



PROGRAMA DE EVALUACIÓN EXTERNA DE CALIDAD PEEC | QUÍMICA AMBIENTAL Y DE ALIMENTOS

PROGRAMA BIOTOXINAS MARINAS EN MOLUSCOS BIVALVOS: SUBPROGRAMA DETERMINACIÓN DE TOXINA PARALIZANTE POR BIOENSAYO EN RATÓN

INFORME FINAL ENSAYO DE APTITUD ACREDITADO | DEPARTAMENTO NACIONAL Y DE REFERENCIA EN SALUD
AMBIENTAL | CÓDIGO RONDA-AÑO: SP6-2022 | VERSIÓN: 00



RG-04-IT-754.00-002.
Versión 3.
Fecha 05/07/2022

INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE

DEPARTAMENTO NACIONAL Y DE REFERENCIA EN SALUD AMBIENTAL
SUBDEPARTAMENTO DE METROLOGÍA
SECCIÓN COORDINACIÓN DE PROGRAMAS DE ENSAYOS DE APTITUD Y
EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD

Av. Marathon 1000, Ñuñoa. Santiago. Chile.
Código Postal 7780050.

www.ispch.cl

Coordinador PEEC:

QF. María Natalia Gutiérrez Vargas.

Autorizado por:

Jefe Departamento Nacional y de Referencia en Salud
Ambiental
Dra. Isel Cortés Nodarse.

Informe Ronda -Año: SP6-2022

Fecha: 26/08/2022

Versión N°: 00

Contacto:

Oficina de Informaciones, Reclamos y Sugerencias (SIAC-OIRS)

Lunes a Jueves de 08:00 a 17:30 horas

Viernes de 08:00 a 16:30 horas

Fono: +56 2 25755600 – +56 2 25755601

<https://siac.ispch.gob.cl/ES/AtencionCiudadana/OIRS>



PROGRAMA EVALUACIÓN EXTERNA DE LA CALIDAD

SUBPROGRAMA DETERMINACIÓN DE TOXINA PARALIZANTE POR BIOENSAYO EN RATÓN

CONTENIDO

| | | |
|-----|--|----|
| 1. | LISTA DE PARTICIPANTES..... | 04 |
| 2. | RESPONSABLES..... | 05 |
| 3. | INTRODUCCIÓN..... | 05 |
| 4. | MATERIAL DE ENSAYO..... | 05 |
| 5. | CRONOGRAMA..... | 07 |
| 6. | ANÁLISIS ESTADÍSTICO..... | 07 |
| 7. | RESULTADOS INFORMADOS POR LOS PARTICIPANTES..... | 08 |
| 8. | ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS INFORMADOS..... | 09 |
| 9. | EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO..... | 10 |
| 10. | COMENTARIOS Y SUGERENCIAS..... | 10 |
| 11. | REFERENCIAS..... | 11 |
| 12. | ANEXOS..... | 11 |

1. LISTADO DE PARTICIPANTES

| | |
|--|----------------|
| BLUE SHELL S.A. | DALCAHUE |
| CENTRO REGIONAL DE ANÁLISIS DE RECURSOS Y MEDIO AMBIENTE (CERAM) UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE | PUERTO MONTT |
| LABORATORIO AMBIENTAL LLANQUIHUE DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN DE LOS LAGOS | PUERTO MONTT |
| LABORATORIO DE SALUD PÚBLICA PUNTA ARENAS DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN DE MAGALLANES Y LA ANTÁRTICA CHILENA. | PUNTA ARENAS |
| LABORATORIO DE TOXINAS MARINAS SEDE CASTRO FACULTAD DE MEDICINA - UNIVERSIDAD DE CHILE | CASTRO |
| LABORATORIO DE TOXINAS MARINAS SEDE SANTIAGO FACULTAD DE MEDICINA - UNIVERSIDAD DE CHILE | SANTIAGO |
| LABORATORIO DEL AMBIENTE DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN DE AYSÉN DEL GENERAL CARLOS IBÁÑEZ DEL CAMPO | AYSEN |
| LABORATORIO DEL AMBIENTE DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN COQUIMBO | LA SERENA |
| LABORATORIO MAREA ROJA CASTRO DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN DE LOS LAGOS | CASTRO |
| LABORATORIO SATÉLITE DE MAREA ROJA QUELLÓN DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN DE LOS LAGOS | QUELLON |
| LABORATORIO SATÉLITE PORVENIR DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN DE MAGALLANES Y LA ANTÁRTICA CHILENA. | PORVENIR |
| LABORATORIO SATÉLITE PUERTO NATALES DE LA SEREMI DE SALUD DE LA REGIÓN DE MAGALLANES Y LA ANTÁRTICA CHILENA. | PUERTO NATALES |

2. RESPONSABLES

2.1. Personal responsable en la organización y desarrollo de esta ronda:

- QF. María Natalia Gutiérrez Vargas.
- Dra. Francis Alarcón Rodríguez.

