



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
Ciencias e Ingeniería

Evaluación de la competencia de analistas microbiológicos aplicando la ISO/IEC 17025:2017 para *Salmonella spp.*, *Aerobios Mesófilos a 30°C* y *Escherichia coli* en productos hidrobiológicos congelados de *Dosidicus gigas* (pota)

TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL PARA OPTAR POR EL TÍTULO
PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA

AUTOR(ES)

ROSA MARIANA VENTURA POMA

ASESOR(ES)

SUSANA ROSA ZURITA MACALUPU

LIMA - PERÚ

2025

Revisores

Revisor 1: Mg. Ruth Liliana Cristobal Delgado

Revisor 2: Dr. Erick Xammar Arones Quiroz

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Los egresados:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES
1.	VENTURA POMA ROSA MARIANA

Pertencientes al programa de la **CARRERA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**, autores del trabajo titulado: **Evaluación de la competencia de analistas microbiológicos aplicando la ISO/IEC 17025:2017 para *Salmonella spp.*, Aerobios Mesófilos a 30°C y *Escherichia coli* en productos hidrobiológicos congelados de *Dosidicus gigas* (pota)**, el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el **TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA** bajo la modalidad de **TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL**.

En calidad de docentes asesores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES DEL DOCENTE	FACULTAD	NIVEL DE ASESORÍA
1.	SUSANA ROSA ZURITA MACALUPU	FACI	ASESOR

Declaramos que el contenido del presente documento es original y que las citas y referencias a otros autores cumplen con las normas académicas establecidas. En ese sentido, hacemos constar que:

- El documento presenta un porcentaje de similitud de **15%**, según el reporte emitido por el software **Turnitin®** (identificador de entrega: **3509629692**; fecha de entrega: **17/03/2026**).
- Tras una revisión detallada del reporte y del contenido del trabajo en cuestión, no se han identificado indicios de plagio.
- Se certifica que el documento respeta los principios de integridad académica y cumple con los requisitos institucionales de originalidad.

Lugar y fecha: **Lima, 17 de marzo de 2026**



Firma del asesor

N° DNI: 08566253

ORCID: 0000-0002-6315-191X

ÍNDICE

Resumen.....	1
Abstract.....	2
I. Introducción.....	3
II. Planteamiento del problema.....	6
III. Objetivos.....	6
3.1 Objetivo general.....	6
3.2 Objetivos específicos.....	7
IV. Metodología.....	7
4.1 Capacitación y Examen Teórico de las Normativas de Ensayo.....	8
4.2 Evaluación práctica de cada uno de los tipos de ensayo: Cualitativo, Semicuantitativo y Cuantitativo.....	9
4.3 Identificación de puntos críticos en el proceso de habilitación de analistas.....	11
V. Resultados.....	11
5.1 Capacitación y Examen Teórico de las Normativas de Ensayo.....	12
5.2 Evaluación práctica de cada uno de los tipos de ensayo: Cuantitativo, Semi-cuantitativo y Cualitativo.....	12
5.3 Análisis de puntos críticos en el proceso de habilitación de analistas.....	14
VI. Discusión.....	17
VII. Conclusiones.....	20
VIII. Recomendaciones.....	20
IX. Bibliografía.....	22
Anexos.....	24

Resumen

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs) representan un desafío crítico para la inocuidad alimentaria, debido a que comprometen directamente la salud pública y pueden generar consecuencias económicas y sociales. En este contexto, la detección confiable de patógenos como *Salmonella spp.* y *Escherichia coli* en productos alimenticios resulta esencial para prevenir brotes y proteger a los consumidores.

Esta necesidad se vuelve aún más significativa cuando se trata de productos hidrobiológicos que son destinados a la exportación, como la pota (*Dosidicus gigas*), cuya comercialización en mercados internacionales requiere el cumplimiento riguroso de normas sanitarias. Debido a ello, la aplicación de la norma ISO/IEC 17025:2017 se vuelve fundamental, ya que establece distintos requerimientos para obtener resultados confiables. Muchos laboratorios que poseen acreditación bajo esta norma requieren que los analistas sean previamente autorizados o evaluados antes de ejecutar los ensayos microbiológicos. Por lo tanto, este trabajo se enfocó en la evaluación de la competencia técnica de tres analistas de un laboratorio de microbiología, como parte del proceso de autorización de personal para la ejecución de ensayos microbiológicos en productos hidrobiológicos congelados. Se aplicaron métodos cualitativos, semicuantitativos y cuantitativos para los ensayos de *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* y Aerobios Mesófilos a 30 °C. El proceso incluyó una etapa de capacitación teórica y una evaluación práctica, lo que permitió identificar puntos críticos en el desempeño de los ensayos y aspectos a fortalecer en la formación del personal, conforme a los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017.

Palabras clave: Inocuidad alimentaria, ISO/IEC 17025:2017, Analista Microbiológico, *Dosidicus gigas* (pota)

Abstract

Foodborne illnesses (FBIs) represent a critical challenge for food safety, as they directly compromise public health and can have economic and social consequences. In this context, reliable detection of pathogens such as *Salmonella spp.* and *Escherichia coli* in food products is essential to prevent outbreaks and protect consumers.

