todos los tipos de ensayo fueron las de “Lectura” y “Problema”. La primera corresponde a la interpretación de los resultados obtenidos, la identificación de colonias típicas o atípicas, según la morfología, tamaño y características descritas por el método y la segunda etapa mencionada consiste en la capacidad de realizar cálculos o confirmaciones bioquímicas a partir de los resultados observados.

**Figura 21. Evaluación de los analistas en función a las etapas del análisis por tipo de ensayo**



AM: Aerobios mesófilos; SA: *S. aureus*; EC: *E. coli*; VP: *V. parahaemolyticus*; VC: *V. cholerae*; SS: *Salmonella spp.*

## **VI. DISCUSIÓN**

### ***Proceso de habilitación del analista***

La norma ISO/IEC 17025:2017 determina los lineamientos bajo los cuales debe trabajar un laboratorio de ensayo acreditado. La norma; sin embargo, no señala la forma en la que dichos requerimientos deben ser llevados a cabo, siendo la empresa la que implementa procedimientos que posteriormente son auditados y deberán cumplir con las exigencias de la norma (ISO, 2017). Mediante la revisión del procedimiento interno se identificó que no se especificaba un inciso que consideró la formación del analista con relación a la mejora continua. El involucrar a los analistas en la mejora continua implica enfatizar en la importancia de no trabajar solo para el cumplimiento de los objetivos de producción de rutina sino también evaluando los procesos constantemente para evidenciar oportunidades de mejora (Catini *et al.* 2015). El analista conforme va adquiriendo más experiencia se encuentra en la capacidad de participar de forma activa en la mejora de los procesos (Cisneros & Ruíz, 2012) y es importante que ello sea difundido en la etapa de entrenamiento.

Acerca del inciso relacionado con las condiciones ambientales, el laboratorio cuenta con un procedimiento y registro para mantener los límites máximos permitidos de carga microbiana en superficies ( $SIR < 0.1 \text{ UFC/cm}^2$ ) y de la calidad microbiana del aire (Exposición de placa  $< 15 \text{ UFC/Placa/15'}$ ) en los cubiles de análisis; mediante las técnicas microbiológicas de exposición de placas e hisopado. El no tener la indicación desde el inicio, de revisar las condiciones antes de trabajar podría no permitirle ser consciente de interpretar bien los resultados del análisis o plantear alternativas de solución para un trabajo sin riesgo de contaminación (Pullés *et al.* 2006).

### ***Evaluación del analista y análisis comparativo***

La comunicación de las actividades correspondientes al analista es una herramienta que le permite comprometerse y responsabilizarse por los resultados y objetivos de sus labores. Asimismo, el trabajo bajo supervisión se considera importante porque permite realizar una retroalimentación en el momento de la ejecución del ensayo microbiológico por parte del analista para corregir o mejorar alguna práctica (Morán, 2016).

La diferencia encontrada entre los resultados de los dos tipos de evaluaciones, siendo mejor el puntaje obtenido en evaluación escrita para los ensayos cualitativos y en la parte práctica para los ensayos cuantitativos y semicuantitativos, puede explicarse en que para las pruebas escritas no se le permitió al analista revisar ningún material de referencia, como diagramas operativos o el método estandarizado (POS-N°080, SL S.A.C.). Para determinar la ausencia o presencia de un microorganismo en ensayos cualitativos se debe reconocer determinadas características metabólicas y fenotípicas evidenciadas en diferentes medios de cultivo selectivos (ISO 6579, 2020; FDA, 2004). Información que pudo ser memorizada para la prueba escrita, mientras que al realizar tipos de ensayo cuantitativos y semicuantitativos se requiere tener conocimientos de la fórmula a aplicar, de los rangos de valores contables (ISO 7218, 2007) valores estimados y recuentos con confirmación, así como también la conversión de los resultados teniendo en consideración la dilución para valores de número más probable. Mientras que para el análisis microbiológico de las muestras inoculadas, se hizo énfasis en evaluar el resultado final en UFC/g permitiéndole al analista usar las herramientas necesarias para llegar a dicho resultado. Asimismo, al tener un amplio criterio de aceptación se permite disminuir la probabilidad de resultados no conformes de precisión y veracidad a causa del error en los conteos, propios del crecimiento y desarrollo bacteriano (Martínez, 2016).

