

ORGANISMO NACIONAL DE SANIDAD PESQUERA Y ACUÍCOLA
COORDINACIÓN DE ENSAYOS DE APTITUD-SANIPES
PROGRAMA INTERLABORATORIO
"DETECCIÓN DE *VIBRIO CHOLERAE*"
INFORME FINAL 2021-II

Fecha de emisión: 2021/07/27

Datos de Contacto

Proveedor: Coordinación de Ensayos de Aptitud – SANIPES


Persona de Contacto: Coordinador de Ensayos de Aptitud

Correo electrónico: Interlaboratorios@sanipes.gob.pe

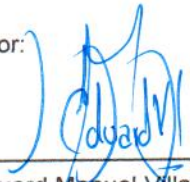
Teléfono: (511) 213-8570 Anexo 8008.

Web: www.sanipes.gob.pe

Autorizado por:


Abog. Mercedes Govea Requena
Directora
Dirección Sanitaria y de Normatividad
Pesquera y Acuícola

Revisado por:


Blgo. Eduard Manuel Villalobos Infante
Coordinador de Ensayos de Aptitud
Dirección Sanitaria y de Normatividad
Pesquera y Acuícola



BICENTENARIO
PERÚ 2021

Página 1 de 14

CEA-FT-04, Rev. 01

Domingo Orué N° 165, piso 7, Surquillo - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2 – Callao
www.sanipes.gob.pe

Fecha: 2020/12/30

DATOS DEL EQUIPO TÉCNICO:

<u>Nombre</u>	<u>Formación</u>	<u>Cargo</u>	<u>Firma</u>
Eduard Manuel Villalobos Infante	Biólogo	Coordinador de Ensayos de Aptitud	 
Christian Miguel Rebatta Quintanilla	Biólogo	Responsable Técnico de Ensayos de Aptitud	 



INDICE

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



BICENTENARIO
PERÚ 2021

Página 3 de 14

CEA-FT-04, Rev. 01

Domingo Orué N° 165, piso 7, Surquillo - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2 – Callao
www.sanipes.gob.pe

Fecha: 2020/12/30

1. Introducción

El Organismo Nacional de Sanidad Pesquera-SANIPES implementa, a través de la Dirección Sanitaria y 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.

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 las Entidades de Ensayo, fortaleciendo el rol del SANIPES y brindando confianza a los consumidores del mercado nacional y/o extranjero, así como a las autoridades sanitarias extranjeras.

El SANIPES, 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 alginolyticus* CNSP-INS y *Vibrio cholerae* No O1 / No O139 CNSP-INS (Sin toxina). 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 17025:2017 "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 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 la Coordinación de Ensayos de Aptitud de SANIPES en referencia de la ISO/IEC 17043:2010.

2. Declaración de Confidencialidad e Imparcialidad

Los participantes del ensayo Interlaboratorio “Detección de *Vibrio cholerae*”, recibieron un código para su identificación, el cual es conocido únicamente por las personas involucradas en la ejecución del interlaboratorio, 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.

Los resultados del ensayo Interlaboratorio serán comunicados a los participantes mediante correo electrónico u oficio y publicados en la página web institucional.

3. Procedimiento

La información sobre el diseño del Ensayo de Aptitud “Detección de *Vibrio cholerae*”, se encuentra detallado en el Anexo 01.



BICENTENARIO
PERÚ 2021

Página 5 de 14

CEA-FT-04, Rev. 01

Domingo Orué N° 165, piso 7, Surquillo - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2 – Callao
www.sanipes.gob.pe

Fecha: 2020/12/30

4. Ítems de Ensayo

4.1. Preparación de los Ítems de Ensayo

El ítem de ensayo de este interlaboratorio fue preparado por la Coordinación de Ensayos de Aptitud de SANIPES, en condiciones controladas, usando equipos calibrados, material de referencia certificado y materia prima seleccionada para la preparación de las matrices.

Matriz

Se distribuyó 25 gramos de Langostino congelado (*Litopenaeus vannamei*) 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 microorganismos de interés de esta ronda.

Material Liofilizado

Para la preparación del ítem de ensayo se utilizaron como microorganismos de interés:

- Lote liofilizado 121125 de fecha 2021/05/12, cultivo liofilizado de *Vibrio alginolyticus* CNSP-INS.
- Lote liofilizado 321135 de fecha 2021/05/13, cultivo liofilizado de *Vibrio cholerae* No O1 / No O139 CNSP-INS (Sin toxina).

Se envió tres (3) viales de vidrio sellados con precinto de aluminio, conteniendo cada uno, una suspensión microbiana liofilizada de los microorganismos anteriormente descritos.

4.2. 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 mediante el método Detección de *Vibrio cholerae* FAO 4 Rev. 1. CHAPTER 6. PÁG. 57-61. 1992, y para las pruebas bioquímicas se utilizó API 20E.



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 la prueba interlaboratorio.

