



PERÚ

Ministerio
de la Producción



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad”

ORGANISMO NACIONAL DE SANIDAD PESQUERA Y ACUÍCOLA

SANIPES

PROGRAMA INTERLABORATORIO

“DETECCIÓN DE *VIBRIO CHOLERAE*”

INFORME FINAL 2019-I

Fecha de emisión: 2019/12/02

Datos de Contacto: Correo electrónico Interlaboratorios@sanipes.gob.pe

Tel: (511) 213-8570 Anexo 7019.

Web: www.sanipes.gob.pe

Autorizado por:

Ana Lorena Prado Ríos

Directora

Dirección Sanitaria y de Normatividad

Pesquera y Acuícola

Revisado por:

Blgo. Christian Miguel Rebatta Quintanilla

Coordinador de Pruebas de Proficiencia

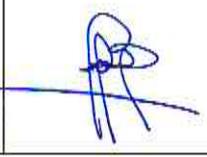
Dirección Sanitaria y de Normatividad

Pesquera y Acuícola



"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"
"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

DATOS DEL EQUIPO TÉCNICO:

Colaborador	Formación	Función	Firma
Christian Miguel Rebatta Quintanilla	Biólogo	Coordinador de Pruebas de Proficiencia	
Eduard Manuel Villalobos Infante	Biólogo Microbiólogo	Especialista de Pruebas Interlaboratorios	
Daniel Enrique Morante Becerra	Biólogo Pesquero	Coordinador de Auditorias Sanitarias	



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad”

INDICE

1.	Introducción	4
2.	Ítems de ensayo	6
2.1.	Preparación de los ítems de ensayo.....	6
2.1.1.	Homogeneidad	6
2.1.2.	Estabilidad	7
2.2.	Distribución y Transporte.....	7
2.2.1.	Contenido de los ítems de ensayo o resultados esperados	8
2.3.	Declaración de Confidencialidad	8
3.	Análisis estadístico	8
4.	Resultados	9
5.	Comentarios	9
6.	Anexos.....	11





1. Introducción

El Organismo Nacional de Sanidad Pesquera-SANIPES implementa, a través de la Dirección Sanitaria de Normatividad Pesquera y Acuícola, el programa de ensayos interlaboratorios dirigidos a las Entidades de Ensayo autorizadas y previamente acreditadas por el INACAL, las cuales participan en el Control y Certificación Oficial Sanitaria del sector pesquero y acuícola; programa que permite evaluar los resultados en los ensayos realizados con matrices hidrobiológicas, y así demostrar la confiabilidad y competencia técnica.

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

El SANIPES continuando con su programa de Interlaboratorios, organizó, la prueba Detección de *Vibrio cholerae*, ensayo usado en la Certificación Oficial Sanitaria del sector pesquero y acuícola y en algunos requisitos sanitarios de productos hidrobiológicos.

Vibrio cholerae es nativo de ambientes acuáticos salobres en áreas tropicales, subtropicales y templadas en todo el mundo, estableciendo más de doscientos serogrupos O para este *Vibrio*, siendo las cepas que pertenecen a los serotipos O1 y O139 generalmente las que poseen el gen ctx y producen la toxina del cólera (CT) y son responsables de las epidemias de cólera, sin embargo algunas cepas pertenecientes a serogrupos O distintos a los O1 y O139 (denominados no-O1/no-O139) relaciona con el consumo de alimentos de origen marino especialmente mariscos bivalvos crudos, provocan infecciones en humanos, mostrando varias presentaciones clínicas; la más frecuente corresponde a un cuadro de gastroenteritis aguda con diferentes grados de gravedad.