2.2. Colaboradores:

- Qco. E. Paola Cornejo Aedo (Elaboración del Material de Referencia del ensayo de aptitud)
- Aux. Cristian Caballero Cortés (Preparación, embalaje y etiquetado de ítems de ensayo)
- Ms. Soraya Sandoval Riquelme (Revisión Informe)

3. INTRODUCCIÓN

El presente informe corresponde a la evaluación del ensayo de intercomparación del Subprograma “Determinación de Toxina Paralizante por Bioensayo en Ratón”. Este ensayo corresponde a la cuantificación de toxina paralizante de molusco expresada como saxitoxina equivalente en molusco bivalvo, de un material elaborado por la Sección de Metrología Científica en Química y Biomediciones y corresponde a una herramienta utilizada para evaluar la calidad de las prestaciones analíticas en laboratorios de ensayos que realizan análisis de Biotoxinas Marinas. Esta ronda de ensayo de aptitud de tipo interlaboratorio de participación simultánea es realizada por el Instituto de Salud Pública de Chile (ISP), desde el año 2007 para satisfacer los requerimientos de los Laboratorios que requieren realizar control o vigilancia de acuerdo a el Programa Nacional de Vigilancia de Marea Roja del Ministerio de Salud (Ord.4B/6518) (Informe Programa de Vigilancia de Floraciones Algales Nocivas (FAN) en Chile, MINSAL-ISP-SEREMIS DE SALUD año 2010, Página 3).

4. MATERIAL DE ENSAYO

El ítem de ensayo enviado contiene aproximadamente cien gramos (100 g) de molusco bivalvo congelado para la determinación cuantitativa del analito toxina paralizante de molusco, también llamada veneno paralizante de molusco (VPM), expresada como saxitoxina equivalente, envasado en un frasco de vidrio ámbar de tapa rosca previamente acondicionado, sellado, etiquetado y codificado.

El material de ensayo para análisis de VPM expresada como saxitoxina equivalente correspondió a un material preparado y caracterizado por el Laboratorio de Metrología Química Orgánica y Etanol de la Sección Metrología Científica en Química y Biomediciones del Instituto de Salud Pública de Chile (*).

() Las actividades de producción de material de referencia marcadas con asterisco (*) no están amparadas por la acreditación de ENAC*

Las muestras fueron analizadas por el Laboratorio de Referencia Nacional de Biotoxinas Marinas del Subdepartamento de Ambiente y Alimentos del ISP, para la evaluación de homogeneidad y estabilidad.

La evaluación de homogeneidad del ítem de ensayo preparado fue analizada en duplicado para 10 muestras del lote obtenidas aleatoriamente, utilizando la siguiente metodología:

Tabla N° 1
Metodologías de análisis.

| Componente/analito | Método |
|------------------------------------|---|
| Toxina paralizante de molusco, VPM | Referencia ME-711.04-081 Determinación de toxina paralizante de molusco (VPM) según AOAC Official Method 959.08 <i>Paralytic Shellfish Poison Biological Method</i> . |

Tabla N° 2
Resultados evaluación de homogeneidad.

| Componente/analito | n | Criterio aceptabilidad | Resultado test |
|------------------------------------|----|----------------------------------|----------------|
| Toxina paralizante de molusco, VPM | 10 | $F_{obs}(0,45) < F_{crit}(3,02)$ | Aceptable |

n: número de muestras ensayadas en duplicado

La evaluación de estabilidad a corto plazo a temperatura de almacenamiento (congelación) está basada en la ISO Guía 35.

Tabla N°3:
Resultados Test de Estabilidad.

| Componente/analito | n | Criterio aceptabilidad | Resultado test |
|------------------------------------|---|--|----------------|
| Toxina paralizante de molusco, VPM | 3 | $t_{obs}(t(b1)) (1,89) < t_{crit}(t(0.95; n-2); (4,30))$ | Aceptable |

n: número de muestras ensayadas en duplicado

El resultado de los test de homogeneidad y estabilidad realizado a los ítems de ensayo demostraron que el material es homogéneo y estable para los fines previstos.

La Tabla N°4, presenta el valor asignado e incertidumbre del ítem de ensayo.

