



PERÚ

Ministerio
de la Producción



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

ORGANISMO NACIONAL DE SANIDAD PESQUERA
COORDINACIÓN DE ENSAYOS DE APTITUD - SANIPES
PROGRAMA DE ENSAYOS DE APTITUD 2023
“DETECCIÓN DE VIRUS DEL SÍNDROME DE LA MANCHA
BLANCA (WSSV)”
INFORME FINAL 2023 - VI

Fecha de emisión: 2024/01/05

Datos de Contacto:

Proveedor: Coordinación de Ensayos de Aptitud - SANIPES

Persona de Contacto: Coordinador de Ensayos de Aptitud

Correo electrónico: Interlaboratorios@sanipes.gob.pe

Teléfono.: (511) 213-8570

Sitio Web:

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

Consulta de Alcance Acreditado:

http://consultaema.mx:75/directorio_PEA/PDFs_PEA/PEA_ENS_18.pdf

Autorizado por:

Revisado por:

Ing. Adrián Ernesto Paredes Espinal
Director
Dirección de Fiscalización Sanitaria (DFS)

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

Página 1 de 14

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



CEA-FT-04, Rev. 03

Fecha: 2022/08/19



PERÚ

Ministerio
de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de
Sanidad Pesquera

"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"

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

DATOS DEL EQUIPO TÉCNICO:

Nombre	Formación	Cargo	Firma
Eduard Manuel Villalobos Infante	Biólogo Microbiólogo	Coordinador de Ensayos de Aptitud	

Carlos Gene Quiróz Gutierrez	Biólogo Microbiólogo	Responsable Técnico de Ensayos de Aptitud	
---------------------------------	-------------------------	--	--





PERÚ

Ministerio de la Producción



SANIPES

Organismo Nacional de Sanidad Pesquera

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

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

INDICE

1.	Introducción	4
2.	Declaración de Confidencialidad e Imparcialidad	5
3.	Procedimiento.....	5
4.	Ítem de Ensayo.....	5
	4.1 Preparación de los Ítems de Ensayo	5
	4.1.1 Contenido del Ítem de Ensayo.....	6
	4.2 Homogeneidad	6
	4.3 Estabilidad	8
	4.4 Distribución y Transporte.....	9
	4.5 [] Resultados Esperados	10
5.	Análisis Estadístico.....	10
6.	Resultados.....	11
7.	Comentarios	13
8.	Anexos.....	14





PERÚ

Ministerio
de la Producción



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

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

1. Introducción

El Organismo Nacional de Sanidad Pesquera-SANIPES implementa, a través de la Dirección de Fiscalización Sanitaria (DFS), el Programa de Ensayos de Aptitud dirigidos a su Red de laboratorios participantes del sector pesquero y acuícola y laboratorios que brindan servicios de ensayos en materia de la Sanidad Acuícola, orientados al diagnóstico de las enfermedades endémicas y emergentes que afectan a los principales recursos hidrobiológicos; el cual permite evaluar los resultados en los ensayos realizados con matrices hidrobiológicas, y así demostrar su competencia técnica para generar resultados técnicamente confiables.

Los Ensayos Interlaboratorios son una herramienta técnica necesaria para implementar un sistema de monitoreo con el fin de vigilar el cumplimiento de los estándares de calidad en los ensayos que se ejecutan en los laboratorios participantes, fortaleciendo el rol del SANIPES y brindando confianza a los consumidores del mercado nacional y/o extranjero, así como a las autoridades sanitarias extranjeras.

El SANIPES, en cumplimiento a su programa de ensayos de aptitud 2023, organizó la prueba de “Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)”, dirigido a los laboratorios que brindan servicios de ensayos en el campo de la Sanidad.

