

SUBPROGRAMA BIOTOXINAS MARINAS:
TOXINA PARALIZANTE

INFORME DE ENSAYO DE APTITUD
PEEC- SP6-2009

PROGRAMA DE EVALUACION EXTERNA DE CALIDAD
PEEC QUÍMICA AMBIENTAL Y DE ALIMENTOS

Departamento Salud Ambiental
Instituto de Salud Pública de Chile
Avda. Marathón 1000, Ñuñoa
Santiago de Chile

Redactor Técnico:

Q.F. Soraya Sandoval R.

soraya@ispch.cl

Teléfono: (56)(2)3507526

Fax: (56)(2)3507589

CONTENIDO

LISTA DE PARTICIPANTES.....	2
RESPONSABLES.....	3
INTRODUCCIÓN.....	3
MATERIAL DE ENSAYO.....	3
CRONOGRAMA.....	4
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	4
RESULTADOS INFORMADOS POR LOS PARTICIPANTES DEL PEEC	6
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS INFORMADOS.....	6
EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO.....	7
COMENTARIOS Y SUGERENCIAS	7
GLOSARIO	8
REFERENCIAS.....	8
ANEXOS.....	9

1. Lista de Participantes

Biotecmar Servicios Universidad Católica de la Stma. Concepción Talcahuano, Chile	Laboratorio del Ambiente SEREMI de Salud Región de Coquimbo La Serena, Chile
CERPER S.A. La Perla, Perú	Laboratorio del Ambiente Puerto Montt SEREMI de Salud Región de los Lagos Puerto Montt, Chile
CERAM Universidad Austral de Chile Puerto Montt, Chile	Laboratorio del Ambiente Punta Arenas SEREMI de Salud Región de Magallanes y Antártica Chilena Punta Arenas, Chile
Japan Food Safety Center Santiago, Chile	Laboratorio del Ambiente Puerto natales SEREMI de Salud Magallanes y Antártica Chilena Puerto Natales, Chile
Laboratorio de salud Ambiental y Ocupacional SEREMI de salud Antofagasta Antofagasta, Chile	Laboratorio de Marea Roja Castro SEREMI de Salud Región de los Lagos Castro, Chile
Laboratorio de Toxinas Marinas- Sede Santiago Universidad de Chile Santiago, Chile	Laboratorio de Marea Roja Quellón SEREMI de Salud Región de los Lagos Quellón, Chile
Laboratorio de Toxinas Marinas- Sede Castro Universidad de Chile Castro, Chile	Laboratorio de Microbiología, Biología Molecular y Biotoxinas Marinas Instituto Tecnológico Pesquero del Perú ITP Callao, Perú
Laboratorio del Ambiente Aysén SEREMI de Salud Región de Aysén y Gral. C.I. del Campo Puerto Aysén, Chile	Laboratorio Oficina Provincial SEREMI de salud Magallanes y Antartica Chilena Porvenir, Chile
Sección Química de Alimentos y Nutrición Instituto de Salud Pública de Chile ISP Santiago, Chile	

2. Responsables

Los profesionales que colaboraron en el desarrollo de este trabajo fueron:

- Q.F. Soraya Sandoval (Coordinador de Ensayos de Aptitud PEEC- Química Ambiental y de Alimentos)
- Ing. E. Amb. Marcelo Soto
- QF. Lorena Delgado
- T. Claudia Nuñez

3. Introducción

El presente informe corresponde a la evaluación de la ronda de ensayos de intercomparación del Subprograma 6 (SP6) "Determinación de Toxina Paralizante", desarrollado por el PEEC- Química Ambiental y de Alimentos del Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), dirigido al análisis de toxina paralizante en una matriz de extracto de marisco bivalvo.

Este ensayo de aptitud es una herramienta del sistema de aseguramiento de calidad utilizada por los laboratorios de control de calidad y fiscalización para evaluar la calidad de las prestaciones analíticas en productos pesqueros, específicamente en el área de marea roja y moluscos bivalvos.

