

SUBPROGRAMA DE BIOTOXINAS MARINAS

INFORME DE RESULTADOS
PEEC – SP13 - 2007

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



INSTITUTO DE SALUD PUBLICA DE CHILE
DEPARTAMENTO DE SALUD AMBIENTAL

**INFORME DE RESULTADOS DEL
PROGRAMA DE EVALUACION EXTERNA DE CALIDAD
QUIMICA DE ALIMENTOS Y AMBIENTAL**

SUBPROGRAMA 13: "DETERMINACIÓN DE TOXINA AMNESICA"

PEEC-SP13-2007

PEEC – Química de Alimentos y Ambiental
Departamento Salud Ambiental
Instituto de Salud Pública de Chile
Av. Maratón 1000, Ñuñoa
Santiago de Chile

Redactor Técnico:

Q.F. Soraya Sandoval R.

soraya@ispch.cl

Teléfono: (56)(2)3507526

Fax: (56)(2)3507589

<http://www.ispch.cl>



CONTENIDO

LISTA DE PARTICIPANTES.....	5
PROFESIONALES RESPONSABLES.....	5
INTRODUCCION	6
MATERIAL DE ENSAYO – ENVIO.....	7
TEST DE HOMOGENEIDAD.....	7
CRONOGRAMA.	8
ANALISIS ESTADISTICO	8
RESULTADOS INFORMADOS POR LOS PARTICIPANTES DEL PEEC.....	10
ANALISIS ESTADISTICO DE LOS RESULTADOS INFORMADOS	11
EVALUACION DE DESEMPEÑO	102
COMENTARIOS.....	13
GLOSARIO	14
REFERENCIAS.....	14

1. Lista de Participantes

CERPER
CERTIFICACIONES DEL PERU S.A.
LIMA, PERU

LABORATORIO DEL AMBIENTE COQUIMBO
SEREMI DE SALUD REGION DE COQUIMBO
LA SERENA, CHILE

LABORATORIO DEL AMBIENTE VIÑA DEL MAR - QUILLOTA
SEREMI DE SALUD REGION DE VALPARAISO
VIÑA DEL MAR, CHILE

CERAM
UNIVERSIDAD AUSTRAL
PUERTO MONTT, CHILE

LABORATORIO DEL AMBIENTE AYSÉN
SEREMI DE SALUD REGION DE AYSÉN DEL GRAL. C. IBAÑEZ DEL CAMPO
PUERTO AYSÉN, CHILE

LABORATORIO DE TOXINAS MARINAS
UNIVERSIDAD DE CHILE
SANTIAGO, CHILE

CORTHORN QUALITY
LABORATORIO DE ALIMENTOS
SANTIAGO, CHILE

2. Profesionales Responsables

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

- Q.F. Soraya Sandoval (Coord. De Ensayos de Intercomparación Química de Alimentos y Ambiental).
- M.V. Luis Rodríguez (Estadístico ISP)
- Q.F. Orialis Villarroel (Jefe Subdepartamento de Alimentos y Nutrición ISP)
- T. María Isabel Hormazabal (Laboratorio de Toxinas marinas – ISP)
- T. Luisa Moreno (Laboratorio de Toxinas Marinas ISP)
- T. Fabiola Muñoz (Unidad de Coordinación de Laboratorios Ambientales).

3. Introducción

El presente informe corresponde a la evaluación de la 1ª Ronda de ensayos de intercomparación del Subprograma 13 (SP13) "Determinación de Toxina Amnésica", desarrollado por el PEEC- Química Ambiental y de Alimentos del Instituto de salud pública de Chile (ISP), dirigido al análisis de toxina amnésica en una matriz de extracto de marisco bivalvo, por método HPLC.

En el Año 2006, se realizó una primera experiencia piloto de este ensayo de aptitud, cuya inscripción fue voluntaria. Los Laboratorios que aceptaron la invitación a participar en esa ocasión, fueron:

LABORATORIO DEL AMBIENTE SEREMI IV REGION
 LABORATORIO DEL AMBIENTE SEREMI V REGION VIÑA DEL MAR-QUILLOTA
 LABORATORIO CORTHORN QUALITY SANTIAGO
 CERAM – UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE- PUERTO MONTT
 LABORATORIO TOXINAS MARINAS – UNIVERSIDAD DE CHILE- SANTIAGO

Se envió a cada laboratorio un material de referencia certificado de ácido domoico en matriz de tejido muscular de marisco bivalvo, cuya estimación del valor de referencia fue realizada con un intervalo de confianza del 95%.