Homogeneidad del ítem de ensayo (matriz y material liofilizado)

Tabla N°01. Resultados de la homogeneidad *Vibrio alginolyticus* CNSP-INS + langostino Congelado (M1)

<i>Vibrio alginolyticus</i> CNSP-INS				
Siembra : Fecha de siembra 2021-05-25				
Lectura : Fecha de reporte 2021-05-29				
N° de Lote de liofilizado: 121125				
N° de muestras	Lectura		Lectura duplicado	
	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
R1	-	Ausencia	-	Ausencia
R2	-	Ausencia	-	Ausencia
R3	-	Ausencia	-	Ausencia
R4	-	Ausencia	-	Ausencia
R5	-	Ausencia	-	Ausencia
R6	-	Ausencia	-	Ausencia
R7	-	Ausencia	-	Ausencia
R8	-	Ausencia	-	Ausencia
R9	-	Ausencia	-	Ausencia
R10	-	Ausencia	-	Ausencia

Resultado obtenido: **100%** de las muestras con **Ausencia** para *Vibrio cholerae*.

Homogeneidad: **Aprobada**



Tabla N°02. Resultados de la homogeneidad *Vibrio cholerae* No O1 / No O139 CNSP-INS
(Sin toxina) + langostino congelado (M2-M3)

<i>Vibrio cholerae</i> No O1 / No O139 CNSP-INS (Sin toxina)				
Siembra : Fecha de siembra 2021-05-25				
Lectura : Fecha de reporte 2021-05-29				
N° de Lote de liofilizado: 321135				
N° de muestras	Lectura		Lectura duplicada	
	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 con **Presencia** para *Vibrio cholerae*.

Homogeneidad: **Aprobada**

4.3. Estabilidad

Los estudios de estabilidad de los ítems de ensayo enviados fueron desarrollados con la metodología Detección de *Vibrio cholerae* FAO 4 Rev. 1. CHAPTER 6. PÁG. 57-61. 1992, y para las pruebas bioquímicas se utilizó API 20E, 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, se analizó 3 ítems de ensayo por duplicado, seleccionados aleatoriamente de los lotes preparados (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°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 interlaboratorio.

Resultados de la prueba de estabilidad del ítem de ensayo (matriz y material liofilizado)

Tabla N°03. Resultados de la estabilidad *Vibrio alginolyticus* CNSP-INS + langostino congelado (M1)

<i>Vibrio alginolyticus</i> CNSP-INS				
Tiempo	Resultado 1		Resultado 2	
	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
2021/05/25	-	Ausencia	-	Ausencia
2021/05/29	-	Ausencia	-	Ausencia
2021/06/04	-	Ausencia	-	Ausencia

Resultado obtenido: **100%** de las muestras con **Ausencia** para *Vibrio cholerae*.

Estabilidad: **Aprobada**

Tabla N°04. Resultados de la estabilidad *Vibrio cholerae* No O1 / No O139 CNSP-INS (Sin toxina) + langostino congelado (M2-M3)

<i>Vibrio cholerae</i> No O1 / No O139 CNSP-INS (Sin toxina)				
Tiempo	Resultado 1		Resultado 2	
	Presencia	Ausencia	Presencia	Ausencia
2021/05/25	Presencia	-	Presencia	-
2021/05/29	Presencia	-	Presencia	-
2021/06/04	Presencia	-	Presencia	-

Resultado obtenido: **100%** de las muestras con **Presencia** para *Vibrio cholerae*.

Estabilidad: **Aprobada**

4.4. Distribución y Transporte

Para la detección de *Vibrio cholerae*, cada laboratorio participante recibió 3 bolsas conteniendo 25 g de matriz Langostino congelado (c/u) y 3 viales con Liofilizado para la fortificación de la matriz, sellados e identificado con etiquetas impermeables.

Los laboratorios participantes fueron codificados según los Códigos: S-001, S-002, S-003, S-004, S-006, S-007 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 25 de mayo del 2021, las instrucciones del interlaboratorio y los acuerdos con los participantes fueron entregadas junto con los ítems de ensayo.

NOTA 1: CEA-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.

4.5. Contenido de los ítems de ensayo o resultados esperados

Tabla N°05. Resultados esperados

Código de los ítems de ensayo	Resultado esperado	Microorganismo
M-1	Ausencia	<i>Vibrio alginolyticus</i> CNSP-INS
M-2	Presencia	<i>Vibrio cholerae</i> No O1 / No O139 CNSP-INS (Sin toxina)
M-3	Presencia	<i>Vibrio cholerae</i> No O1 / No O139 CNSP-INS (Sin toxina)

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 de la prueba interlaboratorio cualitativa (Presencia/Ausencia) de *Vibrio cholerae*, se calculó el porcentaje de coincidencia (Tabla N°06). Un resultado es clasificado como satisfactorio si el porcentaje de coincidencia es igual a **100 %**; no permitiendo resultados falsos positivos o falsos negativos.