4. Material de Ensayo - Envío

El material de ensayo enviado al laboratorio fue al menos una de las 2 tipos de muestra a continuación señaladas:

- a) Material de Ensayo Piloto: Muestra de marisco liofilizado, elaborado a base de chorito fortificado, de cantidad aproximada 20 g, elaborado por el ISP.
- b) Material de Ensayo PEEC: Corresponde a una muestra de extracto de marisco con toxina paralizante, elaborado por el ISP y sometido a test de homogeneidad y estabilidad.

Cada laboratorio recibió las instrucciones para manipular el material de ensayo y realizar el ensayo de aptitud, tipo interlaboratorios. Indicándose a los participantes que se debían cumplir con las prácticas estándares de seguridad durante el desarrollo del ensayo. Se recomendó a los participantes el uso de los métodos rutinarios del laboratorio para analizar la muestra de ensayo, así como incluir, si es posible, la muestra, dentro de una partida analítica. Además, se solicitó a los participantes que informarán el tipo de método analítico utilizado para la realización de cada ensayo.

En el caso del ensayo piloto, el análisis tenía exclusivamente un carácter cualitativo, con el fin de observar el comportamiento de la matriz, los procesos de hidratación y la detección de la toxina paralizante a una concentración cercana al límite máximo permitido (LMP).

El objetivo de la experiencia es determinar el inoculo adecuado a realizar en una matriz de marisco cercano al LMP, en este sentido al ser evaluadas las muestras por el Instituto de Salud Pública de Chile en el test de homogeneidad por método de bioensayo en ratón, se observó que el animal experimental presentó sintomatología por la presencia de toxina paralizante pero sin resultado de muerte. En este sentido se re-evaluara la concentración del inoculo y se trabajara con una nueva solución de rehidratación (solución a un pH ligeramente ácido) a fin de minimizar el posible deterioro de las toxinas. El próximo año nuevamente se realizará una prueba piloto para fines de evaluar entre los participantes estas mejoras.

Para la muestra PEEC los valores asignados a los materiales de ensayo de acuerdo a los test realizados fueron:

n	20
Promedio $\mu\text{g}/100\text{ g}$	81,96
CV%	10,3

Los análisis fueron realizados en el laboratorio de Toxinas Marinas del ISP, Laboratorio reconocido por la FDA como Laboratorio de Referencia para SERNAPESCA en el Programa de Sanidad de Moluscos Bivalvos para Estados Unidos.

5. Cronograma

Envío de material de ensayo	31/Julio/2009
Fecha límite de envío de resultados	28/Agosto/2009
Envío informe de ensayo de aptitud	2/Octubre/2009*

* Reprogramación debido a los requerimientos de aduana en cuanto a la recepción de PEEC de laboratorios extranjeros participantes.

6. Análisis Estadístico

Se evaluaron estadísticamente los datos anómalos en base al método estadístico de Grubbs. Una vez establecido los datos anómalos, sin ser estos excluidos, se procedió a realizar el análisis estadístico basado en el Z-score.

Los laboratorios que reportaron sus resultados como $< o >$, no fueron evaluados.

Para poder comparar diferentes resultados de análisis cuantitativos, derivados de distintos métodos de análisis, material de ensayo y concentración del analito los resultados de los análisis cuantitativos obtenidos por los laboratorios son transformados a valores estándares (Z-score).

El Z-score estima el error que existe entre el resultado informado y el valor asignado del material de ensayo, y la desviación estándar del ensayo de aptitud. El z-score es definido por la siguiente ecuación, para esta evaluación:

$$Z = \frac{X - X_a}{\sigma_p}$$

Donde:

Z= Valor Z-score

X= Concentración reportada del analito en el material de ensayo

X_a= Valor asignado o de referencia

σ_p = Desviación estándar del ensayo de aptitud.

La desviación estándar del ensayo de aptitud, fue calculada en base al modelo estadístico de Horwitz. El valor de Horwitz es reconocido como un criterio de "adecuación para los fines establecidos" en los ensayos de aptitud.

$$\sigma = 0,02 c^{0.8495}$$

Donde:

c es la concentración expresada en fracción masa (%=10⁻², mg/kg=10⁻⁴).