This need becomes even more significant when it comes to hydrobiological products intended for export, such as squid (*Dosidicus gigas*), whose commercialization in international markets requires strict compliance with health standards. Because of this, the application of the ISO/IEC 17025:2017 standard becomes essential, as it establishes different requirements for obtaining reliable results. Many laboratories accredited under this standard require analysts to be pre-authorized or evaluated before performing microbiological tests. Therefore, this work focused on evaluating the technical competence of three analysts from a microbiology laboratory as part of the process of authorizing personnel to perform microbiological tests on frozen hydrobiological products. Qualitative, semi-quantitative, and quantitative methods were applied for the testing of *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, and mesophilic aerobes at 30°C. The process included a theoretical training stage and a practical evaluation, which allowed for the identification of critical points in the performance of the tests and aspects to be strengthened in staff training, in accordance with the requirements established by the ISO/IEC 17025:2017 standard.

Keywords: Food safety, ISO/IEC 17025:2017, Microbiological Analyst, *Dosidicus gigas* (squid)

I. Introducción

La inocuidad alimentaria es fundamental para los seres humanos debido al riesgo de consumir alimentos inseguros [1]. Esto se debe a la presencia de bacterias patógenas, así como a las toxinas que estos microorganismos pueden producir, lo que causa millones de enfermedades e incluso miles de muertes cada año [1]. A nivel global, se estima que cada año se producen alrededor de 600 millones de casos de enfermedades transmitidas por alimentos (ETAs), de los cuales aproximadamente 420,000 resultan en muertes, según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) [3].

Dentro de las bacterias patógenas responsables de las ETAs incluyen diferentes cepas de *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter jejuni*, *E. coli* 0157:H7, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* y *Vibrio cholerae* [2]. Por ello, es necesario garantizar la inocuidad alimentaria mediante diversos ensayos que permitan rastrear y detectar microorganismos patógenos, con el fin de prevenir infecciones y asegurar la confiabilidad del alimento para su consumo [1].

En el Perú uno de los recursos marinos con gran importancia económica es *Dosidicus gigas* (Pota), siendo uno de los productos hidrobiológicos más exportados a mercados europeos y especialmente asiáticos [4]. Este recurso se encuentra ampliamente distribuido en la costa peruana, lo que permitió alcanzar una captura de 621,852 toneladas en el año 2023, según el Instituto del Mar Peruano (IMARPE). Con el paso del tiempo, su demanda ha aumentado considerablemente, lo que ha generado la necesidad de asegurar su calidad e inocuidad en todas las etapas de producción [4]. Debido a su naturaleza altamente perecedera, la pota es procesada y conservada en estado congelado para preservar sus propiedades sensoriales y microbiológicas [5]. Durante el almacenamiento, se ha evidenciado que el deterioro del manto de calamar

gigante está asociado al crecimiento de bacterias mesófilas, psicrófilas y enterobacterias, cuyo desarrollo afecta directamente atributos como el olor, sabor y textura del producto, por lo que el monitoreo microbiológico es esencial para garantizar su calidad e inocuidad durante la cadena de frío [5].

No obstante, más allá del deterioro organoléptico, existe también el riesgo de contaminación de bacterias patógenas de importancia sanitaria, como *Salmonella spp.* y *Escherichia coli*, las cuales pueden distribuirse en las diferentes etapas del proceso, instalaciones de desembarque, manipuladores o almacenamiento. Todo esto representa una amenaza para la salud pública por estar asociados con el aumento de brotes de enfermedades en la población [6]. En consecuencia, los países importadores exigen que los productos hidrobiológicos cumplan con estrictas normas sanitarias, cuyo cumplimiento en Perú es supervisado por SANIPES (Autoridad Nacional de Sanidad e Inocuidad en Pesca y Acuicultura), entidad encargada de aplicar controles técnicos, normativos y de supervisión en cada etapa de la cadena productiva [7]. Uno de los mecanismos regulatorios es el Certificado Oficial Sanitario para productos pesqueros y acuícolas con fines de exportación (TUPA 30), el cual establece como requisito el acta de inspección sanitaria y el informe de ensayo microbiológico del lote, los cuales deben estar emitidos por entidades de apoyo acreditadas por SANIPES [8]. Esto garantiza que las empresas que exportan este tipo de productos tengan la obligación de asegurar que sus productos cumplan con los estándares de inocuidad exigidos a nivel internacional.

De este modo, la confiabilidad de los resultados microbiológicos resulta crucial para determinar si un lote cumple con los requisitos necesarios para su exportación. Por lo que, los ensayos deben ser realizados por laboratorios que demuestren competencia técnica, trazabilidad y control de calidad, lo cual se acredita a través de la norma ISO/IEC 17025:2017. Esta norma es aplicada por diversas organizaciones que requieren realizar ensayos o calibraciones, permitiendo la estandarización de los procedimientos en laboratorios a nivel global [9]. Su