También se considera que al poseer un mismo inóculo todas las 10 repeticiones de cada muestra para los ensayos cuantitativos y semicuantitativos, el analista puede subestimar la variación entre los resultados de las repeticiones (Berg, 1994), en función al valor más frecuente que obtenga. Asimismo, para ensayos cuantitativos solo se inocula el microorganismo diana, evitando así la contaminación cruzada que pueda existir con otros microorganismos no diana. Sin embargo, también existen los microorganismos del ambiente y es necesario realizar los controles para el aseguramiento de la calidad (Bolton, 1998).

Por otra parte, para los ensayos cualitativos existe mayor probabilidad de contaminación cruzada debido que se usan caldos de pre-enriquecimiento al inicio y no de enriquecimiento selectivo (Rasschaert, 2016). Asimismo, es necesario una correcta homogeneización de la muestra para poder recuperar la carga bacteriana esperada (ISO 7218, 2007). Dichas variables podrían explicar los bajos de especificidad y sensibilidad, respectivamente (Camaró *et al.* 2013).

Este contexto refleja la diferencia entre conocer los fundamentos teóricos del comportamiento de los microorganismos o las rutas metabólicas de los mismos y las destrezas para realizar los ensayos. En un estudio realizado acerca del desempeño de analistas se hizo énfasis en la diferencia entre *performance*, que incluye la realización del ensayo en un escenario práctico y *competence* que considera que el tener competencias o herramientas no se refleja necesariamente en ser competente más allá de un escenario teórico (Morán, 2016).

La variación en los puntajes de la prueba teórica, precisión, veracidad, exactitud relativa, sensibilidad y especificidad entre analistas puede deberse a más de una variable, es por eso que actualmente, se sugiere el uso de más herramientas para entrenamiento y evaluación del

desempeño de los analistas como autoevaluaciones, la valoración por otros compañeros de trabajo, observación directa de la mano con una retroalimentación y el uso de listas de verificación con comentarios incluyendo una valoración (Morán, 2016).

Los criterios para la aceptación para la precisión de *S. aureus* y Aerobios mesófilos se encuentran descritos en las normas correspondientes ISO 6888 (ISO, 2021) e ISO 4833 (ISO, 2014), respectivamente acorde a sus límites de repetibilidad. Asimismo, con los ensayos de *E. coli* y *V. parahaemolyticus* se encuentran los criterios de veracidad considerando los límites de repetibilidad bajo el intervalo de confianza al 95%, en la tabla de equivalencia de NMP y FDA, respectivamente. En relación con los ensayos cualitativos, el criterio de aceptación del laboratorio es 100%; sin embargo, existen analistas que no logran cumplir con los valores esperados y ello puede explicarse también en la complejidad de cada tipo de análisis. Los criterios anteriormente mencionados son tomados para la verificación o validación de métodos de ensayo (Riquelme, 2015). Asimismo, para el criterio de aceptación de ensayos cuantitativos se encontró que puede ser incluso mayor a 90% y para los cualitativos se mantiene en 100% (Martínez, 2016).

Existen también otras formas de poder habilitar o evaluar la competencia técnica del personal y es realizando pruebas Interlaboratorio y comparando los Z-score, así como también realizando la comparación entre analistas y no solo con muestras con un inóculo de referencia (SADCAS, 2018).



### *Análisis crítico*

La planificación de las actividades dentro del proceso de habilitación del analista que incluyen la inducción, entrenamiento y evaluación permiten que a corto plazo se pueda contar con un analista competente y con ello, una mayor productividad para la empresa (Mohsin, 2015). Asimismo, un analista con formación profesional relacionada a microbiología tiene más habilidades o conocimientos para poder adaptarse a los requerimientos de trabajo de análisis microbiológico de alimentos (Feldman, 2009).