En cualquier grupo de datos con distribución normal (Ver figura 1), los z-scores deberán estar entre el rango de ± 2 a ± 3.

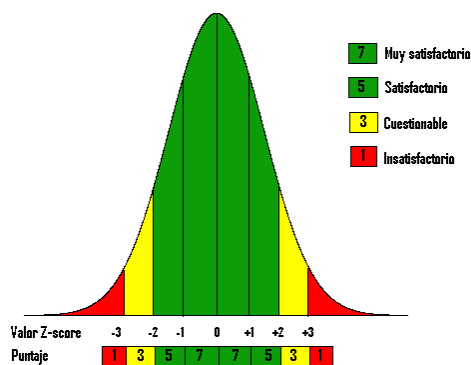


Figura 1

Los criterios de aceptabilidad, están definidos por el valor obtenido por cada laboratorio, que son clasificados de la siguiente manera:

[Z] ≤ 2: es decir, entre -2 y +2, el resultado del laboratorio es satisfactorio.

2 < [Z] < 3: es decir, entre -2,1 y < -3 y; entre +2,1 y < +3, el resultado del laboratorio es cuestionable.

[Z] ≥ 3 : el resultado del laboratorio no satisfactorio, es decir, insatisfactorio.

El laboratorio participante deberá ubicarse en las tablas y gráficos de acuerdo al código (confidencial) asignado a su laboratorio, el que fue notificado junto al envío de la muestra de ensayo.

7. Resultados Informados por los Participantes del PEEC

7.1.- DATOS

Los resultados enviados por los participantes se presentan en las tablas N° 2 y 3, que se encuentran en los anexos.

De los 18 participantes 1 laboratorio no envió los resultados dentro del plazo establecido, lo que se expresa en un 94% de respuesta en general.

7.2.- Métodos

Respecto de los métodos informados por los laboratorios que fueron utilizados para la determinación de toxina paralizante correspondió en su mayoría a bioensayo en ratón basado en AOAC internacional, solo un laboratorio reportó el uso de un ensayo electrofisiológico.

Se menciona el uso de cepas de ratón CF-1, CD1 y Cepa Balb/c.

8. Análisis Estadístico de los Resultados Informados

En relación a la determinación de datos anómalos informados, la evaluación estadística reportó los siguientes resultados:

TABLA N° 1: Resumen análisis estadístico muestra extracto de marisco

	Toxina paralizante
n	16
Valor asignado, $\mu\text{g}/100\text{ g}$	81,69
σ_p	6,74
N° anómalos	1
N° no considerados	1

Respecto a los datos obtenidos del análisis estadístico, en la tabla N° 3 (en anexos) se señalan los resultados z-score obtenidos.

Se realizó el gráfico de dispersión lineal (ver anexos gráfico N° 1), sobre los resultados Z-score obtenidos por los laboratorios para cada analito. Indicándose los límites de satisfactorio y cuestionable.

Se realizaron gráficas circulares para expresar los resultados satisfactorios obtenidos en cada caso del análisis proximal en alimentos.

9. Evaluación de Desempeño

La evaluación redesepeño de los laboratorios como se menciona anteriormente solo se realizó a la muestra PEEC y no a la muestra Piloto de estudio.

Respecto a la evaluación de los laboratorios en cuanto al z-score obtenido para esta muestra, se puede señalar que:

- Los laboratorios que reportaron sus resultados como $< 0 >$, no fueron evaluados.
- El gráfico circular de la evaluación de desempeño se encuentra en los anexos ver gráfico N° 2.
- El 86% de los laboratorios participantes presentan resultados satisfactorios.