Para el desarrollo del Ensayo de Aptitud de “Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)”, se empleó muestras de órganos y tejidos de “langostino” (*Penaeus vannamei*) analizadas con y sin presencia del virus WSSV. Este ensayo de aptitud fue realizado en cumplimiento a los requisitos de la norma ISO/IEC 17043:2010 “Evaluación de la conformidad - Requisitos generales para los ensayos de aptitud”.

El diseño estadístico se realizó en el marco de la ISO 13528:2022 (Pruebas de Homogeneidad y Estabilidad) “Métodos estadísticos para su uso en pruebas de competencia por comparación entre laboratorios. El personal encargado del proceso, es personal calificado, el cual aseguró la imparcialidad y objetividad en la obtención de los resultados. Los Ítems de Ensayo pueden contener diversos analitos no habituales, con el fin de dar la oportunidad a los participantes de obtener una mayor experiencia.

Los diseños estadísticos estuvieron basados en las hipótesis, los errores, la naturaleza de datos y el número esperado de resultados. Los criterios de aceptación establecidos en la evaluación de





PERÚ

Ministerio
de la Producción



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

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

la calidad del ensayo de aptitud aseguraron que cada participante reciba ítems de ensayo comparables y estables durante el desarrollo del ensayo de aptitud.

El presente informe detalla la información sobre los resultados de los laboratorios participantes, la evaluación de los datos y su desempeño en el ensayo de aptitud para la Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV), desarrollado por la Coordinación de Ensayos de Aptitud (CEA) de SANIPES en referencia de la ISO/IEC 17043:2010.

2. Declaración de Confidencialidad e Imparcialidad

Los participantes del ensayo de aptitud “Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)”, recibieron un código para su identificación, el cual es conocido por el Coordinador de Ensayos de Aptitud y/o de algún personal de la CEA SANIPES que el Coordinador designe, de conformidad a la política de la Coordinación de Ensayos de Aptitud – SANIPES, de mantener la confidencialidad en los resultados obtenidos, en marco del cumplimiento de la norma ISO/IEC 17043:2010.

Toda la información proporcionada por los participantes se mantiene estrictamente confidencial y no se declara a ningún otro de los participantes.

Los resultados del ensayo de aptitud serán comunicados a los participantes mediante correo electrónico interlaboratorios@sanipes.gob.pe, y publicados en la página web institucional.

3. Procedimiento

La información sobre el diseño del Ensayo de Aptitud “Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)”, se encuentra detallado en el Anexo 01.

4. Ítem de Ensayo

4.1. Preparación de los Ítems de Ensayo

El Ítem de Ensayo de este ensayo de aptitud fue preparado por la Coordinación de Ensayos de Aptitud de SANIPES, en condiciones controladas, usando equipos calibrados y material de referencia.



"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"

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

4.1.1 Contenido del Ítem de Ensayo

Matriz

Se distribuyó 30 miligramos de órganos y tejido de "langostino" (*Penaeus vannamei*) en crioviales estériles con tapa rosca y usando como solución conservadora Etanol. Los crioviales fueron debidamente sellados en condiciones asépticas. Se verificó previamente a la distribución, que el mecanismo de sellado prevenga la contaminación.

4.2. Homogeneidad

De cada lote preparado se seleccionaron aleatoriamente 08 Ítems de Ensayo y se analizaron por duplicado en condiciones de repetibilidad, según lo recomendado por la norma ISO 13528: 2022.

Para validar la homogeneidad del Ítem de Ensayo se realizó por duplicado el ensayo de "Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)", mediante la técnica de RT-PCR en tiempo real para determinar la presencia del genoma viral de WSSV, en una muestra de 30 miligramos, siguiendo el procedimiento LAB-PO58-M03-SANIPES.

Para el análisis de homogeneidad, se utilizó ítems de ensayos seleccionados al azar de los lotes preparados y considerados homogéneos cuando presentaron el 100 % de resultados previstos, conforme a su preparación. (Tabla N° 06: Fórmula para calcular % coincidencia).