Para el desarrollo del interlaboratorio de *Vibrio cholerae* se emplearon cepas de interés tales como *Vibrio cholerae* NCTC 8021 y *Vibrio cholerae* No O1 / No O139 CNSP-INS. Este interlaboratorio 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” y la NTP ISO/IEC 17025:2006 “Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y calibración”. El diseño estadístico se realizó en el marco de la ISO 13528:2015 (pruebas de Homogeneidad y Estabilidad) “Métodos estadísticos para su uso en pruebas de competencia por comparación entre laboratorios. El personal encargado del proceso interlaboratorios, es personal calificado, el cual aseguró la imparcialidad y objetividad en la obtención de los resultados. Los ítems de ensayo pueden contener



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

“Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad”

diversos analitos no habituales con el fin de dar la oportunidad a los participantes de obtener una mayor experiencia.

Los diseños estadísticos estuvieron basados en las hipótesis, los errores, la naturaleza de datos y el número esperado de resultados. Los criterios de aceptación establecidos en la evaluación de la calidad del ensayo interlaboratorio aseguraron que cada participante reciba ítems de ensayo comparables y estables durante el desarrollo del interlaboratorio.

El presente informe detalla la información sobre los resultados de los laboratorios participantes, la evaluación de los datos y su desempeño en el Interlaboratorio para la Detección de *Vibrio cholerae*, desarrollado por el SANIPES en referencia de la ISO/IEC 17043:2010.



2. Ítems de ensayo

2.1. Preparación de los ítems de ensayo

Los ítems de ensayo de este interlaboratorio fueron preparados por la Coordinación de Ensayos de Aptitud, con el uso de algunos equipos e instalaciones del laboratorio de Microbiología de SANIPES, en condiciones controladas, usando equipos calibrados, material de referencia certificado y materia prima seleccionada para la preparación de las matrices.

Matriz

Se distribuyó 40 gramos de Pescado congelado (Perico: *Coryphaena hippurus*) en bolsas estériles debidamente selladas en condiciones asépticas. Se verificó previamente a la distribución, que el mecanismo de sellado prevenga la contaminación y que la matriz no contenga los microorganismo de interés de esta ronda.

Material Liofilizado

Para la preparación del ítem de ensayo se utilizaron como microorganismos de interés, cultivos liofilizados de *Vibrio cholerae* NCTC 8021, y *Vibrio cholerae* No O1 / No O139 CNSP-INS, para su conservación y distribución.

2.1.1. Homogeneidad

De cada lote preparado se seleccionaron aleatoriamente 10 ítems de ensayo y se analizaron por duplicado según lo recomendado por la norma ISO 13528: 2015

Para validar la homogeneidad del ítem de ensayo se determinó la presencia y ausencia del microorganismo inoculado aplicándose el método FAO 4 Rev. 1. CHAPTER 6. PÁG. 57-61. 1992 *Vibrio cholerae*.

Para el análisis de homogeneidad, se utilizó ítems de ensayos seleccionado al azar del lote preparado y considerado homogéneo cuando presentaron el 100 % de resultados previstos, conforme a su preparación (Tabla N° 3: Fórmula para calcular % coincidencia).

El resultado de los análisis de homogeneidad, con su validación estadística se presentan en el Anexo 2, demostrándose que los ítems de ensayo presentaron una homogeneidad apropiada para ser utilizados en la prueba interlaboratorio.



2.1.2. Estabilidad

Los estudios de estabilidad de los ítems de ensayo enviados fueron desarrollados con la metodología FAO 4 Rev. 1. CHAPTER 6. PÁG. 57-61. 1992 "Detección de *Vibrio cholerae*", durante el periodo establecido, a fin de asegurar que los ítems de ensayo preparados no sufran alteraciones, garantizando su estabilidad durante este periodo.

Para garantizar la estabilidad se analizó 3 ítems de ensayo seleccionados aleatoriamente del lote preparado (ISO 13528: 2015) y se evaluó su estabilidad durante 3 periodos de tiempo diferentes (dentro del plazo de ensayo establecido).

Al respecto, se debe indicar que el lote de material se considera estable cuando el 100% de los ítems de ensayo presentan los resultados previstos según la preparación (Tabla N°3: Fórmula para calcular % coincidencia).

Los resultados de análisis de estabilidad presentados en el Anexo 3 demuestran que los ítems de ensayo son lo suficientemente estables para el propósito de este interlaboratorio.