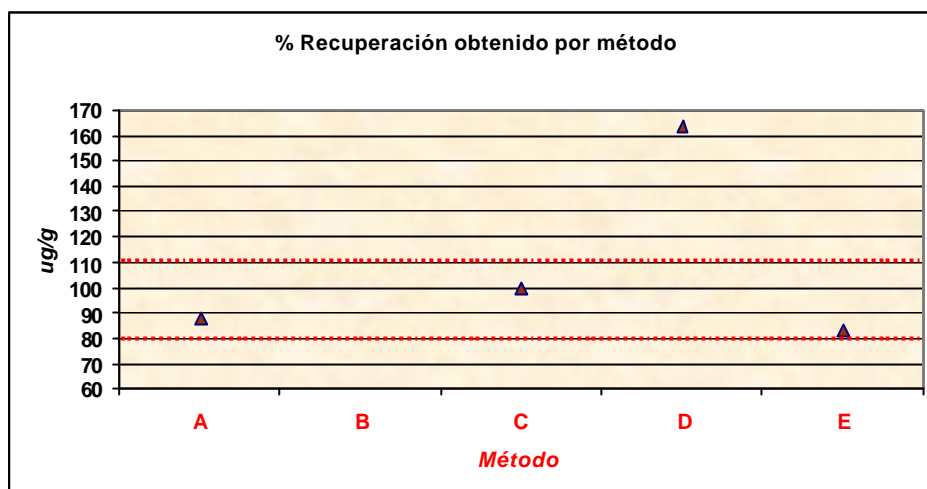
Debido a que solo 4 de los 5 laboratorios adscritos, informaron los resultados obtenidos, se realizó la evaluación basado en el rango de aceptabilidad informado por el material de referencia certificado. Así mismo, se evaluó el resultado de acuerdo al % de recuperación obtenido por los diferentes métodos señalados por los participantes.

Sólo tres laboratorios, señalaron los resultados obtenidos en la curva de calibración. Cuyos gráficos muestran un comportamiento lineal aceptable. Se pudo observar que solo un resultado de los informados tiene características aberrantes, con un sesgo de 23 µg/g. Siendo el presente interlaboratorio un ensayo piloto, con un número mínimo de participantes no se pueden realizar mayores observaciones respecto de lo satisfactorio de los resultados informados, en lo que respecta a un análisis Z-score.

Los métodos informados el año 2006 por los laboratorios para la realización del ensayo piloto fueron los siguientes:

N°	Fundamento	Tratamiento Muestra	Inyección mL	Fase Estacionaria	Fase Móvil	Detector
A	HPLC (Quilliam et al: Journal of AOAC Int., Vol.78, N°.2,1995)	Filtración	≥ 20	Columna C18 40°C	15:85= ACN 0.1%:TFA Isocrática	UV/ Vis 242 nm
B	HPLC	No indica		Columna C18 40°C	15: 85= ACN: TFA 0.03% No indica programa fase móvil	UV/ Vis 214 nm
C	HPLC (Quilliam et al: Journal of AOAC Int., Vol.78, N°.2,1995)	Filtración		Columna RP-18 5µ m l 40°C	15:85=ACN: TFA 0.03% Isocrático	UV/ Vis 242
D	HPLC	Dilución 20 Filtración		Columna C18 Mayor que T° Ambiente	12:88= ACN: Ac. Fosfórico 0.2%	DAD 242 nm
E	HPLC	Dilución Filtración	≥ 20	Columna C18 Mayor que T° Ambiente	15:85 =ACN: TFA 0.03% Isocrático	UV/Vis 242 nm

Evaluando el valor informado en relación al % Recuperación obtenido se puede observar que:



Evaluando el resultado obtenido en cuanto a % de Recuperación según el método, se puede observar que 3 de los 4 resultados informados se encuentran dentro del rango de aceptabilidad establecido para este rango de concentración de acuerdo a AOAC. Los métodos que se encontraban dentro del valor aceptable mencionado anteriormente corresponden a los que utilizan el método de referencia utilizado por el ISP (Quilliam et al: Journal of AOAC Int., Vol.78, N° .2,1995).