Tabla N°4:
Valor Asignado para la evaluación de desempeño de la ronda se estableció según consenso de participantes.

| Componente/Analito | Valor Asignado (µg STXeq/100 g) | Incertidumbre Valor Asignado (µg STXeq/100 g) | Trazabilidad |
|------------------------------------|---------------------------------|---|--------------|
| Toxina paralizante de molusco, VPM | 423,36 | 9,49 | No aplica |

La incertidumbre del valor asignado ($\mu(X_{pt})$), fue obtenida a través de:

$$\mu(X_{pt}) = 1,25 \times \frac{S^*}{\sqrt{p}}$$

Siendo S^* la desviación estándar robusta de los resultados y p el número de resultados.

Cada laboratorio recibió las instrucciones para manipulación e indicaciones prácticas de seguridad a tomar en cuenta, durante el desarrollo del ensayo. Se recomendó a los participantes el uso de métodos y técnicas analíticas rutinarias del laboratorio.

5. CRONOGRAMA

- 5.1. **Envío de material de ensayo.**
24 / 05 / 2022
- 5.2. **Fecha límite de envío de resultados de los laboratorios participantes (Plazo de respuesta).**
22 / 06 / 2022
- 5.3. **Fecha publicación informe parcial en Portal PEEC.**
21 / 07 / 2022

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Luego del cierre de la ronda, los resultados fueron recolectados a través del Portal PEEC.

Se evaluó la existencia de datos anómalos, en base al método estadístico de Grubbs sin ser excluidos de los análisis.

Además, se evaluó la existencia de datos extremos en base al criterio de $\pm 50\%$ de mediana según el Protocolo Internacional Armonizado IUPAC. Una vez establecidos éstos se excluyeron y se procedió a realizar el análisis estadístico. En la Tabla 7 de los Anexos de este informe, se encuentran identificados aquellos resultados anómalos y/o extremos.

El análisis estadístico se basó en el valor de consenso de los participantes a través de la mediana con desviación estándar Horwitz.

Los resultados de los análisis cuantitativos obtenidos por los laboratorios son transformados a valores estándares de z-score, para realizar la evaluación de desempeño, utilizando la siguiente fórmula:

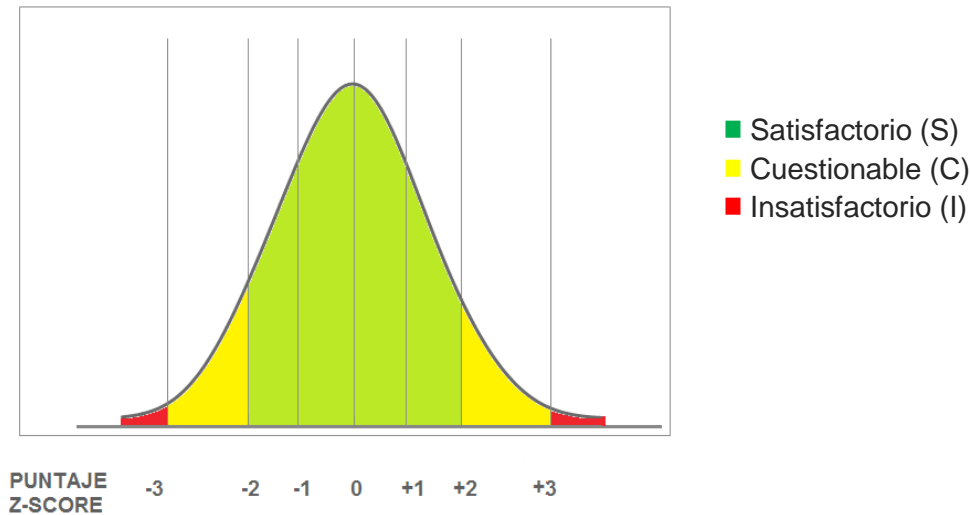
$$Z = \frac{x_i - x_{pt}}{\sigma_{pt}}$$

dónde:

- z = Valor z, z-score.
- x_i = Resultado del participante.
- x_{pt} = Valor asignado.
- σ_{pt} = Desviación estándar de la evaluación de aptitud.

El desempeño de los resultados de los participantes, es clasificado como “Satisfactorio”, “Cuestionable” o “Insatisfactorio” de acuerdo con el valor de z-score obtenido. La Figura 1, presenta los criterios de desempeño establecidos según el valor de z-score.

Figura1.
Valor de z -score y criterios de aceptabilidad.



$|z| < 2$: es decir, entre menor o igual a -2,00 y menor o igual a +2,00, el desempeño es **SATISFACTORIO**.