10. Comentarios y Sugerencias

- a) Sólo 1 laboratorio de los 18 laboratorios participantes no envió sus resultados.
- b) En muestra de extracto de marisco, el % de recuperación obtenido por los laboratorios participantes satisfactorios en relación al valor asignado van de 92 a 110%. que son rangos de recuperación aceptados por la AOAC a este nivel.
- c) En cuanto al resultado informado $< 80 \mu\text{g}/100 \text{g}$ por el laboratorio QAA0052 para el resultado obtenido en VPM, se sugiere chequear técnica puesto que el método de bioensayo para esta toxina tiene un límite de detección que ronda es cercano a los $30 \mu\text{g}/100\text{g}$ de molusco. Respecto a las causas de este límite reportado por el laboratorio se podrían haber sacado mayores conclusiones al respecto si se hubiese contado con el factor de conversión el cual no fue reportado por el laboratorio.
- d) Sugerimos al laboratorio que cuenten con un Z-Score dentro del rango de cuestionable, evaluar las posibles causas de desviación de resultados.
- e) Existiendo valores de Z-Score muy superiores a [3] es importante que dicho laboratorio evalúe las causas del error del resultado, desde el punto de vista de cálculos de resultados y analítico, a fin de realizar las correspondientes medidas correctivas.

- f) Respecto la muestra de marisco liofilizado, los resultados de los participantes en su mayoría fue no detectable (Ver tabla N° 2), sólo un caso informa la presencia del analito en la muestra reportando el valor de 13,3 µg/100g.
- g) La versión oficial del presente informe se encuentra publicado en la página Web: www.ispch.cl

10. Glosario

Material de Referencia (MR): Es el material o sustancia en el cual uno o más valores de sus propiedades son suficientemente homogéneos y están bien definidos para permitir utilizarlos para la calibración de un instrumento, la evaluación de un método de medición o la asignación de valores a los materiales.

Valor de Referencia: Un valor que sirve como referencia de comparación previamente acordada y el cual deriva de:

A.- Un valor establecido o teórico, basado en principios científicos.

B.- Un valor asignado o certificado, basado en el trabajo experimental de algunas organizaciones nacionales e internacionales.

C.- Un valor consensuado o certificado, basado en el trabajo experimental colaborativo bajo el auspicio de un grupo científico o de ingeniería.

D.- Cuando a), b) y c) no están disponibles, la experimentación de una cantidad (mensurable), es decir, la medida de una población especificada de medidas.

Desviación estándar (σ , *SD*): Es la medida de cómo se dispersan los valores alrededor de la medida en la distribución de valores.

z-score: Puntuación estadística estándar, puntuación típica, puntuación de la Z. Corresponde a una puntuación estadística. El Z-score es el valor de una medida en un individuo dado comparado con un grupo similar, se calcula, en base a la media y la desviación estándar del grupo o el valor de referencia establecido, es decir, representa el número de DS por encima o debajo del valor medio o de referencia

11. Referencias

1. NCh 2445/1 y2 (1999). Ensayos de aptitud mediante comparaciones interlaboratorio. INN
2. "Robust Statistics: a Method of Coping with Outliers". Royal Society of Chemistry, Analytical Methods Committee, N° 6, A
3. ISO 13528:2005 (E). Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons.
4. The International Harmonized Protocol for Proficiency testing of analytical chemistry laboratories (2006). Pure Appl. Chem. Vol78, pp 145-196.
5. AMC technical brief (2006). Representing data distribution with kernel density estimates.

12. Anexos

Tabla Nº 2. Resultados promedios reportados por los laboratorios para muestra matriz marisco liofilizado

Código Laboratorio	Nº	Toxina Paralizante
QAA0004	3	No detectable
QAA0007	LS-1	No detectable
QAA0040	L2-6	0
QAA0052	L2-4	Negativo (< 80 µg/100 g)
QAA0079	L2-1	<26 µg/100g
QAA0085	L2-3	No detectable
QAA0094	LI-6	N.D.
QAA097	L3-1	No detectado
QAA0121	L1-8	No detectable
QAA0214	L1-2	13,3 µg/100g
QAA0217	L1-10	Bajo limite de detección
QAA0223	L1-4	No detectable
QAA0226	L2-7	No detectable
QAA0229	L3-3	No detectable
QAA0250	L1-3	< 30 µg/100g
QAA0262	L2-9	Negativo
QAA0289	L3-2	No detectado

Tabla Nº 3. Resultados promedios reportados por los laboratorios para muestra extracto de marisco, valores z-scores y evaluación:

Código Laboratorio	Nº	Toxina Paralizante	z-score	Evaluación
QAA0004	15	87,50	0,86	Satisfactorio
QAA0007	*			
QAA0040	12	65,70	-2,37	Cuestionable
QAA0052	38	<80	***	***
QAA0079	22	82,40	0,11	Satisfactorio
QAA0085	3	75,60	-0,90	Satisfactorio
QAA0094	26	85,60	0,58	Satisfactorio
QAA0097	14	83,00	0,19	Satisfactorio
QAA0121	39	90,20	1,26	Satisfactorio
QAA0130	**			
QAA0214	28	129,10	7,04	Insatisfactorio
QAA0217	34	90,60	1,32	Satisfactorio
QAA0223	36	77,00	-0,70	Satisfactorio
QAA0226	27	76,41	-0,78	Satisfactorio
QAA0229	11	89,00	1,09	Satisfactorio
QAA0250	4	85,50	0,57	Satisfactorio
QAA0262	20	86,90	0,77	Satisfactorio
QAA0289	18	87,98	0,93	Satisfactorio

*: Laboratorio sólo recibió muestra de matriz de marisco liofilizado.

** : laboratorio no reportó sus resultados.

***: No evaluado.

Gráfico N° 1: Gráfico de distribución Z-score - muestra extracto de marisco

Toxina Paralizante, Ronda PEEC, SP6-2009.
Distribución de Z-score.
Valor Asignado: 81,69 Unidades: ug/100 g.