A través del ensayo de aptitud realizado el año 2006, se pudieron evaluar y mejorar las planillas de resultados, las unidades para informar los resultados y el test de homogenización del extracto de MRC, permitiendo así, que estas mejoras pudieran ser aplicadas en la primera ronda oficial, este año 2007.

4. Material de Ensayo- Envío

El material de ensayo fue una muestra de extracto de material de referencia certificado, proporcionado por el laboratorio de Toxinas Marinas del Instituto de Salud Pública de Chile, envasado en un vial de vidrio herméticamente sellado.

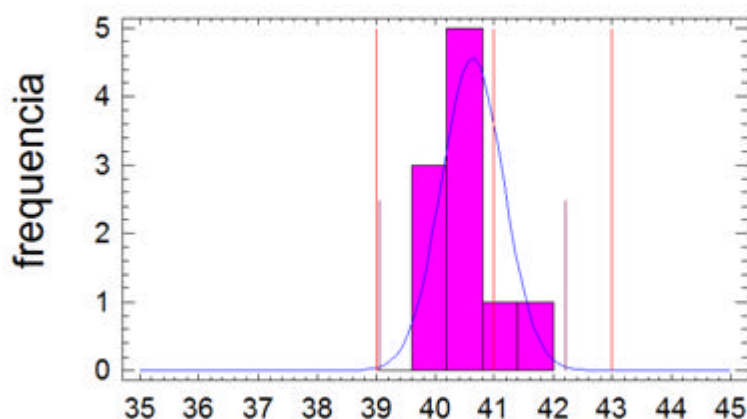
5. Test de homogeneidad

La homogeneidad de los materiales de ensayo fue comprobada por el análisis por "Método Quilliam – HPLC: Detección UV" de 10 muestras seleccionada aleatoriamente,

n	10
Promedio µg/mL	12,94
Promedio µg/g	40,63
Mediana	40,65
Desviación estándar	0,52

Los resultados obtenidos demuestran la homogeneidad de la muestra de ensayo y un comportamiento estadístico normal.

Test de Homogeneidad de Toxina Amnesica



6. Cronograma

Envío de Material de Ensayo	17/ Julio/2007
Fecha límite de Envío de Resultados	20/ Agosto/2007
Envío Informe Final de Evaluación de Resultados	22/ Octubre/2007

7. Análisis estadístico

7.1. Datos Inconsistentes:

Se evaluaron estadísticamente los datos inconsistentes en base al método estadístico de media Robusta (MAD) para el analito en estudio. Una vez establecido los datos aberrantes se procedió a realizar el análisis estadístico basado en el Z-score.

En los casos en los cuales se informaron valores inferiores al límite de detección del método, se procedió a aplicar el *método estadístico de Nels-Akland*, este método permite la estimación de la concentración de la media en presencia de valores no detectables, para poder evaluar dichos resultados, para este fin el valor de límite de detección fue dividido por 2, siendo el resultado obtenido el evaluado en el ensayo de intercomparación.

7.2. Z-Score:

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 de referencia del material de ensayo, y la desviación estándar del material de referencia o de los participantes. El Z-Score es definido por la siguiente ecuación, para la evaluación :

$$Z = \frac{X - \mu}{s}$$

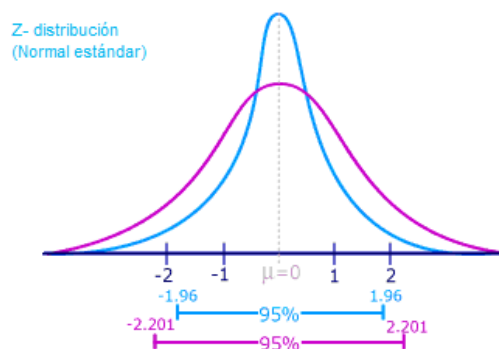
Donde:

Z = Valor Z-Score

X = Concentración reportada del analito en el material de ensayo por el participante

μ = Valor asignado o de referencia

s = Desviación estándar robusta de los laboratorios, sin la eliminación de los resultados outliers (aberrantes).



En cualquier grupo de datos con distribución normal, los Z-Score deberán estar entre el rango de ± 2 a ± 3 . Los criterios de aceptabilidad, están definidos por la puntuación obtenida por cada laboratorio, que son clasificados de la siguiente manera.