$2 < |z| < 3$: es decir, entre -2,01 y -2,99 y entre +2,01 y +2,99, el desempeño es **CUESTIONABLE**.

$|z| > 3$: es decir, mayor o igual a -3,00 o mayor o igual a +3,00 el resultado del laboratorio es **INSATISFACTORIO**.

Para fines de conservar la confidencialidad de los resultados y la evaluación de desempeño de los participantes, estos son reportados en el informe con el código CIL (Código de Identificación del Laboratorio), por lo cual el participante deberá ubicarse en las tablas y gráficas de acuerdo al código CIL asignado a su laboratorio para el año correspondiente de la presente ronda.

7. RESULTADOS INFORMADOS POR LOS PARTICIPANTES

7.1.- Datos

Los resultados enviados por los participantes para VPM, expresada como saxitoxina equivalente, se presentan en la Tabla N° 7 del anexo de este informe. De los 12 laboratorios adscritos, el 100 % envió resultados.

Se solicitó a los laboratorios reportar sus resultados con 2 cifras decimales para el analito VPM expresada como saxitoxina equivalente.

7.2.- Técnicas y métodos

Respecto de los métodos informados por los laboratorios que fueron utilizados para la determinación de los analitos se puede comentar que:

- a) Para determinación de toxina paralizante de molusco el 92% de los laboratorios (11 laboratorios) utilizó la técnica bioensayo en ratón, tal como se indicó en el Programa Anual de Ensayos de Aptitud y en el Protocolo de la ronda, y un 8% de los laboratorios, es decir sólo un laboratorio, utilizó un método “*In-house*”, sin detallar el fundamento técnico.
- b) Respecto a los métodos de referencia utilizados, éstos fueron: AOAC 959.08 e ISP PRT-711.04-081.

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS INFORMADOS

En relación a la recopilación y al análisis de datos, la evaluación estadística reportó los siguientes resultados:

Tabla N° 5:

Resumen análisis estadístico para la evaluación de desempeño.

| Parámetros | Toxina Paralizante de Molusco, VPM |
|---|--------------------------------------|
| | ($\mu\text{g STXeq}/100\text{ g}$) |
| N° datos reportados (n) | 12 |
| Valor asignado (x_{pt}) | 423,36 |
| Desviación estándar ensayo de aptitud (σ_{pt}) | 54,51 |
| Incertidumbre Valor Asignado u (x_{pt}) | 9,49 |
| N° valores anómalos | 1 |
| N° valores extremos | 1 |

En relación a los datos de la Tabla N° 5, para fines de la evaluación de desempeño para el analito, el valor asignado fue establecido por consenso de los participantes (mediana) y la desviación estándar del ensayo de aptitud por Horwitz.

Con fines informativos, la Tabla N°6 se presenta el análisis estadístico robusto de la ronda.

Tabla N° 6:

Resumen análisis estadístico robusto de la ronda por analito.

| Parámetro | Media | Mediana | Incertidumbre de consenso | MAD | MADe |
|------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Analito | $\mu\text{g STXeq}/100\text{ g}$ | $\mu\text{g STXeq}/100\text{ g}$ | $\mu\text{g STXeq}/100\text{ g}$ | $\mu\text{g STXeq}/100\text{ g}$ | $\mu\text{g STXeq}/100\text{ g}$ |
| Toxina Paralizante de Molusco, VPM | 416,69 | 423,36 | 9,49 | 16,99 | 25,19 |

MAD: Desviación absoluta media. Mediana del valor absoluto de todas las desviaciones o mediana de las diferencias absolutas.

MADe: Desviación absoluta media estandarizada.

En la Tabla N° 7 del anexo de este informe, se resumen los resultados reportados por cada participante y los z-score alcanzados.

9. EVALUACIÓN DE DESEMPEÑO

La evaluación de desempeño se estableció a través del modelo estadístico z-score, calculado con el valor asignado y la desviación estándar indicada en la Tabla N° 5 del presente informe.

La calificación de z-score alcanzada y la evaluación de desempeño respecto al análisis de toxina paralizante de molusco (VPM), expresada como saxitoxina equivalente en molusco bivalvo, se puede observar en la Tabla N°7 del anexo de este informe.

Los gráficos circulares de la evaluación de desempeño global por cada analito, la evaluación de desempeño de cada analito versus método de referencia informado por los participantes, distribución de z-score y dispersión de datos se presentan en el anexo de este informe, numerados desde la Gráfica N° 1 a la N° 4.