El resultado de los análisis de homogeneidad, con su validación estadística, se presentan en las Tablas N° 01 y 02, demostrándose que los ítems de ensayo presentaron una homogeneidad apropiada para ser utilizados en el ensayo de aptitud.

Resultados de la Homogeneidad del Ítem de Ensayo



PERÚ

Ministerio de la Producción



SANIPES
Organismo Nacional de Sanidad Pesquera

"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"

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

Tabla Nº 01. Resultados de la Homogeneidad para Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV) – M1

Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)						
Nº de muestra	Lectura			Lectura duplicada		
	Ct	Detectado	No Detectado	Ct	Detectado	No Detectado
1	22,847	Detectado	-	25,243	Detectado	-
2	22,922	Detectado	-	24,383	Detectado	-
3	21,843	Detectado	-	24,233	Detectado	-
4	21,717	Detectado	-	24,012	Detectado	-
5	21,847	Detectado	-	23,776	Detectado	-
6	21,518	Detectado	-	23,281	Detectado	-
7	21,678	Detectado	-	23,827	Detectado	-
8	22,240	Detectado	-	24,521	Detectado	-
Control de Inhibición de PCR			Conforme			
Control negativo de extracción			Conforme			
Control de PCR negativo			Conforme			
Control de PCR positivo			Conforme			

Resultado obtenido: **100%** de las muestras **Detectadas** para Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV).

Homogeneidad: **Aprobada**

Tabla Nº 02. Resultados de la homogeneidad para Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV) – M2

Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)						
Nº de muestra	Lectura			Lectura duplicada		
	Ct	Detectado	No Detectado	Ct	Detectado	No Detectado
1	-	-	No Detectado	-	-	No Detectado
2	-	-	No Detectado	-	-	No Detectado
3	-	-	No Detectado	-	-	No Detectado
4	-	-	No Detectado	-	-	No Detectado
5	-	-	No Detectado	-	-	No Detectado
6	-	-	No Detectado	-	-	No Detectado
7	-	-	No Detectado	-	-	No Detectado
8	-	-	No Detectado	-	-	No Detectado
Control de Inhibición de PCR			Conforme			
Control negativo de extracción			Conforme			
Control de PCR negativo			Conforme			
Control de PCR positivo			Conforme			

Resultado obtenido: **100%** de las muestras **No Detectadas** para Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV).

Homogeneidad: **Aprobada**





"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"

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

4.3. Estabilidad

Los estudios de estabilidad de los Ítems de Ensayo enviados fueron desarrollados con la metodología "Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)", mediante la técnica de RT-PCR en tiempo real para determinar la presencia del genoma viral de WSSV, en una muestra de 30 miligramos, siguiendo el procedimiento LAB-PO58-M03-SANIPES, durante el periodo de ensayo establecido, a fin de asegurar que los Ítems de Ensayo preparados no sufran alteraciones, garantizando su estabilidad durante este periodo.

Para garantizar la estabilidad de la muestra, durante el periodo de ejecución del Ensayo de Aptitud, se analizaron aleatoriamente del lote preparado 3 (tres) Ítems de Ensayo por duplicado a los 5, 10 y 15 días (Tiempo1, Tiempo2 y Tiempo3 respectivamente), de haber realizado el estudio de homogeneidad (ISO 13528: 2022). Esta prueba se llevó a cabo utilizando el mismo método utilizado en la homogeneidad de la muestra.

Al respecto, se debe indicar que el lote se considera estable cuando el 100% de los ítems de ensayo presentan resultados previstos, según su preparación (Tabla N° 06: Fórmula para calcular % coincidencia). Los resultados de análisis de estabilidad presentados en las Tablas N° 03 y 04, demuestran que los Ítems de Ensayo son lo suficientemente estables para el propósito de este ensayo de aptitud.