Es importante considerar también que el análisis microbiológico propiamente dicho no es el único proceso que requiere de entrenamiento y evaluación.

Se pueden diferenciar 3 etapas dentro de cualquier proceso, a) etapa previa b) durante y c) posterior (Shaltout, 2019). En este sentido, se identificó que el análisis microbiológico requiere del cumplimiento de las siguientes etapas.

1. Condiciones previas al análisis microbiológico:
  - a. Verificación de condiciones ambientales.
  - b. Esterilización de materiales y medios de cultivo.
  - c. Manejo de cepas de referencia.
  - d. Manejo de equipos e instrumentos.
  - e. Esterilización y desinfección del cubil para análisis.
  - f. Selección y preparación de materiales a emplear durante el análisis.
  - g. Descongelamiento y tratamiento de la muestra.

En esta primera etapa, se puede incluir como herramienta para la evaluación, la observación directa de la realización de la actividad y del llenado de los registros correspondientes (Morán, 2016).

## 2. Análisis microbiológico:

- a. Trabajo del analista bajo las Buenas Prácticas de Laboratorio.
- b. Desinfección de la superficie de la muestra.
- c. Elección de los medios de cultivo y pesado de cantidad correcta para la homogeneización de la muestra.
- d. Elección del homogeneizador adecuado.
- e. Rótulo adecuado de las placas, tubos y botellas a incubar.
- f. Realización de una cantidad de diluciones pertinentes.
- g. Elección de la temperatura correcta de incubación.
- h. Realización de los controles o repeticiones acorde al aseguramiento de la calidad por cada método.

En esta segunda etapa, la evaluación más apropiada puede ser realizada tanto por el analista líder como por un segundo analista con experiencia (Morán, 2016), mediante una lista de cotejo siguiendo los pasos de los métodos normalizados. Asimismo, incluyendo la evaluación de los resultados finales del análisis como las pruebas antes mencionadas (Tabla 1., 2. y 3.).

## 3. Etapas posteriores al análisis microbiológico:

- a. Esterilización y desinfección del cubil, equipos y superficies para el análisis de las siguientes muestras.
- b. Pasajes microbiológicos para confirmación bioquímica.
- c. Lectura de resultados en los tiempos oportunos.
- d. Interpretación de los resultados obtenidos, intermedios y finales.

En esta última parte una discusión de los resultados permite despejar las dudas del analista respecto a la interpretación de resultados y permite incluir en el análisis los resultados del aseguramiento de la calidad del método para entregar resultados con valores confiables (Farrell *et al.* 2014).

Asimismo, se identificaron puntos críticos en la ejecución de cada ensayo, los cuales se basan en las etapas de los métodos normalizados.

Siendo así para aerobios mesófilos las etapas más críticas las siguientes:

- ✓ Inóculo/diluciones: debido a que el realizar la mezcla la cantidad de veces señalada en el método garantiza que pueda encontrarse una distribución homogénea para el recuento en placa al momento de realizar la lectura y no subestimar los recuentos por encontrar crecimientos agrupados de colonias. En este sentido, también es importante realizar la cantidad de diluciones requeridas o apropiadas para poder encontrar placas con recuentos dentro del rango contable y tener una mejor estimación de la cantidad de aerobios presentes en esa porción de muestra.
- ✓ Lectura: el crecimiento de aerobios mesófilos incluye más de una sola y estricta morfología de colonias, teniendo así que considerar contar con la experiencia u orientación adecuada del analista para que realice el recuento correcto (Cajas, 2021).

Para *Staphylococcus aureus* se cuenta con el siguiente análisis:

- ✓ Preparación de medios de cultivo: en esta etapa es importante incluir los reactivos (yema de huevo y telurito de potasio) necesarios para poder brindar las condiciones de crecimiento adecuado a las colonias y que puedan evidenciar su crecimiento característico (Campos, 2013).
- ✓ Confirmación bioquímica: debido a que la prueba de coagulasa es determinante, es importante que se realicen los controles positivos y negativos correspondientes para observar la correcta formación del coágulo asociado a la presencia del patógeno en la porción de muestra evaluada.