2.2. Distribución y Transporte

Para la detección de *Vibrio cholerae*, cada laboratorio participante recibió 3 bolsas conteniendo 40 g de matriz pescado congelado (c/u) y 3 viales con el Liofilizado microbiano para la fortificación de la matriz, ambos sellados e identificado con etiquetas impermeables.

Los laboratorios participantes fueron codificados y agrupados según: Grupo 1 Códigos: S-009, S-010, S-011, S-012, S-013 y S-014; y Grupo 2 Códigos: S-001, S-002, S-003, S-004, S-006 y S-008.

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 interlaboratorio fueron recogidos por los participantes en las instalaciones del SANIPES - Sede Callao, el 29 de octubre del 2019, las instrucciones del interlaboratorio fueron entregadas junto con los ítems de ensayo.

* **NOTA 1:** SANIPES no se responsabilizó 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 de la lucha contra la corrupción y la impunidad”

2.2.1. Contenido de los ítems de ensayo o resultados esperados

Tabla N°1. Grupo 1 Resultados esperados

Código de los ítems de ensayo	Resultado esperado	Microorganismos de Interés
M-4	Presencia	<i>Vibrio cholerae</i> NCTC 8021
M-5	Ausencia	-
M-6	Presencia	<i>Vibrio cholerae</i> No O1 / No O139 CNSP-INS

Tabla N°2. Grupo 2 Resultados esperados

Código de los ítems de ensayo	Resultado esperado	Microorganismos de Interés
M-1	Presencia	<i>Vibrio cholerae</i> NCTC 8021
M-2	Ausencia	-
M-3	Presencia	<i>Vibrio cholerae</i> No O1 / No O139 CNSP-INS

2.3. Declaración de Confidencialidad

Los participantes del ensayo interlaboratorio “Detección de *Vibrio cholerae*”, recibieron un código para su identificación, el cual es únicamente de conocimiento para las personas involucradas en la ejecución del interlaboratorio, de conformidad a la política del SANIPES de mantener la confidencialidad en los resultados obtenidos, en marco del cumplimiento de la norma ISO/IEC 17043:2010.

Los resultados del ensayo interlaboratorio serán comunicados a los participantes mediante correo electrónico u oficio. Si los resultados fueran no satisfactorios y/o cuestionables, se informará al participante, y se procederá a una posterior comunicación al área de Auditorías Sanitarias para que se realice el seguimiento según los procedimientos competentes vigentes.

Para efectos de este interlaboratorio se realizará otra ronda para los laboratorios que hayan obtenidos resultados no satisfactorios y/o cuestionables, esperando que se hayan identificado y corregido los causales.

3. 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.



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad”

Evaluación del rendimiento

Para el análisis estadístico de la prueba interlaboratorio cualitativa (Presencia/Ausencia) de *Vibrio cholerae*, se calculó el porcentaje de coincidencia (Tabla N°3). 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°3. 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)

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

4. Resultados

Los resultados de los participantes fueron reportados a través del correo interlaboratorios@sanipes.gob.pe, teniendo como fecha máxima de recepción el 07 de noviembre de 2019, estos se presentan en la tabla N°4 y tabla N°5 del Anexo 1.

Tabla N°4. Resumen de resultados

Prueba	Resultados reportados	Resultados correctos	Resultados errados	Porcentaje de coincidencia
Detección de <i>Vibrio cholerae</i>	33	28	05	84.8 %

5. Comentarios

Participaron 11 laboratorios que operan con la norma NTP ISO/IEC 17025:2006, de los cuales 8 (S-001, S-002, S-003, S-004, S-006, S-008, S-009, S-011) cuentan con la autorización de SANIPES, para el desarrollo del método de Detección de *Vibrio cholerae*, y participaron 3 laboratorios (S-010, S-012 y S-013) que no tienen la metodología autorizada, los cuales no fueron considerados en la evaluación de desempeño. Los métodos utilizados por los participantes fueron: FDA/BAM, Online, 8th Ed. Rev. A, 1998. May 2004 - Chapter 9. A (1-9), C (API 20E). 2004. *Vibrio cholerae*, FAO 4 Rev. 1. CHAPTER 6.