Resultados de la prueba de Estabilidad del Ítem de Ensayo

Tabla N° 03. Resultados de la estabilidad Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV) – M1

Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)						
N° de muestras	Lectura			Lectura duplicada		
	Ct	Detectado	No Detectado	Ct	Detectado	No Detectado
2023/12/11	25,193	Detectado	-	24,538	Detectado	-
2023/12/16	23,199	Detectado	-	22,167	Detectado	-
2023/12/21	23,637	Detectado	-	23,265	Detectado	-
Control de Inhibición de PCR			Conforme			
Control negativo de extracción			Conforme			
Control de PCR negativo			Conforme			
Control de PCR positivo			Conforme			

Resultado obtenido: **100%** de las muestras **Detectadas** para Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV).

Estabilidad: **Aprobada**



"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"

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

Tabla Nº 04. Resultados de la estabilidad Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV) – M2

Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)						
Nº de muestras	Lectura			Lectura duplicada		
	Ct	Detectado	No Detectado	Ct	Detectado	No Detectado
2023/12/11	-	-	No Detectado	-	-	No Detectado
2023/12/16	-	-	No Detectado	-	-	No Detectado
2023/12/21	-	-	No Detectado	-	-	No Detectado
Control de Inhibición de PCR			Conforme			
Control negativo de extracción			Conforme			
Control de PCR negativo			Conforme			
Control de PCR positivo			Conforme			

Resultado obtenido: 100% de las muestras **No Detectadas** para Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV).

Estabilidad: **Aprobada**

4.4. Distribución y Transporte

Para la "Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)", cada laboratorio participante recibió dos (02) crioviales de plástico estériles con tapa rosca conteniendo 30 miligramos de órganos y tejido de "langostino" (*Penaeus vannamei*) cada uno, usando como solución conservadora etanol e identificados con etiquetas impermeables.

Los laboratorios participantes fueron codificados según los códigos: S-001, S-002, S-003, S-004, S-005 y S-006

El material fue acondicionado en cajas térmicas con geles refrigerantes para mantener la temperatura hasta la llegada a los laboratorios. Los Ítems de Ensayo del presente ensayo de aptitud fueron recogidos por los participantes en las instalaciones del SANIPES - Sede Callao, el 06 de diciembre del 2023, las instrucciones del ensayo de aptitud y los acuerdos con los participantes fueron entregadas junto con los Ítems de Ensayo. Para el caso de las muestras que fueron enviadas a Tumbes y Piura, estas fueron recogidas por los participantes.

NOTA 1: CEA-SANIPES no se responsabilizará por la estabilidad y homogeneidad de los Ítems de Ensayo, si estos se analizan fuera del tiempo establecido en las instrucciones.



"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"

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

4.5. [] Resultados esperados

Tabla N° 05. Resultados esperados

Código de los ítems de ensayo	Resultado esperado	Patógeno de Interés
M1	Detectado	Órganos y tejidos de "langostino" (<i>Penaeus vannamei</i>) + Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)
M2	No detectado	Órganos y tejidos de "langostino" (<i>Penaeus vannamei</i>)

5. Análisis Estadístico

El objetivo del tratamiento estadístico es obtener un resultado simple y transparente, de fácil comprensión para los laboratorios participantes, la evaluación cualitativa se realiza en base al reporte de falsos positivos, falsos negativos o resultados correctos.

Criterios y Evaluación del desempeño

Para el análisis estadístico del Ensayo de Aptitud cualitativo (Detectado/No detectado) de Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV), se calculó el porcentaje de coincidencia (Tabla N°08). Un resultado es clasificado como satisfactorio si el porcentaje de coincidencia es **igual a 100 %**; no permitiendo resultados falsos positivos o falsos negativos.