En relación a los ensayos semicuantitativos, es importante considerar el correcto uso de las tablas de equivalencia en NMP/g y la selección correcta de las diluciones que serán incluidas para dar la lectura final (ISO 7218, 2007; FDA, 2004).

Y para los ensayos cualitativos, se consideró que para *Salmonella spp.* el correcto rótulo es importante debido a que se trabaja con una cantidad de 3 tubos de enriquecimiento selectivo, siendo este paso en el que se puede llevar a cabo una contaminación cruzada; mientras que para *Vibrio cholerae* se considera importante el primer pasaje a agar selectivo, teniendo en cuenta que el microorganismo diana se recupera de la superficie de la botella que contiene la mezcla de la muestra y el caldo de pre-enriquecimiento posterior a la incubación (Rasschaert, 2016).

## VII. CONCLUSIONES

1. De acuerdo con los resultados obtenidos de la verificación del Plan Interno de Capacitación del Personal se identificó que se cumplió con 7 de los 9 incisos de la ISO/IEC 17025:2017 correspondientes al rol del analista en laboratorios de ensayo. Se discutió sobre los incisos relacionados al mejoramiento continuo y aseguramiento de la calidad y se concluyó que es importante involucrar al analista desde la etapa de entrenamiento con dichos conceptos.

2. Se encontró diferencias significativas entre el desempeño de los analistas.

Los analistas que tuvieron una formación en microbiología y más 12 meses de experiencia laboral tuvieron un mejor desempeño en el proceso de evaluación.

Los puntajes de la evaluación escrita no reflejaron los resultados de la destreza práctica.

Los analistas tuvieron un proceso de habilitación mayor al establecido por el procedimiento interno (> 2 meses).

Los ensayos cuantitativos y semicuantitativos representaron una mayor complejidad a nivel de evaluación escrita.

Los ensayos cualitativos representaron una mayor complejidad a nivel de evaluación práctica.

3. Se identificaron oportunidades de mejora en el proceso de habilitación.

El proceso de entrenamiento no contemplaba la individualización de la experiencia previa del analista.

El proceso de habilitación solo incluye dos tipos de evaluación, escrita y práctica y la práctica solo mide resultados finales del ensayo microbiológico.

Se evidenció la falta de una herramienta de organización de las actividades del proceso de habilitación.

Cada etapa del análisis microbiológico tuvo un grado de complejidad diferente por cada tipo de ensayo.

## **VIII. RECOMENDACIONES**

- 1.** Incluir una evaluación diagnóstica en la Etapa de Inducción del analista para dirigir de forma más individual el Plan de Entrenamiento.
- 2.** Reestructurar el Plan de Entrenamiento con las observaciones realizadas en el presente trabajo y esclarecer dentro del Plan de Entrenamiento cuáles son específicamente las actividades correspondientes a Trabajo bajo Supervisión.
- 3.** Incluir la participación de los analistas ya habilitados y con experiencia en la evaluación de los analistas en proceso de habilitación.
- 4.** Elaborar un Diagrama de Gantt que permita visualizar los tiempos de cumplimiento de cada objetivo del proceso de habilitación del personal.
- 5.** Realizar la evaluación diferenciando al detalle las etapas previas y posteriores al ensayo microbiológico.

## **6. Recomendación a la carrera de biología**

La actividad pesquera de extracción de pota o calamar gigante representa una fuente de ingresos al país, desde la comercialización como materia prima hasta la conversión en diferentes productos en plantas procesadoras. Para la exportación de dichos productos es necesario realizar un control de calidad y una evaluación de la inocuidad alimentaria. En ese sentido, se recomienda reforzar en el curso de microbiología los conceptos o herramientas relacionadas con:

- El Codex Alimentario.
- Normativa asociada a la Resolución ministerial N°591 y el Manual de Indicadores Microbiológicos de SANIPES.
- Métodos normalizados para el análisis microbiológico de alimentos y la importancia de cada etapa dentro de los procedimientos para las normas ISO, FDA, NTP, ICMSF o APHA.
- Entidades que intervienen en el control sanitario de productos pesqueros: INACAL y SANIPES y sus requerimientos y formas de evaluar las buenas prácticas de laboratorio y la competencia técnica para hacer frente a auditorías en el plano laboral futuro.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

- Berg, C., Dahms, S., Hildebrandt, G., Klaschka, S., & Weiss, H. (1994). Microbiological collaborative studies for quality control in food laboratories: Reference material and evaluation of analyst's errors. *International Journal of Food Microbiology*, 24, 41-52.
- Bolton, F. (1998). Quality assurance in food microbiology — a novel approach. *International Journal of Food Microbiology*, 45, 7-11.
- Cajas Ríos, O. (2021). *Verificación del método horizontal para la detección de Salmonella spp. Basado en la ISO 6579 y del método horizontal para el recuento de microorganismos aerobios mesófilos a 30°C basado en la ISO 4833, en alimentos en el Laboratorio de Microbiología de Agrocalidad.*
- Camaró-Sala, M., Martínez-García, R., Olmos-Martínez, P., Catalá-Cuenca, V., Ocete-Mochón, M., & Gimeno-Cardona, C. (2013). Validación y verificación analítica de los métodos microbiológicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 33 (7), 31-36. DOI: [10.1016/j.eimc.2013.11.010](https://doi.org/10.1016/j.eimc.2013.11.010).
- Campos Radillo, J. (2013). *Evaluación de los medios de cultivo para verificar su reproducibilidad y selectividad.*
- Catini, R., Pires de Souza, F., Martins, M. d. F., de Oliveira, A., Polisel, V., & Bertoni, I. (2015). Application of indicators and quality index as a tool for critical analysis and continuous improvement of laboratories accredited against ISO/IEC 17025.20, 431-436.



- Cisneros, B., & Ruiz, W. (2012). Propuesta de un modelo de mejora continua de procesos en el laboratorio PROTAL-EPSOL, basado en la integración de un sistema ISO/IEC 17025:2005 con un sistema ISO 9001:2008 en el año 2011.
- Codex alimentarius: Proteger la salud, facilitar el comercio. (2018). Retrieved from <http://www.fao.org/fao-stories/article/es/c/1096383/>.
- Ezquerria-Brauer, M., & Aubourg, S. (2019). Recent trends for the employment of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) by-products as a source of bioactive compounds with nutritional, functional and preservative applications: A review. *International Journal of Food Science and Technology*, 54, 987–998. Retrieved from <https://ifst.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/ijfs.14067>.
- Exportaciones por grupo de actividad económica - valores FOB (millones de US\$) – pesca pota. (2021). Retrieved from <https://estadisticas.bcrp.gob.pe/estadisticas/series/trimestrales/resultados/PN37584BQ/html>.
- Farrell-Evans, M. & Warren, W. (2014). Quality Assurance and Good Laboratory Practice. *Encyclopedia of Food Safety*, 4, 293-300. DOI: doi:10.1016/B978-0-12-378612-8.00374-7.
- FDA BAM. (2004). BAM chapter 9: Vibrio.
- Feldman, D. (2009). How broadly does education contribute to job performance? *Personnel Psychology*, 62, 89-134.
- Foro en la OMC examina cómo abordar las preocupaciones relativas a la inocuidad alimentaria mediante el comercio y la cooperación. (2019). Retrieved from [https://www.wto.org/spanish/news\\_s/news19\\_s/igo\\_23apr19\\_s.htm](https://www.wto.org/spanish/news_s/news19_s/igo_23apr19_s.htm).

Guevera, J. (2021). *Desenvolvimiento del comercio exterior pesquero y acuícola 2020*. ().

Lima,

Perú:

Retrieved

from <https://boletines.exportemos.pe/recursos/boletin/desenvolvimiento-comercio-exterior-pesquero-acuicola-2020.pdf>.