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

“Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad”

PÁG. 57-61. 1992 Detección de *Vibrio cholerae* y Detección de *Vibrio cholerae*. ISO 21872-1. First Edition 2017.

De los resultados reportados por los laboratorios participantes (autorizados), obtuvieron un rendimiento satisfactorio 6/8 (75.0%) y resultados insatisfactorios 2/8 (25.0%) en el interlaboratorio para la detección *Vibrio cholerae* 2019-I.

Esta prueba interlaboratorio para efectos de auditorías sanitarias no reemplaza los ensayos de aptitud que debe realizar el participante en cumplimiento de las directrices de su ente acreditador.



“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad”

6. Anexos

Anexo 1. Resultados de los participantes

Tabla Nº5. Resultados de Detección de *Vibrio cholerae* en matriz pescado congelado para todos los participantes

Código de participante	Ítem de ensayo	Método	Resultado esperado	Resultado	% coincidencia
S-001	M-1	FDA/BAM, On line, 8th Ed. Rev. A, 1998. May 2004 - Chapter 9. A (1-9), C (API 20E). 2004. <i>Vibrio. V. cholerae</i>	+	+	100
	M-2		-	-	
	M-3		+	+	
S-002	M-1	FDA/BAM, Online 8th Ed. Rev. A/ 1998. May 2004-Chapter 9 A-B, 1-5C Excepto el uso del Antisuero O139	+	+	100
	M-2		-	-	
	M-3		+	+	
S-003	M-1	FDA/BAM, On line, 8th Ed. Rev. A, 1998. May 2004 - Chapter 9. A (1-9), C (API 20E). 2004. <i>Vibrio. V. cholerae</i>	+	+	66.7
	M-2		-	-	
	M-3		+	-	
S-004	M-1	FDA/CFSAN Bacteriological Analytical Manual Online - May 2004. Chapter 9. Edition 8, Revisión A / 1998. 1995 FDA/BAM <i>Vibrio</i> Procedures: <i>V. cholerae</i> (ítems A, B: 1-5 a,b,c) – Excepto el uso del antisuero O139	+	+	100
	M-2		-	-	
	M-3		+	+	
S-006	M-1	Detection de <i>Vibrio cholerae</i> FDA/BAM, Online, Rev. May 2004, Chapter 9, (A-B:1-5 A,B,C) (excepto uso de antisuero O139) 8th ed. 2004 <i>Vibrio. Vibrio cholerae.</i>	+	+	100
	M-2		-	-	
	M-3		+	+	
S-008	M-1	Detection de <i>Vibrio cholerae</i> FDA/BAM, Online 8th Ed. Rev. A / 1998. May 2004. Chapter 9, A-C (Ítem B5 No se Usa Antisuero O139).	+	+	100
	M-2		-	-	
	M-3		+	+	
S-009	M-1	FAO 4 Rev. 1. CHAPTER 6. PÁG. 57-61. 1992 Detección de <i>Vibrio cholerae</i>	+	+	100
	M-2		-	-	
	M-3		+	+	
S-010	M-1	Detección de <i>Vibrio cholerae</i> . ISO 21872-1. First Edition 2017.	+	-	66.7
	M-2		-	-	
	M-3		+	+	
S-011	M-1	<i>Vibrio Cholerae</i> : BAM online FDA/CFSAN, Cap. 9 A-B 1-5c, excepto el uso del antisuero O139,	+	+	33.3
	M-2		-	+	



"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"
"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

	M-3	8th Edition Revisión A, 1998 Reescrito y revisado Mayo 2004	+	-	
S-012	M-1	FDA/BAM 8th Ed. Rev. A, 1998 (2004). Chapter 9, May 2004, Ítems A y B. Sin identificación del Serogrupo O139.	+	+	66.7
	M-2		-	-	
	M-3		+	-	
S-013	M-1	FDA/BAM Online, Chapter 9. Rev. May 2004 (Excepto el uso del Antisuero O139) 8th Ed.	+	+	100
	M-2		-	-	
	M-3		+	+	