implementación exige que los laboratorios documenten rigurosamente todos los procesos relacionados al análisis microbiológico, cumplan con los requisitos establecidos para la acreditación y adapten sus actividades a un sistema de gestión de calidad [9]. Además, incluye los requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo, asegurando los procedimientos aplicados, equipos utilizados y el personal involucrado cumplan con los estándares de calidad [9]. En Perú, la institución encargada de otorgar esta acreditación conforme a la norma ISO/IEC 17025:2017 es el Instituto Nacional de Calidad (INACAL). Esta entidad promueve que los laboratorios acreditados operen de manera imparcial y con una estructura sólida, asegurando que su personal cuente con la autoridad, los recursos y las competencias para desempeñar sus funciones de forma eficiente cumpliendo con los requisitos de calidad del laboratorio [10]. INACAL exige a los laboratorios la selección y verificación de métodos internacionales o nacionales reconocidos [10]. Por ello, cuando un laboratorio de ensayos microbiológicos busca realizar análisis para *Salmonella spp.*, *Aerobios Mesófilos a 30°C* y *Escherichia coli* debe aplicar métodos internacionales como la ISO 6579-1, ISO 4833-1 e ISO 16649-2, respectivamente. Cabe resaltar que esta exigencia responde a las condiciones establecidas por los países importadores, y es supervisada por SANIPES, quien se encarga de asegurar que los productos exportados cumplan con estos estándares de inocuidad alimentaria [7].

En este contexto, resulta fundamental llevar a cabo evaluaciones específicas a los analistas con el fin de verificar su competencia técnica. Estas evaluaciones permiten medir el desempeño técnico, su capacidad para cumplir rigurosamente con los procedimientos establecidos en los métodos de referencia, así como su conocimiento y correcta aplicación de las normas técnicas correspondientes a cada microorganismo evaluado.

El siguiente trabajo tiene por objetivo evaluar a tres analistas para otorgar la autorización de tres ensayos para *Salmonella* y *Escherichia coli* y recuento de Aerobios Mesófilos a 30°C en

muestras de productos hidrobiológicos congelados de *Dosidicus gigas* (pota) bajo la norma ISO/IEC 17025:2017.

II. Planteamiento del problema

En laboratorios de microbiología acreditados bajo la norma ISO 17025:2017, la ejecución de ensayos microbiológicos debe ser realizada por analistas a quienes previamente evalúan su competencia técnica. Esto es relevante en el análisis de productos hidrobiológicos destinados a la exportación, como *Dosidicus gigas* (pota), donde la detección de patógenos como *Salmonella spp.* y *Escherichia coli* deben cumplir estándares internacionales establecidas por sus respectivas normas ISO. Aunque estos laboratorios poseen procedimientos para evaluar y habilitar al personal, la competencia técnica del analista representa un factor determinante en la confiabilidad de los resultados, ya que su conocimiento normativo y técnico influye directamente en la trazabilidad y validez de los ensayos. Por ello, aplicar evaluaciones teóricas y prácticas resulta fundamental no solo para confirmar el cumplimiento de los requisitos de la ISO 17025:2017, sino que también permite verificar que el personal esté adecuadamente preparado para ejecutar procedimientos críticos con precisión. Además, identificar los puntos críticos que pueden ser reforzados contribuye directamente al proceso de mejora continua dentro del sistema de calidad del laboratorio.

III. Objetivos

3.1 Objetivo general

Evaluar la competencia técnica de tres analistas del área de microbiología para el proceso de habilitación, aplicando los requisitos de la norma ISO 17025 para ensayos microbiológicos de *Salmonella spp.* (ISO 6579-1), *Escherichia coli* (ISO 16649-2) y Aerobios Mesófilos a 30°C (ISO 4833-1), en productos hidrobiológicos congelados de *Dosidicus gigas* (pota).

3.2 Objetivos específicos

- Capacitar teóricamente a los analistas en los métodos de ensayo microbiológico aplicables, evaluando su comprensión mediante una prueba teórica, con énfasis en la correcta interpretación de los procedimientos establecidos.
- Evaluar el desempeño práctico de los analistas en la ejecución de ensayos microbiológicos cualitativos (*Salmonella spp.*), semicuantitativos (*Escherichia coli*) y cuantitativos (Aerobios Mesófilos a 30°C), verificando la precisión y veracidad de los resultados obtenidos, conforme a los parámetros establecidos.
- Identificar los puntos críticos del proceso de habilitación y formular recomendaciones técnicas orientadas a fortalecer la competencia del analista para estos productos hidrobiológicos.

IV. Metodología

Este trabajo posee un enfoque descriptivo y evaluativo, en el que se evaluó la competencia técnica de dos analistas de un laboratorio de microbiología, con el propósito de habilitarlos para la ejecución de ensayos de tres microorganismos en productos hidrobiológicos congelados. Antes del desarrollo de las actividades respectivas (Anexo 1), se definió la estructura operativa: el analista A1, previamente autorizado por el laboratorio conforme a los requisitos de la norma ISO/IEC 17025:2017, debía contar con experiencia mínima de dos años en la ejecución de los ensayos en evaluación (detección de *Salmonella spp.*, recuento y detección de *Escherichia coli*, recuento de Aerobios Mesófilos), además de tener la capacidad de guiar a los analistas en entrenamiento; mientras que los analistas A2 y A3 fueron considerados como candidatos a la autorización, ambos con formación universitaria en microbiología, pero sin autorización previa en la ejecución de ensayos específicos en productos hidrobiológicos congelados. Esta organización permitió un proceso evaluativo con los

lineamientos de la norma ISO/IEC 17025:2017 y procedimientos internos del laboratorio orientados a aumentar la capacidad operativa del laboratorio, tomando como referencia guías técnicas como las ISO 6579-1 (detección de *Salmonella spp.*), ISO 16649-2 (recuento y detección de *Escherichia coli*) y ISO 4833-1 (recuento de Aerobios Mesófilos).