Tabla N° 06. Cálculo de porcentaje de coincidencia

Resultado reportado	Resultado esperado	
	Presencia	Ausencia
Presencia	Verdadero positivo (VP)	Falso Positivo (FP)
Ausencia	Falso negativo (FN)	Verdadero Negativo (VN)

$$\% \text{ Coincidencia} = \frac{VN + VP}{VP + FP + FN + VN} \times 100$$



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

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

6. Resultados

Los resultados de los participantes fueron reportados a través del correo interlaboratorios@sanipes.gob.pe, teniendo como fecha máxima de recepción el 22 de diciembre de 2023, éstos se presentan en la Tabla N° 07.

Tabla N° 07. Resultados individuales de los participantes en la prueba de “Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)”

Código de participante	Ítem de ensayo	Método	Resultado del participante	Resultado cualitativo esperado	Desempeño (% coincidencia)	EVALUACIÓN CUALITATIVA
S-001	M1	Detección de WSSV Referencia: NESTED PCR (OIE-Lo et al., 1997. Primera PCR	Positivo	Detectado	100	Satisfactorio
	M2	146F1/146R. Segunda PCR 146F2/146R2). qPCR (IN HOUSE)	Negativo	No Detectado	100	
S-002	M1	DETECCIÓN DEL VIRUS DEL SÍNDROME DE MANCHA (Para determinar muestras negativas de WSSV por la técnica de PCR-RT en tiempo real) OIE Manual de las Pruebas de Diagnóstico para los Animales Acuáticos. Capítulo 2.3.8 Infección por el virus del síndrome de la mancha blanca. Part 4.3.1.2.4.3: 2019 Validado (Modificado)	Positivo	Detectado	100	Satisfactorio
	M2	2020 Método de Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV) en langostinos congelados por la técnica de PCR en tiempo real.	Negativo	No Detectado	100	
S-003	M1	Nested-PCR para detección de WSSV basado en Lo et al. 1996, versión OMSA 2022.	Positivo	Detectado	100	Satisfactorio
	M2		Negativo	No Detectado	100	
S-004	M1	OMSA (Organización mundial de Sanidad Animal). 2022. Manual de las pruebas de diagnóstico para los	Positivo	Detectado	100	Satisfactorio



"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"

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

	M2	animales acuáticos. Infección por el virus del síndrome de las manchas blancas (versión adoptada en mayo de 2018)	Negativo	No Detectado	100	Satisfactorio
S-005	M1	TaqMan qPCR	Positivo	Detectado	100	
	M2		Negativo	No Detectado	100	
S-006	M1	PCR EN TIEMPO REAL PARA DETECCIÓN DE WSSV	Negativo	Detectado	0	No Satisfactorio
	M2		Negativo	No Detectado	100	

Evaluación cualitativa Satisfactoria: ■

Evaluación cualitativa No Satisfactoria: ■

NOTA 2: Detectado es equivalente a Presencia/Positivo y No detectado es equivalente a Ausencia/Negativo.

Resultado obtenido: 05/06 participantes con una coincidencia del 100% y 01/06 participantes con una coincidencia del 50% en la prueba en "Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)"

Prueba de detección: 83.3 % Satisfactorio y 16.7 % No Satisfactorio

Tabla N° 8. Resumen de resultados

Ensayo	Resultados reportados	Resultados correctos	Resultados errados	Porcentaje de coincidencia (%)
Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)	12	11	1	91.7



PERÚ

Ministerio
de la Producción



"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"

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

7. Comentarios

Participaron 06 laboratorios en el Ensayo de aptitud Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV), organizado por SANIPES

De los resultados reportados por los laboratorios participantes, obtuvieron un rendimiento satisfactorio 05/06 (83.33%), en el Ensayo de Aptitud para la "Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)" 2023-VI.

Estas pruebas Interlaboratorios para efectos de auditorías no reemplaza los ensayos de aptitud que debe realizar el participante en cumplimiento de las directrices de su ente acreditador.