"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"
"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

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)

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

6. Resultados

Los resultados de los participantes fueron reportados a través del correo interlaboratorios@sanipes.gob.pe, teniendo como fecha máxima de recepción el 04 de junio de 2021, estos se presentan en la Tabla N°07 y Tabla N°08.

Tabla N°07. Resultados cualitativos individuales de los participantes de Detección de *Vibrio cholerae*, en matriz langostino congelado para todos los participantes.

Código de participante	Ítem de ensayo	Método	Resultado cualitativo esperado	Resultado del participante	Desempeño (% coincidencia)	EVALUACIÓN CUALITATIVA
S-001	M-1	Detección de <i>Vibrio cholerae</i> FDA/BAM On Line 8va.Ed. Chapter 9.	Ausencia	Ausencia	100	Satisfactorio
	M-2		Presencia	Presencia		
	M-3		Presencia	Presencia		
S-002	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.	Ausencia	Ausencia	100	Satisfactorio
	M-2		Presencia	Presencia		
	M-3		Presencia	Presencia		
S-003	M-1	BAM online FDA/CFSAN, Cap. 9 A-B 1-5c, excepto el uso del antisuero O139, Bacteriological Analytical Manual 8th Edition 1995. Revisión A, 1998 Reescrito y revisado Mayo 2004. <i>Vibrio. V. cholerae</i>	Ausencia	Ausencia	33.33	Insatisfactorio
	M-2		Presencia	Ausencia		
	M-3		Presencia	Ausencia		



BICENTENARIO
PERÚ 2021

Página 11 de 14

CEA-FT-04, Rev. 01

Domingo Orué N° 165, piso 7, Surquillo - Lima
Av. Carretera a Ventanilla km 5.2 – Callao
www.sanipes.gob.pe

Fecha: 2020/12/30

"Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"
 "Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

S-004	M-1	ISO 21872-1. (Excepto items 9.5.5, 9.5.6, 9.5.7 y 9.5.8) 2017. Microbiology of the food chain - Horizontal method for the determination of <i>Vibrio</i> spp. - Part 1: Detection of potentially enteropathogenic <i>Vibrio parahaemolyticus</i> , <i>Vibrio cholerae</i> and <i>Vibrio vulnificus</i>	Ausencia	No detectado	100	Satisfactorio
	M-2		Presencia	Detectado		
	M-3		Presencia	Detectado		
S-006	M-1	FDA/BAM online, Rev Mayo 2004 Chapter. 9 (A-B:1-5 A,B,C) (excepto el uso del antisero O139), 8th Ed 2004 <i>Vibrio.Vibrio cholerae</i>	Ausencia	Ausencia	100	Satisfactorio
	M-2		Presencia	Presencia		
	M-3		Presencia	Presencia		
S-007	M-1	FDA/BAM online, 8th Ed. Rev. A/ 1998 May 2004 Chapter. 9 A-C (item B5 NO SE USA ANTISUERO 0139)	Ausencia	Ausencia	100	Satisfactorio
	M-2		Presencia	Presencia		
	M-3		Presencia	Presencia		
S-008	M-1	FDA/BAM online, 8th Ed. Rev. A/ 1998 May 2004 Chapter 9, A-B 1-5 c. C. Excepto el uso del antisero O139.	Ausencia	Ausencia	33.33	Insatisfactorio
	M-2		Presencia	Ausencia		
	M-3		Presencia	Ausencia		

Evaluación cualitativa Satisfactoria 

Evaluación cualitativa Insatisfactoria 

Nota 2: Presencia es equivalente a Detectado y Ausencia es equivalente a No detectado.

Resultado obtenido: 5/7 participantes con una coincidencia del 100.0% y 2/7 participantes con una coincidencia de 33.3% en la prueba en Detección de *Vibrio cholerae*.

Prueba de detección: 71.4 % Satisfactorio y 28.6 Insatisfactorio



BICENTENARIO
 PERÚ 2021

Página 12 de 14

CEA-FT-04, Rev. 01

Domingo Orué N° 165, piso 7, Surquillo - Lima
 Av. Carretera a Ventanilla km 5.2 – Callao
www.sanipes.gob.pe

Fecha: 2020/12/30

Tabla N°08. Resumen de resultados

Prueba	Resultados reportados	Resultados correctos	Resultados errados	Porcentaje de coincidencia
Detección de <i>Vibrio cholerae</i> .	21	17	4	81 %

7. Comentarios

Participaron 7 laboratorios acreditados en la Norma NTP ISO/IEC 17025, los cuales utilizaron los métodos descritos en la Tabla N° 07.

De los resultados reportados por los laboratorios participantes, obtuvieron un rendimiento satisfactorio 5/7 (100.0%), en el interlaboratorio para la Detección de *Vibrio cholerae* 2021 - II.

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.



8. Anexos

Anexo 1

Diseño del Ensayo de Aptitud "Detección de *Vibrio cholerae*"