Las técnicas de recolección de información incluyeron la aplicación de una evaluación teórica, observación directa con una lista de verificación en el desempeño práctico y análisis de resultados. Los formatos y procedimientos fueron revisados y validados previamente por el personal técnico del área de Aseguramiento de la Calidad del laboratorio.

4.1 Capacitación y Examen Teórico de las Normativas de Ensayo

Se seleccionaron tres ensayos microbiológicos de alta relevancia para el control de la inocuidad en productos hidrobiológicos congelados de *Dosidicus gigas* (pota): ISO 6579-1 (detección de *Salmonella spp.*), ISO 4833-1 (recuento de Aerobios Mesófilos) e ISO 16649-2 (recuento y detección de *Escherichia coli*). Como parte del proceso de capacitación teórica previa al desempeño práctico, a cada analista en entrenamiento se le proporcionó la norma correspondiente para su revisión individual. Durante esta etapa, se ofreció apoyo directo del evaluador o supervisor para dar respuesta a interrogantes relacionados con la normativa, con el objetivo de asegurar la correcta comprensión de los fundamentos y requisitos metodológicos. Posteriormente, se aplicó una evaluación teórica con un puntaje mínimo aprobatorio de 16 sobre 20, conforme a lo establecido en el procedimiento interno de Capacitación y Habilitación del personal, el cual define los criterios necesarios para que el analista sea autorizado para proceder con la ejecución práctica de los ensayos microbiológicos. El contenido de las evaluaciones teóricas se encuentra en la Tabla 1.

Tabla 1. Contenido del Examen Teórico

Contenido
Preparación y enriquecimiento de la muestra
Número de diluciones según el ensayo
Temperatura y tiempo de incubación
Controles positivos y negativos
Medios de cultivo específicos para cada ensayo y bioquímica
Rango contable de algunos ensayos que lo especifiquen
Interpretación de los resultados según el tipo de ensayo

4.2 Evaluación práctica de cada uno de los tipos de ensayo: Cualitativo, Semicuantitativo y Cuantitativo

La evaluación práctica consistió en el análisis de cinco muestras de productos hidrobiológicos por parte de cada uno de los tres analistas (A1, A2 y A3). Las muestras fueron previamente inoculadas con analitos conocidos con relación a la concentración y tipo de microorganismo para los ensayos semicuantitativos y cuantitativos. En el caso del ensayo cualitativo se encontraban inoculadas con *Salmonella spp.* (diana) y otro microorganismo no diana (*Escherichia coli*).

- Ensayos cualitativos

Los resultados obtenidos del análisis cualitativo para la detección de *Salmonella spp.* fueron evaluados considerando la eficiencia (exactitud relativa) del método. El laboratorio estableció que la eficiencia debe ser del 100%, garantizando la detección total de las muestras positivas conocidas.

$$\text{Exactitud Relativa} = \frac{(a+b)}{N} \times 100\%$$

Donde:

a: número de resultados positivos coincidentes con los inóculos positivos

b: número de resultados negativos coincidentes con los inóculos negativos

N: total de muestras analizadas por el analista

- **Ensayos semicuantitativos**

Para los resultados del recuento de *Escherichia coli* mediante el método del Número Más Probable (NMP), se evaluó el parámetro de veracidad, mediante la comparación de los resultados obtenidos con los límites de referencia del 95% de confianza.

$$\text{Veracidad} = LI_{Ref} \leq A \leq LS_{Ref}$$

Donde:

LI: límite inferior del 95% de confianza (cuyo valor es = 5,6)

LS: límite superior del 95% de confianza (cuyo valor es = 100)

A: valor obtenido por el analista

- **Ensayos cuantitativos**

Los resultados obtenidos de los ensayos de Recuento de Aerobios Mesófilos se sometieron a pruebas estadísticas para evaluar si es que tenían una distribución normal y posteriormente se calcularon los parámetros de precisión (repetibilidad) y veracidad (porcentaje de recuperación). Los resultados obtenidos deberán ser menores al criterio de precisión puestos por el laboratorio con referencia a la normativa de cada ensayo. Según el laboratorio, la repetibilidad se considera conforme cuando el valor de r (desviación relativa entre réplicas) es menor a 0.25. Asimismo, el porcentaje de recuperación debe ser igual o superior al 70% para considerarse aceptable.

$$\text{Precisión} = |\log A_{\text{máx}} - \log A_{\text{mín}}| \quad \% \text{ recuperación} = \left(\frac{\text{Valor promedio}}{\text{Valor esperado}} \right) \times 100$$

Donde:

A : Valor obtenido por el analista

Valor promedio: media de los valores obtenidos por el analista

Valor esperado: es el valor que se tiene de referencia

4.3 Identificación de puntos críticos en el proceso de habilitación de analistas

El análisis de los puntos críticos se basó en la revisión de los resultados obtenidos durante la evaluación teórica y práctica de los analistas en entrenamiento. Para la evaluación teórica, se consideró la nota obtenida en una prueba escrita con puntaje mínimo aprobatorio de 16 sobre 20, en concordancia con el procedimiento interno del laboratorio. En la evaluación práctica, se observaron directamente aspectos técnicos durante la ejecución de los ensayos microbiológicos, incluyendo el cumplimiento de la técnica aséptica, y la correcta aplicación de los procedimientos metodológicos. Las observaciones fueron registradas en formatos estandarizados de evaluación, permitiendo identificar desviaciones, fortalezas y oportunidades de mejora en el desempeño de los analistas evaluados.