+ Presencia; - Ausencia

Resultado obtenido: 7/11 participantes con una coincidencia del 100%, 3/11 con una coincidencia del 66.7 % y 1/11 con una coincidencia del 33.3% en la prueba de Detección de *Vibrio cholerae*

Prueba de detección: 75.0 % Satisfactorio 25.0 % Insatisfactorio

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad”

Anexo 2. Resultados de pruebas de homogeneidad

A2.1. Homogeneidad de la muestra *Vibrio cholerae* NCTC 8021

Tabla N°6. Resultados de la homogeneidad de la muestra (M1-M4) (Presencia/Ausencia)

<i>Vibrio cholerae</i> NCTC 8021				
Siembra: Fecha de siembra 29/10				
Lectura: Fecha de lectura 05/11				
N° de Lote de liofilizado: 02				
N° de ítems de ensayo	Resultado 1		Resultado 2	
	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
R1	Presencia	-	Presencia	-
R2	Presencia	-	Presencia	-
R3	Presencia	-	Presencia	-
R4	Presencia	-	Presencia	-
R5	Presencia	-	Presencia	-
R6	Presencia	-	Presencia	-
R7	Presencia	-	Presencia	-
R8	Presencia	-	Presencia	-
R9	Presencia	-	Presencia	-
R10	Presencia	-	Presencia	-

Resultado obtenido: 100% de las muestras presencia de *Vibrio cholerae* NCTC 8021

Homogeneidad: Aprobada

“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad”

A2.2. Homogeneidad de la muestra *Vibrio cholerae* No O1 / No O139 CNSP-INS.

Tabla N°7. Resultados de la homogeneidad de la muestra (M3-M6) (Presencia/Ausencia)

<i>Vibrio cholerae</i> No O1 / No O139 CNSP-INS				
Siembra: Fecha de siembra 29/10				
Lectura: Fecha de lectura 05/11				
N° de Lote de liofilizado: 02				
N° de ítems de ensayo	Resultado 1		Resultado 2	
	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
R1	Presencia	-	Presencia	-
R2	Presencia	-	Presencia	-
R3	Presencia	-	Presencia	-
R4	Presencia	-	Presencia	-
R5	Presencia	-	Presencia	-
R6	Presencia	-	Presencia	-
R7	Presencia	-	Presencia	-
R8	Presencia	-	Presencia	-
R9	Presencia	-	Presencia	-
R10	Presencia	-	Presencia	-

Resultado obtenido: 100% de las muestras ausencia de *Vibrio cholerae* No O1 / No O139 CNSP-INS.

Homogeneidad: Aprobada





“Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres”
“Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad”

Anexo 3. Resultados de la prueba de estabilidad de la muestra

Tabla N°8. Resultados de la estabilidad de la muestra (M1-M4) (*Vibrio cholerae* NCTC 8021)

<i>Vibrio cholerae</i> NCTC 8021				
N° de Lote de liofilizado: 02				
Fecha de siembra	Resultado 1		Resultado 2	
	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
30/10	Presencia	-	Presencia	-
05/11	Presencia	-	Presencia	-
08/11	Presencia	-	Presencia	-

Resultado obtenido: 100% de las muestras presencia de *Vibrio cholerae* NCTC 8021.
Estabilidad: Aprobada

Tabla N°09. Resultados de la estabilidad de la muestra (M3-M6) (*Vibrio cholerae* No 01 / No 0139)

<i>Vibrio cholerae</i> No 01 / No 0139 CNSP-INS				
N° de Lote de liofilizado: 02				
Fecha de siembra	Resultado 1		Resultado 2	
	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
30/10	Presencia	-	Presencia	-
05/11	Presencia	-	Presencia	-
08/11	Presencia	-	Presencia	-

Resultado obtenido: 100% de las muestras ausencia de *Vibrio cholerae* No 01 / No 0139 CNSP-INS
Estabilidad: Aprobada