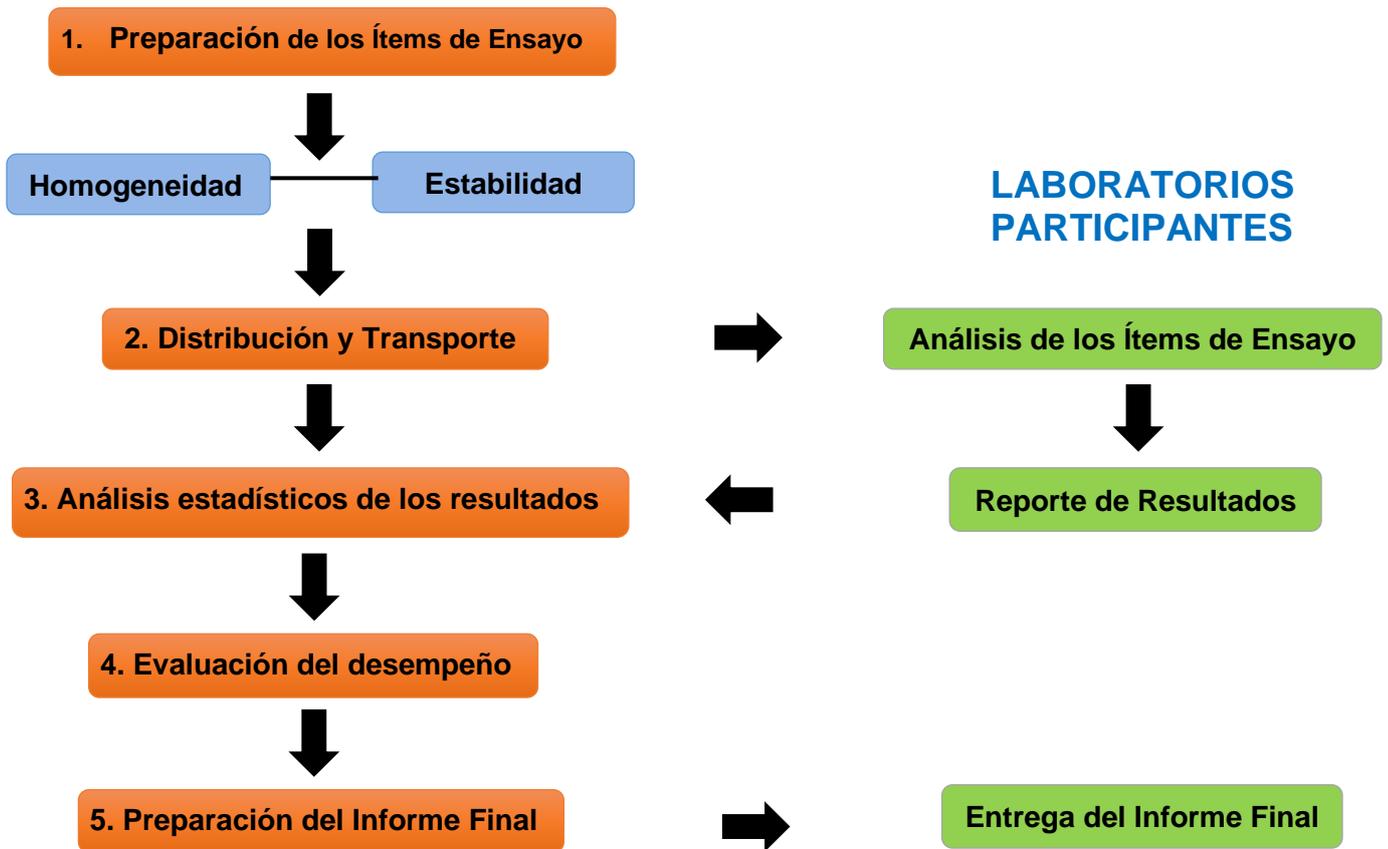
“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho”

8. Anexos

Anexo 1

Diseño del Ensayo de Aptitud “Detección de Virus del Síndrome de la Mancha Blanca (WSSV)”

CEA-SANIPES



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