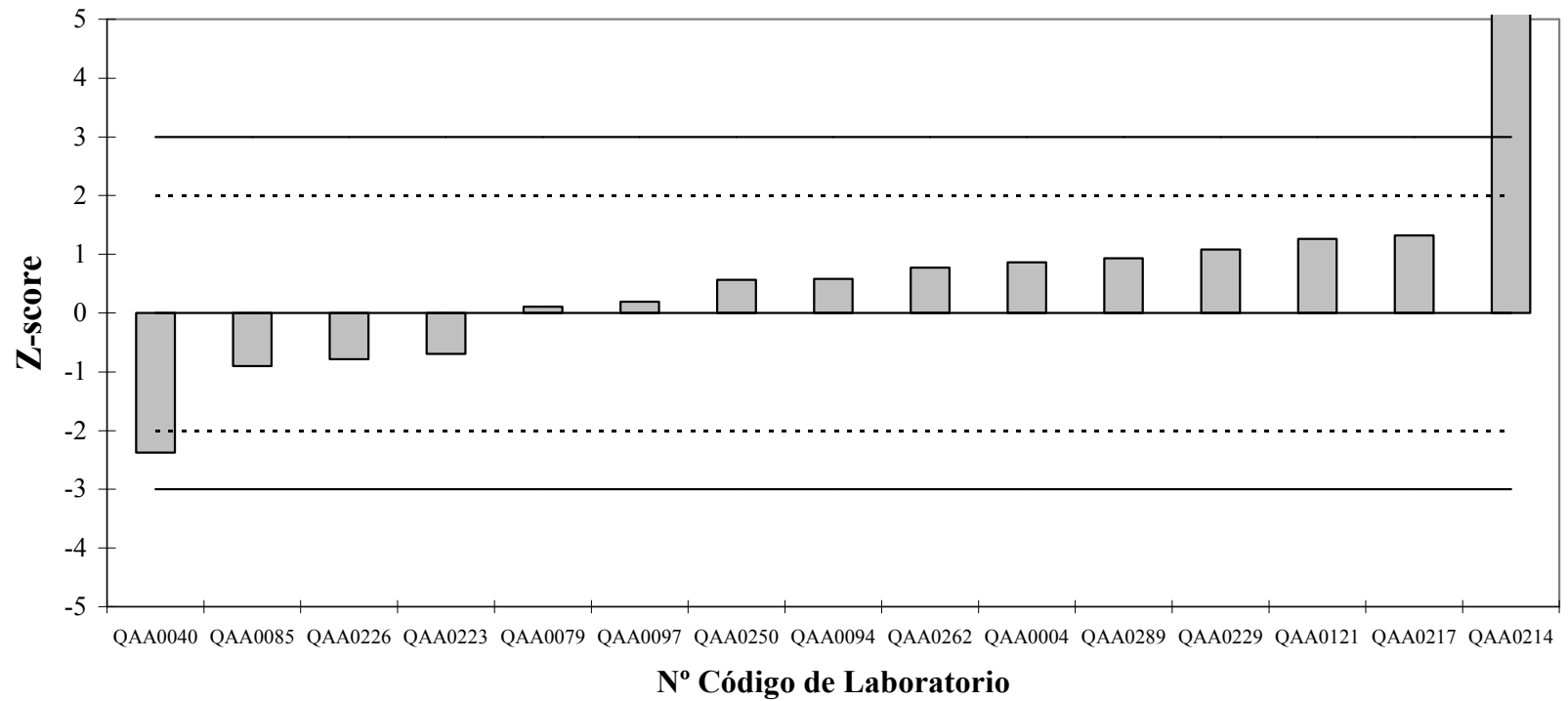
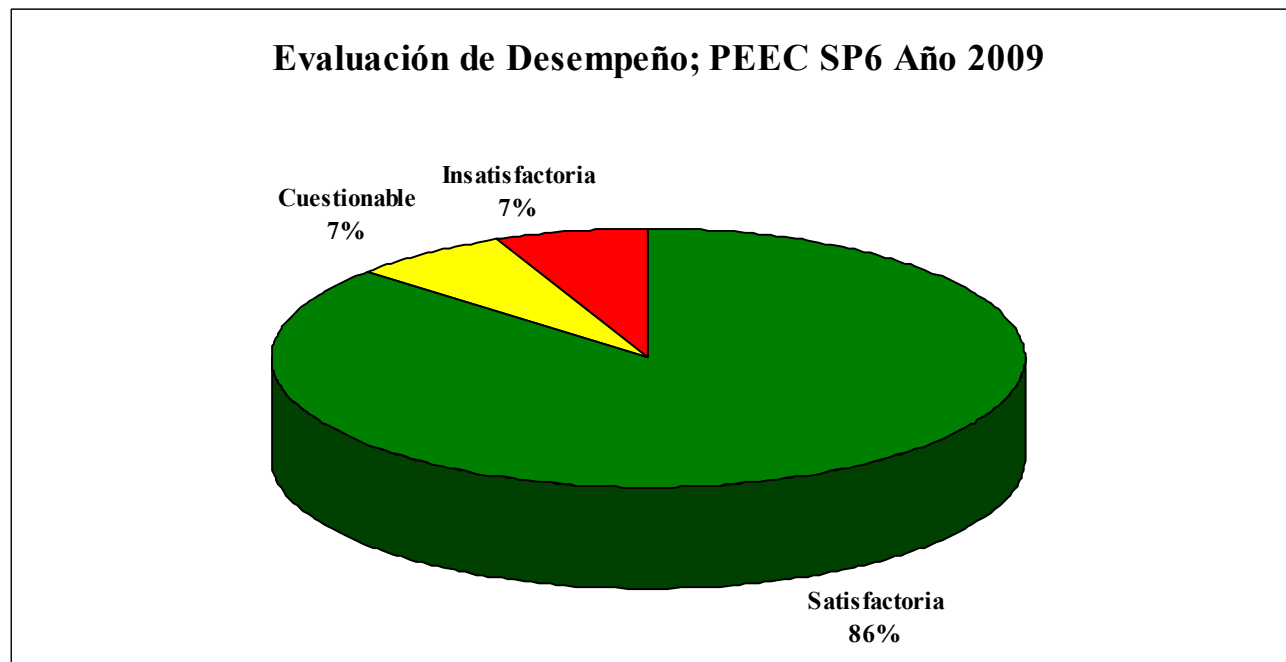


Gráfico N° 3: Gráfico de Evaluación de Desempeño- muestra extracto de marisco





PEEC

PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DE CALIDAD