Inocuidad de los alimentos. (2020). Retrieved from <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/food-safety>

ISO. (2021) about us. Retrieved from <https://www.iso.org/about-us.html>

ISO. (2001). *ISO 16649-2:2001 microbiology of food and animal feeding stuffs — horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive escherichia coli — part 2: Colony-count technique at 44 degrees C using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl beta-D-glucuronide*.

ISO. (2006). ISO 5725-1:2006 Exactitud (veracidad y precisión) de resultados y métodos de medición.

ISO. (2007). *Microbiology of food and animal feeding stuffs - general requirements and guidance for microbiological examinations (ISO 7218:2007)*.

ISO. (2014). *Microbiology of the food chain - horizontal method for the enumeration of microorganisms - part 1: Colony count at 30 degrees C by the pour plate technique (ISO 4833-1:2013)*.

ISO. (2020). *Microbiology of the food chain - horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of salmonella - part 1: Detection of salmonella spp. - amendment 1 broader range of incubation temperatures, amendment to the status of annex D, and correction of the composition of MSRV and SC (ISO 6579-1:2017/amd 1:2020)*.

- ISO. (2021). *ISO 6888-1:2021. Microbiology of the food chain — horizontal method for the enumeration of coagulase-positive staphylococci (staphylococcus aureus and other species) — part 1: Method using baird-parker agar medium.*
- ISO/IEC 17025:2017 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. (2017). Retrieved from <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso-iec:17025:ed-3:v2:es>.
- Martínez Hartung, C. (2016). *Implementación y verificación de un método cualitativo y uno cuantitativo para el análisis de listeria monocytogenes en productos hidrobiológicos.*
- Morán, J. (2016). La evaluación del desempeño o de las competencias en la práctica clínica. 1a parte: Principios y métodos, ventajas y desventajas. *Educación Médica*. 17(4), 130-139.
- Morán, J. (2016). La evaluación del desempeño o de las competencias en la práctica clínica. 2a parte: Tipos de formularios, diseño, errores en su uso, principios y planificación de la evaluación. *Educación Médica*, 18(1), 2-12.
- Mohsin, B. (2015). Impact of training and development programs on employee performance. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 5(11), 38-42.
- Produce estableció cuota de captura de pota en 580 mil toneladas para el 2021. (2021). Retrieved from <https://www.gob.pe/institucion/produce/noticias/350101-produce-establecio-cuota-de-captura-de-pota-en-580-mil-toneladas-para-el-2021>.
- Productos-pota. (2014). Retrieved from <https://www.comex-andina.com/category/productos/pota/>.

- Promueven envíos de productos pesqueros y acuícolas. (2019). Retrieved from <https://www.adexperu.org.pe/notadeprensa/promueven-envios-de-productos-pesqueros-y-acuicolas/>.
- Pullés, M., Mayarí, R., & Martínez, V. (2006). Criterios para la acreditación de laboratorios que realizan ensayos microbiológicos según NC-ISO/IEC 17025:00. *CENIC Ciencias Biológicas*, 37(1), 32-36. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181220542006.pdf>.
- Rasschaert, G., De Reu, K., Heyndrickx, M., & Herman, L. (2016). Case report of salmonella cross-contamination in a food laboratory. *BMC Research Notes*, 9(156).
- Reporte de métodos por empresa. 2021; Available at: <https://aplicaciones.inacal.gob.pe/crtacre/>. Accessed Sep 05, 2021.
- Reporte mensual de comercio regional abril-2021. (2021). Retrieved from [https://repositorio.promperu.gob.pe/bitstream/handle/123456789/4991/Reporte\\_mensual\\_comercio\\_regional\\_Abril\\_2021\\_keyword\\_principal.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.promperu.gob.pe/bitstream/handle/123456789/4991/Reporte_mensual_comercio_regional_Abril_2021_keyword_principal.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
- Riquelme Retamal, V. (2015). *Verificación de un método alternativo para la detección de salmonella spp. en matrices de alimentos*.
- Rovegno, N. (2021). Pota. Retrieved from <https://www.mardelperu.pe/pesca/13/pesqueria-pota>.
- SANIPES (2016). Resolución de Dirección Ejecutiva N° 057-2016-SANIPES-DE.
- SADCAS Advisory Committee – TLAP. (2018). *Criteria for validation and quality assurance in microbiological testing*.