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

$2 < [Z] \leq 3$: es decir, entre $-2,01$ y ≤ -3 y;
entre $+2,01$ y $\leq +3$, el resultado del laboratorio es cuestionable.

$[Z] \geq 3$: es decir, mayor de -3 ó $+3$, el resultado del laboratorio es 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.

Los resultados obtenidos del estudio de Z-Score se encuentran en la tabla de resultados recibidos por código y cálculo de Z- Score.

8. Resultados informados por los participantes del PEEC

8.1. Datos

Los resultados enviados por los participantes se presentan en la siguiente tabla:

Nº	Código Laboratorio	Resultado1	Resultado 2	Promedio de resultado
1	0-563	11,84	11,83	11,84
2	5-518	22,80	22,64	22,72
3	7-522	*	*	*
4	18-4346	11,62	11,63	11,62
5	19-587	*	*	*
6	25-4940	11,38	11,74	11,56
7	25-9057	10,00	10,25	10,13

*: No informo resultado.

2 laboratorios de los 7 adscritos no envió su resultado para el analito. Por lo cual se obtuvo un 71 % de respuesta.

8.2. Métodos

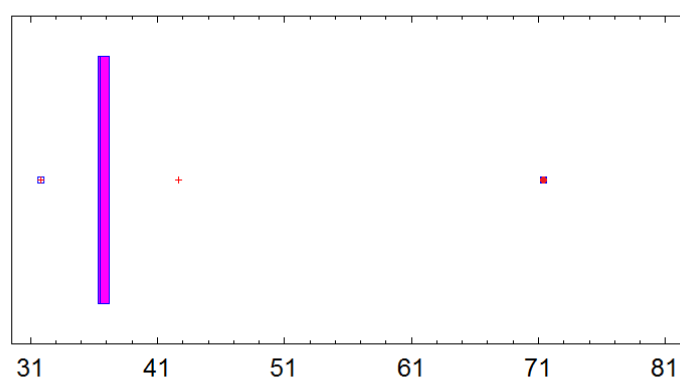
Los métodos informados por los laboratorios corresponden en la mayoría al Metodo M.A. Quilliam por HPLC.

Nº	Método	Referencia
1	HPLC	Método CERPER, LE - ME-AD. 2005. Determinación de ácido domoico en moluscos bivalvos
2	HPLC	Manual ISP. 1998
3	HPLC	Manual ISP. 1998.
4	HPLC	M.A. Quilliam: manual Harmful Marine Microalgae
5	HPLC	Método Universidad de Vigo- depto. Química analítica y Alimentaria. Ana Gaqo.

9. Análisis estadístico de los resultados informados

En relación a la determinación de datos aberrantes informados, se encontró un resultado aberrante.

Box-and-Whisker Plot



Respecto a los datos obtenidos del análisis estadístico, en la siguiente tabla se señalan, los antecedentes trabajados:

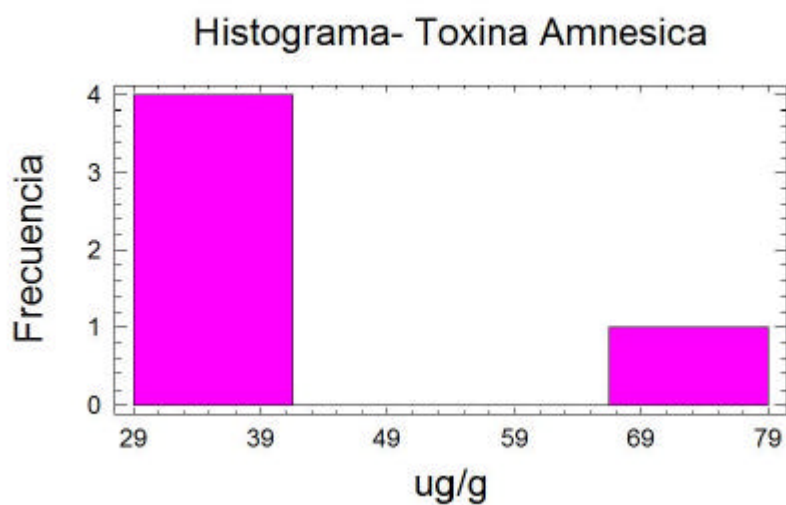
	Toxina µg/ g
n	5
Valor de referencia	40,63
s robusta	4,6
N° outliers	1