V. Resultados

A continuación, se presentan los resultados obtenidos durante la evaluación de competencia técnica aplicada a los analistas A2 y A3, considerando tanto el desempeño teórico como práctico en los ensayos microbiológicos seleccionados.

5.1 Capacitación y Examen Teórico de las Normativas de Ensayo

Los analistas en proceso de autorización durante la etapa de revisión autónoma del material normativo manifestaron dudas relacionadas con el rango contable de algunos métodos como Aerobios Mesófilos a 30°C y características bioquímicas de la detección de *Salmonella*. Estas observaciones fueron resueltas por el supervisor, lo cual permitió reforzar el contenido de las distintas normativas antes del examen. El examen escrito en el caso de ambos analistas fue aprobado (Tabla 2). La sustracción de puntos en el examen se debe a errores relacionados a las temperaturas de incubación y la confirmación bioquímica de *Salmonella spp.*

Tabla 2. Promedios del examen teórico por analista

Analista	Examen teórico (Promedio de las 3 evaluaciones)
Analista 1	20 ± 0
Analista 2	18.7 ± 1.2
Analista 3	18.7 ± 1.2

5.2 Evaluación práctica de cada uno de los tipos de ensayo: Cuantitativo, Semi-cuantitativo y Cualitativo

Tras la aprobación del examen teórico, los analistas participaron en la fase práctica, que comprendió la ejecución de tres tipos de ensayos microbiológicos en productos hidrobiológicos inoculados de forma controlada. Cada analista analizó 5 muestras para los ensayos, donde se evaluó el desempeño según los parámetros establecidos por los procedimientos del laboratorio y las normas ISO correspondientes.

- a) Ensayo cuantitativo: Recuento de Aerobios Mesófilos a 30 °C (ISO 4833-1)

Al evaluar los resultados obtenidos por cada analista, se pudo observar que cumplían con una distribución normal. Posteriormente, se procedió a calcular los valores correspondientes de veracidad (porcentaje de recuperación) y precisión (repetibilidad), los cuales tuvieron conformidad para este ensayo de recuento de Aerobios Mesófilos (Tabla 3).

Tabla 3. Conformidad de la Precisión y Veracidad para el Análisis Cuantitativo para Aerobios Mesófilos a 30° C por analista.

Recuento de Aerobios Mesófilos a 30°C		
Producto	Producto hidrobiológico	
Analista	Veracidad	Precisión
Analista 1 (Instructor)	C	C
Analista 2	C	C
Analista 3	C	C

C: Conforme; NC: No Conforme

b) Ensayo Semicuantitativo: *Escherichia coli* (ISO 16649-2)

Para el método del número más probable (NMP), se evaluaron los resultados de acuerdo con los límites de confianza al 95%. Los resultados obtenidos por los analistas estuvieron dentro del intervalo de confianza preestablecido por el área de Microbiología, lo que indica una adecuada estimación del número más probable. No se observaron valores fuera de rango que implicaran repeticiones del ensayo (Tabla 4).

Tabla 4. Conformidad de la veracidad para el análisis semicuantitativo para el análisis de *Escherichia coli*

<i>Escherichia coli</i>	
Producto	Producto hidrobiológico
Analista	Veracidad
Analista 1 (Instructor)	C
Analista 2	C
Analista 3	C

C: Conforme; NC: No Conforme

c) Ensayo cualitativo: Detección de *Salmonella spp.* (ISO 6579-1)

La detección de *Salmonella spp.* se evaluó mediante la exactitud relativa, que considera la coincidencia entre los resultados obtenidos por los analistas y los resultados según la inoculación (Tabla 5).

Tabla 5. Conformidad de la Exactitud Relativa (Eficiencia) para el análisis de *Salmonella spp.* por analista.

Detección de <i>Salmonella spp.</i>	
Producto	Producto hidrobiológico
Analista	Exactitud relativa
Analista 1 (Instructor)	100%
Analista 2	100%
Analista 3	100%

5.3 Análisis de puntos críticos en el proceso de habilitación de analistas

Durante el proceso de habilitación de analistas, se llevó a cabo el análisis de los puntos críticos observados en cada una de las evaluaciones del desempeño teórico y práctico. Si bien los

analistas A2 y A3 lograron cumplir con los criterios de evaluación establecidos, se identificaron áreas de mejora en el proceso.

Puntos críticos identificados en el desempeño teórico:

- Dificultad en la interpretación de la normativa de ISO 6579-1 (*Salmonella spp.*)

Los analistas (A2 y A3) alcanzaron un puntaje aprobatorio; sin embargo, se evidenció que ambos analistas presentaron confusión respecto a los tiempos y temperaturas de incubación de los medios selectivos para esta bacteria. Este aspecto es relevante porque la norma establece diferentes condiciones según el medio, lo cual puede inducir errores en la ejecución del ensayo. Además, hubo errores en la interpretación bioquímica, se evidenció una debilidad teórica en cuanto a la confirmación. Esta parte se considera un riesgo si no se consolida antes de ejecutar pruebas reales.