Shalout, M. (2019). Implementation of ISO 17025:2005 for the accreditation of kafr el-sheikh company's central laboratory for drinking water in egypt. *Advances in Oceanography & Marine Biology*,

## X. ANEXOS

### Anexo 1. Tabla de microorganismos indicadores de inocuidad alimentaria para productos congelados de pota

Tabla N° 05 - Planes de muestreo para Análisis microbiológicos

ALIMENTOS	MICROORGANISMOS		Plan de Evaluación		Límites <sup>(1)</sup>		
	Especie/ Grupo	Categoría <sup>(2)</sup>	n	c	m	M	
<b>CRITERIOS DE HIGIENE DE LOS PROCESOS</b>							
6	Productos hidrobiológicos crudos (frescos, refrigerados, congelados, salpescados o ahumados en frío) y precocidos (no destinados a consumo directo): Pescado, Moluscos Cefalópodos, Gasterópodos y Equinodermos.	Aerobios mesófilos (30 °C)	1	5	3	5x10 <sup>5</sup> UFC/g	10 <sup>6</sup> UFC/g
		Escherichia coli	4	5	3	10 UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g
						1 NMP/g	10NMP/g
		Staphylococcus aureus	7	5	2	10 <sup>2</sup> UFC/g	10 <sup>3</sup> UFC/g
		Salmonella spp	10	5	0	Ausencia /25 g	-
		Vibrio cholerae <sup>(B)</sup>	10	5	0	Ausencia /25 g	-
		Vibrio parahaemolyticus	10	5	0	<3 NMP/ g	-

Extraído del Manual de Indicadores de SANIPES (SANIPES, 2016)

### Anexo 2. Requisitos para exportación de productos hidrobiológicos TUPA 30

#### TEXTO ÚNICO DE PROCEDIMIENTOS ADMINISTRATIVOS (TUPA)

Aprobado por Decreto Supremo N° 025-2015-PRODUCE Publicado el 16 de diciembre del 2015

#### ► TUPA 30

CERTIFICADO OFICIAL SANITARIO PARA PRODUCTOS PESQUEROS Y ACUÍCOLAS CON FINES DE EXPORTACIÓN

COMUNICADO : [Medidas de simplificación administrativa](#)

#### Requisitos para el trámite

1. Solicitud Única de Comercio Exterior (SUCE)
2. Acta de inspección y muestreo sanitario del lote, emitido por una Entidad de Apoyo al SANIPES.
3. Informe de Ensayo del lote, emitido por una Entidad de Apoyo al SANIPES.
4. Lista de embarque (Packing list) o control de saldos.
5. Etiqueta original del producto. (\*)
6. Pago por derecho de trámite.

Extraído de la página de Trámites de SANIPES, 2021.

**Anexo 3.** Procedimiento de Entrenamiento y Capacitación del Personal de la empresa SL

S.A.C. 2018-2021

<b>1</b>	<b>Buenas prácticas de laboratorio</b>
A	Normas de trabajo en laboratorio
B	Equipos de protección personal
<b>2</b>	<b>Materiales para método</b>
A	Cepas de referencia para método
B	Medios de cultivo y reactivo
<b>3</b>	<b>Equipos para método</b>
A	Verificación de temperatura de equipos
<b>4</b>	<b>Tratamiento de la muestra</b>
A	Descongelamiento de la muestra
B	Homogeneización de la muestra
<b>5</b>	<b>Método de ensayo</b>
A	Aspectos generales del método de ensayo
B	Diagrama operativo del método
C	Fundamento biológico del método
D	Procedimiento del método
E	Cálculos e interpretación de resultados
<b>6</b>	<b>Control de la calidad</b>
A	Controles de calidad del método
<b>7</b>	<b>Software de reporte</b>
A	Reporte de resultados en el software

Extraído del Procedimiento Interno de Habilitación y supervisión del analista POS-N°080.