En relación a los cálculos de valores Z- store, los resultados obtenidos se observan en la siguiente tabla:

N°	Código Laboratorio	Promedio resultado (Pr) µg/mL	Resultado corregido (Pr x 3,14) µg/g	Z-Score
1	0-563	11,84	37,20	-0,746
2	5-518	22,72	71,39	6,690
3	7-522	*	*	*
4	18-4346	11,62	36,52	-0,893
5	19-587	*	*	*
6	25-4940	11,56	36,32	-0,937
7	25-9057	10,13	31,83	-1,913

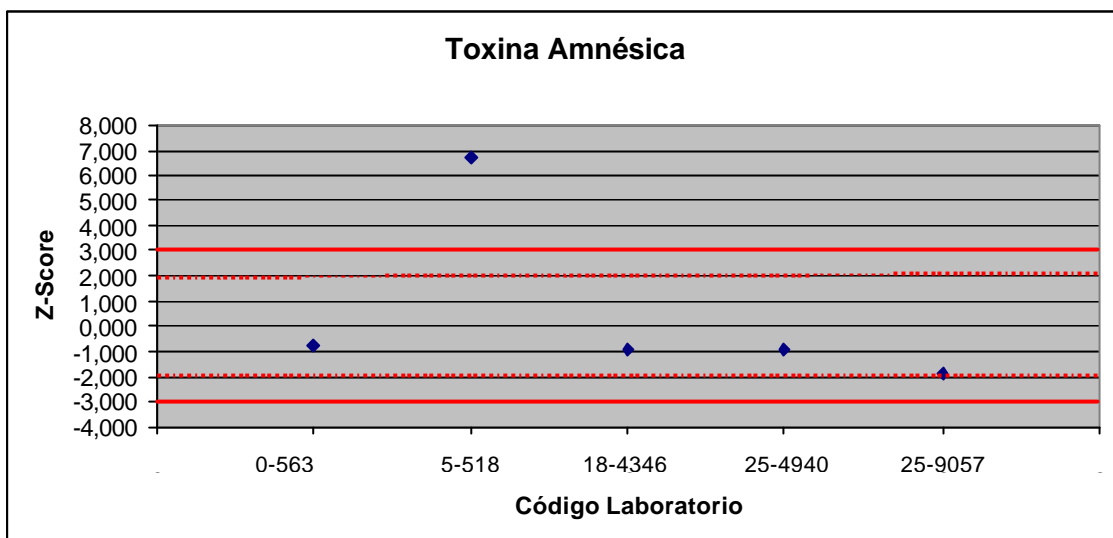
Se realizó el histograma en base a los valores obtenidos, respecto al valor de referencia y la desviación estándar del material de referencia.

Grafico 2: Histograma de resultados informado por los participantes.



Se realizaron los gráficos de dispersión lineal, sobre los resultados Z-Score obtenidos por los laboratorios para el analito. Indicándose los límites de satisfactorio y cuestionable.

Gráfico 3: Comportamiento de Z-Score por códigos.



8. Evaluación de desempeño

En relación a la evaluación de desempeño de los laboratorios, respecto al análisis de toxina amnésica en extracto de mariscos. Se asignó de acuerdo al Z-Score obtenido una puntuación:

Z-Score	Puntaje
$Z \leq 1$	7
$1 \leq Z \leq 2$	5
$2 < Z \leq 3$	3
$Z > 3$	1

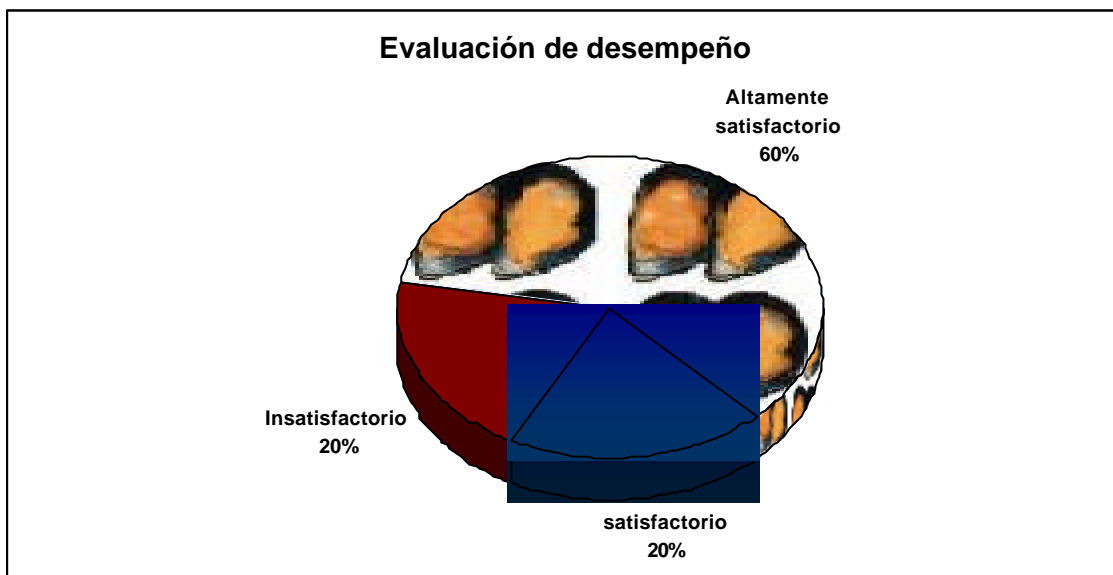
Respecto al puntaje, la evaluación en cuanto a calificación es la siguiente:

- 7: Altamente satisfactoria o muy satisfactoria
- 6-5: Satisfactoria
- 4-3: Cuestionable
- 1-2: Insatisfactoria

La calificación obtenida respecto a la evaluación de desempeño es la siguiente:

Nº	Código Laboratorio	Z-Score	Puntaje	Evaluación
1	0-563	-0,746	7	Altamente satisfactoria
2	5-518	6,690	1	Insatisfactoria
3	7-522	*	*	*
4	18-4346	-0,893	7	Altamente satisfactoria
5	19-587	*	*	*
6	25-4940	-0,937	7	Altamente satisfactoria
7	25-9057	-1,913	5	Satisfactoria

En relación a la distribución de la calificación de los laboratorios en valores de porcentaje los resultados obtenidos son:



9. Comentarios

- a) En general, el 80% de los laboratorios obtuvo una evaluación aceptable, y sobre el 60% obtuvo resultados altamente satisfactorios.
- b) El laboratorio código 25-4940 presenta un valor Z-Score cercano a 2, es decir cercano a un valor cuestionable, por lo cual sugerimos evaluar las posibles causas de desviación o error.
- c) Un laboratorio, presentó un resultado aberrante, por lo cual se debería evaluar por que el resultado informado es casi el doble del valor de referencia y en comparación con los participantes, también casi duplica el valor. Esto podría deberse a un error de calculo o de curva de trabajo.
- d) El retraso del envío y recepción de la encomienda de material de referencia al Perú, significó, un retraso en el desarrollo del informe, por lo cual, el despacho de material de referencia que podría considerarse un sustancia de riesgo químico, deberá coordinarse con mayor anterioridad con los países extranjeros, a fin de conocer los requisitos establecidos en las respectivas aduanas para el ingreso de dicha encomienda.

10. Glosario

Ensayo de Aptitud : Es una evaluación independiente y no sesgada del rendimiento de todos los aspectos del laboratorio, tanto humanos como materiales., a través de la cual se puede determinar el desempeño de un laboratorio.

Ensayo Interlaboratorio: Tipo de ensayo de aptitud que realiza con una distribución simultánea de laboratorios participantes, se selecciona un material con un valor asignado o certificado contra el cual es comparado el resultado obtenido por el o los participantes. Sirve para indicar el desempeño individual o grupal de los laboratorios.

Material de referencia (MR): material o sustancia en la 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, evaluación de desempeño, o la asignación de valores a los materiales

9. Referencias

- a) ISO Guide 43-1. 1997 €. Development and operation of laboratory Proficiency testing.
- b) ILAC – G13: 2000. Guidelines for requirements for the Competence of providers of proficiency testing schemes.
- c) Abdi, H (2007). Z-Scores. In N.J. Salkind (Ed.) , Enciclopedia of measurement and statistics. Thousand Oaks, CA: Sage.
- d) " Robust Statistics: method of Coping with Outliers". Royal Society of Chemistry, Analytical Methods Committee, N° 6, Apr 2001.