- Experiencia técnica no reciente en productos hidrobiológicos

Los analistas contaban con formación universitaria en microbiología y experiencia laboral previa, pero no habían realizado ensayos específicos en productos hidrobiológicos congelados recientemente. Esta condición inicial puede haber influido en la confusión observada en ciertas etapas del procedimiento, al intentar relacionarlo con otros ensayos no contemplados en la presente evaluación.

Puntos críticos identificados en el desempeño práctico:

- Deficiencias en la ejecución técnica microbiológica

Estas desviaciones relacionadas con la ejecución técnica de cada uno de los ensayos en las muestras no afectaron los resultados finales; sin embargo, podrían representar un riesgo en condiciones rutinarias de trabajo.

1. Manipulación incorrecta del material estéril por parte de uno de los analistas en proceso de habilitación. Se observó que tocó bordes de frascos que contenían el medio estéril, lo cual representa un riesgo en la técnica aséptica. Aunque no se observaron efectos sobre los resultados, este tipo de descuidos necesitan ser corregidos para evitar la contaminación cruzada.
2. Vertido del medio de cultivo con la temperatura inadecuada en placas. Se observó en uno de los ensayos que el agar fue vertido sin verificar la temperatura adecuada, lo cual pudo provocar la muerte de microorganismos termosensibles, afectando el recuento final.
3. Demora en la confirmación de uno de los microorganismos evaluados en la muestra. Durante la etapa final de lectura e interpretación del ensayo cualitativo, surgieron inconvenientes que debieron ser resueltos directamente por el analista evaluado. Estos problemas no se vieron reflejados en la evaluación teórica, lo cual refleja que, en condiciones reales, pueden presentarse variables adicionales. Esta situación permitió observar el nivel de autonomía del analista para solucionar imprevistos. No obstante, debido a las dificultades presentadas, se generó un retraso leve en comparación con los otros dos analistas. Si bien no fue significativo, en condiciones rutinarias, particularmente si el proceso depende de un cronograma estricto, podría verse afectada la trazabilidad del proceso.

Estas observaciones fueron documentadas en los registros de evaluación individual, las cuales fueron revisadas por el supervisor, quien posteriormente discutió estos detalles con cada uno de los analistas involucrados en el proceso de habilitación, con el fin de brindarles retroalimentación.

VI. Discusión

La evaluación de competencia técnica para la autorización de analistas en ensayos microbiológicos es un proceso requerido dentro de los laboratorios acreditados bajo la norma ISO/IEC 17025:2017, ya que menciona que el personal interno del laboratorio tiene que poseer habilidades y conocimientos necesarios para producir y analizar resultados fiables [10]. Según estos lineamientos, no basta con asignar al personal como competente, por lo que esta competencia debe ser demostrada de forma objetiva, a través de evaluaciones teóricas y prácticas [11]. Por lo que el presente trabajo tuvo como propósito evaluar la competencia técnica de dos analistas en proceso de autorización, a través de un proceso de tres fases: una capacitación sobre tres ensayos microbiológicos y su respectiva evaluación teórica, una etapa de evaluación del desempeño práctico y un análisis de puntos críticos identificados durante el proceso de habilitación.

En el desempeño teórico, ambos analistas alcanzaron un promedio aprobatorio de 18.7, demostrando un adecuado nivel de comprensión de las normativas estudiadas. Sin embargo, se identificaron debilidades puntuales relacionadas con la interpretación de la normativa del ensayo de detección con *Salmonella* spp. Esta dificultad se debe a que en la normativa ISO 6579-1 incluye una secuencia compleja de fases en el protocolo, con temperaturas de incubación distintas según el medio selectivo y tiempos específicos para cada etapa, lo que puede inducir confusión durante la interpretación teórica [12]. Asimismo, se presentaron dificultades en la interpretación de la confirmación bioquímica de *Salmonella* spp., ya que este tipo de pruebas requiere la comprensión de los patrones de reacciones metabólicas y fenotípicas característicos de la bacteria, los cuales se evidencian en medios diferenciales [13]. Esta dificultad también podría atribuirse al hecho de que, si bien el personal contaba con experiencia previa, la complejidad de la prueba y el tiempo transcurrido desde su última aplicación para

estos tres ensayos microbiológicos podrían haber afectado su capacidad para recordar con precisión los procedimientos y criterios de interpretación.

Tras aprobar la evaluación teórica, los analistas participaron en la fase práctica. Los resultados indicaron conformidad tanto en la precisión y veracidad, lo cual evidencia una correcta ejecución conforme a los procedimientos normalizados del laboratorio y los requisitos de la norma ISO/IEC 17025:2017.

En el análisis cualitativo para la detección de *Salmonella spp.*, los analistas obtuvieron resultados correctos en todos los casos, alcanzado una exactitud relativa del 100%. Sin embargo, se observó que uno de ellos necesitó más tiempo para interpretar correctamente la etapa de confirmación bioquímica, lo cual puede estar relacionado con la complejidad de esta fase del procedimiento. Esta dificultad ya se había evidenciado durante la evaluación teórica, específicamente en la lectura de las pruebas bioquímicas de *Salmonella*. Aunque este aspecto no afectó el resultado final, sí muestra la necesidad de reforzar esta parte de la metodología en los analistas.

En cuanto al método semicuantitativo para *Escherichia coli*, los resultados estuvieron dentro del intervalo de confianza del 95%. No obstante, ambos analistas mostraron una ligera tendencia a obtener valores inferiores al del analista instructor (A1). Esta desviación podría deberse a que el método NMP depende la correcta preparación y manipulación de las diluciones seriadas, pequeñas variaciones pueden impactar en la estimación final del número más probable [15]. Estas diferencias no significativas refuerzan la necesidad de un mayor control en la técnica de pipeteo y el correcto uso del vortex.

En el ensayo cuantitativo de recuento de Aerobios Mesófilos a 30 °C, los resultados obtenidos por los analistas se mantuvieron dentro del margen aceptable de recuperación, por lo que se consideran veraces. Respecto a la repetibilidad, los valores obtenidos fueron inferiores al límite

establecido por laboratorio, por lo que estos resultados son precisos. Sin embargo, en los resultados del analista A3 se pudo observar una ligera tendencia hacia recuentos ligeramente inferiores respecto a los demás, aunque dentro de los límites aceptables. Esta variación podría atribuirse a una posible manipulación inadecuada del material estéril, como el uso de medio de cultivo caliente durante el vertido en placa. El proceso para el recuento de aerobios mesófilos implica el uso de agar fundido enfriado adecuadamente, ya que temperaturas más altas pueden afectar la viabilidad de los microorganismos presentes en la muestra [14].

Por último, además de evaluar el desempeño individual de los analistas para ser habilitados en estos ensayos, la identificación de los puntos críticos permitió observar situaciones operativas que, si bien no afectaron los resultados obtenidos en esta evaluación, podrían representar un riesgo en condiciones de rutina. Entre los principales aspectos que se identificaron se encuentran los retrasos en el registro de resultados, dificultades en la interpretación de pruebas bioquímicas durante la confirmación de *Salmonella spp.*, y uso inadecuado de material estéril en ciertos pasos del proceso. Estos hallazgos revelan la importancia de reforzar la formación del personal en temas relacionados con la gestión del tiempo, la lectura de resultados en medios selectivos y el aseguramiento de condiciones asépticas.

A partir de este análisis, se reconoce que la identificación y documentación de estos puntos críticos constituye una herramienta necesaria dentro del enfoque de mejora continua, considerado en uno de los apartados de la ISO 17025/2017 [10]. Su registro permite implementar acciones correctivas orientadas a prevenir desviaciones futuras, actualizar procedimientos internos y fortalecer los manuales del sistema de Aseguramiento de la Calidad del laboratorio.

VII. Conclusiones

- Se logró capacitar teóricamente a los analistas en los métodos normativos establecidos para *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* y Aerobios Mesófilos a 30 °C. Los participantes alcanzaron el puntaje mínimo requerido en el examen teórico, aunque se identificaron dificultades específicas en la interpretación de la norma ISO 6579-1.
- En el desempeño práctico, los analistas evaluados cumplieron con los criterios establecidos para los tres ensayos microbiológicos. Los resultados fueron veraces y precisos, dentro de los rangos aceptables definidos por el laboratorio y las normas ISO correspondientes.
- La identificación de puntos críticos a lo largo del proceso de evaluación evidenció aspectos técnicos y operativos que podrían generar desviaciones en la rutina de los ensayos microbiológicos. Los principales hallazgos fueron las demoras en el registro de resultados, el uso incorrecto del material estéril y los errores en la interpretación de pruebas bioquímicas durante la confirmación de *Salmonella spp.*

VIII. Recomendaciones

En base a los resultados obtenidos y a los puntos críticos identificados durante la evaluación de competencia técnica, se recomienda:

- Implementar herramientas de apoyo visual, como esquemas secuenciales (Fig.1, Fig.2, Fig.3), que faciliten la interpretación de procedimientos complejos, como la confirmación bioquímica en el método cualitativo de detección de *Salmonella spp.*, así como los tiempos y temperaturas de incubación específicos de cada fase del ensayo.
- Incluir programas de capacitación continua del personal en el uso correcto del material estéril y en la aplicación de la técnica aséptica, con la finalidad de minimizar riesgos de contaminación cruzada.

- Actualizar los registros usados para el reporte de resultados mediante formatos simplificados, de manera que se facilite el llenado y se reduzcan las demoras garantizando la trazabilidad de la información obtenida de los análisis microbiológicos.

Fig. 1 Esquema para la enumeración de *E. coli* según la ISO 16649-2

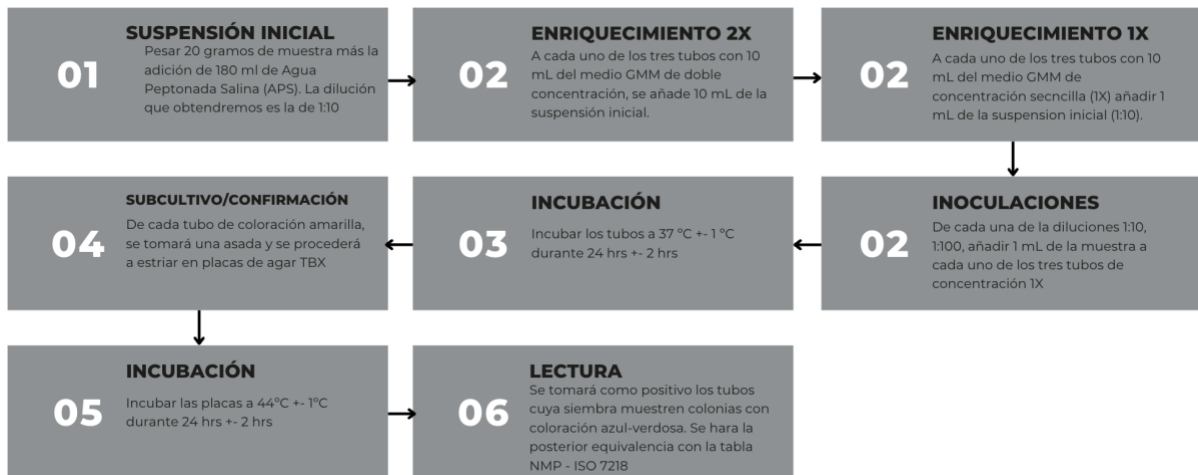


Fig. 2 Esquema para la detección de *Salmonella spp.* según la ISO 6579-1



Fig. 3 Esquema para el recuento de Aerobios mesófilos según la ISO 6579-1



IX. Bibliografía

1. Fung F, Wang HS, Menon S. Food safety in the 21st century. Biomed J [Internet]. 2018 Apr [cited 2025 May 12]; 41(2):88–95. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.03.003>
2. Borchers A, Teuber SS, Keen CL, Gershwin ME. Food Safety. Clin Rev Allergy & Immunol [Internet]. 2009 Nov [cited 2025 May 12] 13;39(2):95–141. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12016-009-8176-4>
3. Zambrano M, Pino R, Carolina G, Rodrigo E, Monserrath J. Desarrollo de la seguridad alimentaria y su relación con las cinco claves de la OMS para la inocuidad de los alimentos. Polo del Conocim [Internet]. 2024 [cited 2025 May 12];9(2):130–46. Available from: <https://polodelconocimiento.com/ojs/index.php/es/article/view/6514/pdf>
4. Argüelles J, Rodhouse PG, Villegas P, Castillo G. Age, growth and population structure of the jumbo flying squid *Dosidicus gigas* in Peruvian waters. Fish Res. 2001 Dec [cited 2025 May 12] ; 54(1):51–61. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0165-7836\(01\)00380-0](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(01)00380-0)
5. PRODUCE establece en 190 mil toneladas el Límite Máximo de Captura Total Permisible del calamar gigante o pota [Internet]. Lima: Gobierno del Perú; [cited 2025 May 12]. Available from: <https://www.gob.pe/institucion/produce/noticias/1130683->

[produce-establece-en-190-mil-toneladas-el-limite-maximo-de-captura-total-permisible-del-calamar-gigante-o-pota](#)

6. Rondón-Espinoza J, Gavidia CM, González R, Ramos D. Water Quality and Microbiological Contamination across the Fish Marketing Chain: A Case Study in the Peruvian Amazon (Lagoon Yarinacocha). *Water* [Internet]. 2022 Jan [cited 2025 May 12]; 1;14(9):1465. Available from: <https://www.mdpi.com/2073-4441/14/9/1465>
7. Información Institucional del Perú. SANIPES [Internet]. Lima: SANIPES; Available from: <https://www.gob.pe/institucion/sanipes/institucional>
8. SANIPES. Tupa 30: Certificado Oficial Sanitario Para Productos Pesqueros Y Acuícolas Con Fines De Exportación.[Internet]. Lima: SANIPES 2015 [cited 2025 May 12]. Available from: https://www.sanipes.gob.pe/tupa/tupa__30.php
9. Sadikoglu E, Temur T. The relationship between ISO 17025 quality management system accreditation and laboratory performance. In: Avasarala SK, editor. *Quality management and practices*. [Internet]. London: IntechOpen; 2012 [cited 2025 May 12].
10. Instituto Nacional de Calidad (INACAL). Norma Técnica Peruana NTP-ISO/IEC 17025:2017. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración [Internet]. Lima: INACAL; 2017 [cited 2025 May 12]. Available from: https://transparencia.produce.gob.pe/images/stories/Repositorio/transparencia/proyectos-de-inversion/niveles-de-servicio/2021/ITP/NC/NTP_ISO_IEC_17025_2017.pdf
11. Štajdohar-Pađen O. Education and training of laboratory staff as a part of laboratory competence. *Accreditation and Quality Assurance*. 2008 Jan 8;13(4-5):267–70.
12. International Organization for Standardization. ISO 6579-1:2017. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the detection, enumeration and serotyping of *Salmonella* — Part 1: Detection of *Salmonella* spp. Geneva: ISO; 2017.

13. Tan SJ, Nordin S, Esah EM, Mahrer N. Salmonella spp. in Chicken: Prevalence, Antimicrobial Resistance, and Detection Methods. Microbiol Res [Internet]. 2022 Sep 26;13(4):691–705. Available from: <https://www.mdpi.com/2036-7481/13/4/691>
14. Freitas R, Nero LA, Carvalho AF. Technical note: Enumeration of mesophilic aerobes in milk: Evaluation of standard official protocols and Petrifilm aerobic count plates. J Dairy Sci [Internet]. 2009 Jul;92(7):3069–73.
15. International Organization for Standardization. ISO 16649-3:2015. Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive Escherichia coli — Part 3: Most probable number technique using 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-glucuronide. Geneva: ISO; 2015.

Anexos

Anexo 1: Flujoograma del Procedimiento de Evaluación de la Competencia Técnica como Requisito para la Autorización de Analistas en Ensayos Microbiológicos