10. COMENTARIOS Y SUGERENCIAS (*)

- a) (*) De un total de 12 laboratorios adscrito para esta ronda, el 100% envió resultados. Es decir, se obtuvo un 100% de participación efectiva.
- b) (*) Para el análisis estadístico del analito toxina paralizante de molusco (VPM), expresado como saxitoxina equivalente, se presentó un dato anómalo y un dato extremo, ambos correspondientes al mismo participante.
- c) (*) Sólo un laboratorio participante utilizó otro fundamento para la técnica analítica, sin especificar el fundamento técnico. Sin embargo, el **Protocolo de Ensayo de Aptitud** de esta ronda indica específicamente la aplicación del bioensayo en ratón/ bioanálisis.
- d) (*) Respecto del año anterior el desempeño para el analito VPM, expresado como saxitoxina equivalente, ha disminuido desde el 100% al 92% de satisfactoriedad.
- e) (*) El valor de consenso de los participantes es un 37% superior al valor de referencia del material.
- f) (*) Se sugiere revisar el fundamento aplicado para la técnica analítica, datos, cálculos y unidades, como posible causa de desviación de resultados para laboratorios que cuenten con un z-score dentro del rango de insatisfactorios, así como también cuando se observen tendencias por defecto o exceso.
- g) (*) Los comentarios de este informe marcados con asterisco (*) no están amparadas por la acreditación de ENAC.
- h) La versión autorizada del informe final se encuentra publicada en página Web institucional: www.ispch.cl

11. REFERENCIAS

1. ISO 13528:2015 (E). *Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons.*
2. NCh-ISO 17043:2011, Evaluación de la conformidad – requisitos generales para los ensayos de aptitud.
3. *Robust Statistics: a Method of Coping with Outliers*”. Royal Society of Chemistry, Analytical Methods Committee, N° 6, A.
4. Thompson, M., Ellison, S.L.R and Wood, R. 2006. *The International Harmonized Protocol for Proficiency*
5. *The International Harmonized Protocol for Proficiency testing of analytical chemistry laboratories (IUPAC) (2006). Pure Appl. Chem. Vol78, pp. 145-196.*

12. ANEXOS

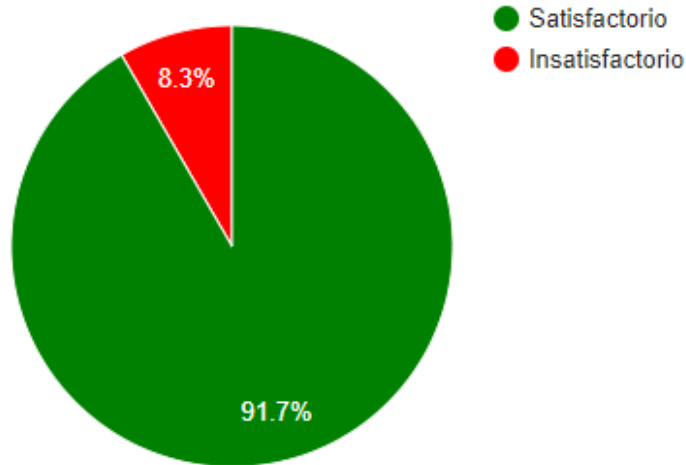
Tabla N° 7

Resultados de Toxina paralizante de molusco expresada como saxitoxina equivalente reportados, valores de *z-score* y evaluación de desempeño.

| CIL | Resultados Unidades µg STXeq/100 g | <i>z-score</i> | Evaluación de desempeño | Valor Anómalo (A) / Valor Extremo (E) |
|----------|--|----------------|----------------------------|--|
| QAMA2215 | 394,00 | -0,54 | Satisfactorio | - |
| QAMA2217 | 437,57 | 0,26 | Satisfactorio | - |
| QAMA2239 | 440,35 | 0,31 | Satisfactorio | - |
| QAMA2241 | 393,00 | -0,56 | Satisfactorio | - |
| QAMA2242 | 370,00 | -0,98 | Satisfactorio | - |
| QAMA2243 | 423,36 | 0,00 | Satisfactorio | - |
| QAMA2244 | 416,92 | -0,12 | Satisfactorio | - |
| QAMA2249 | 437,02 | 0,25 | Satisfactorio | - |
| QAMA2251 | 392,08 | -0,57 | Satisfactorio | - |
| QAMA2252 | 442,00 | 0,34 | Satisfactorio | - |
| QAMA2253 | 437,26 | 0,25 | Satisfactorio | - |
| QAMA2287 | 858,00 | 7,97 | Insatisfactorio | A y E |

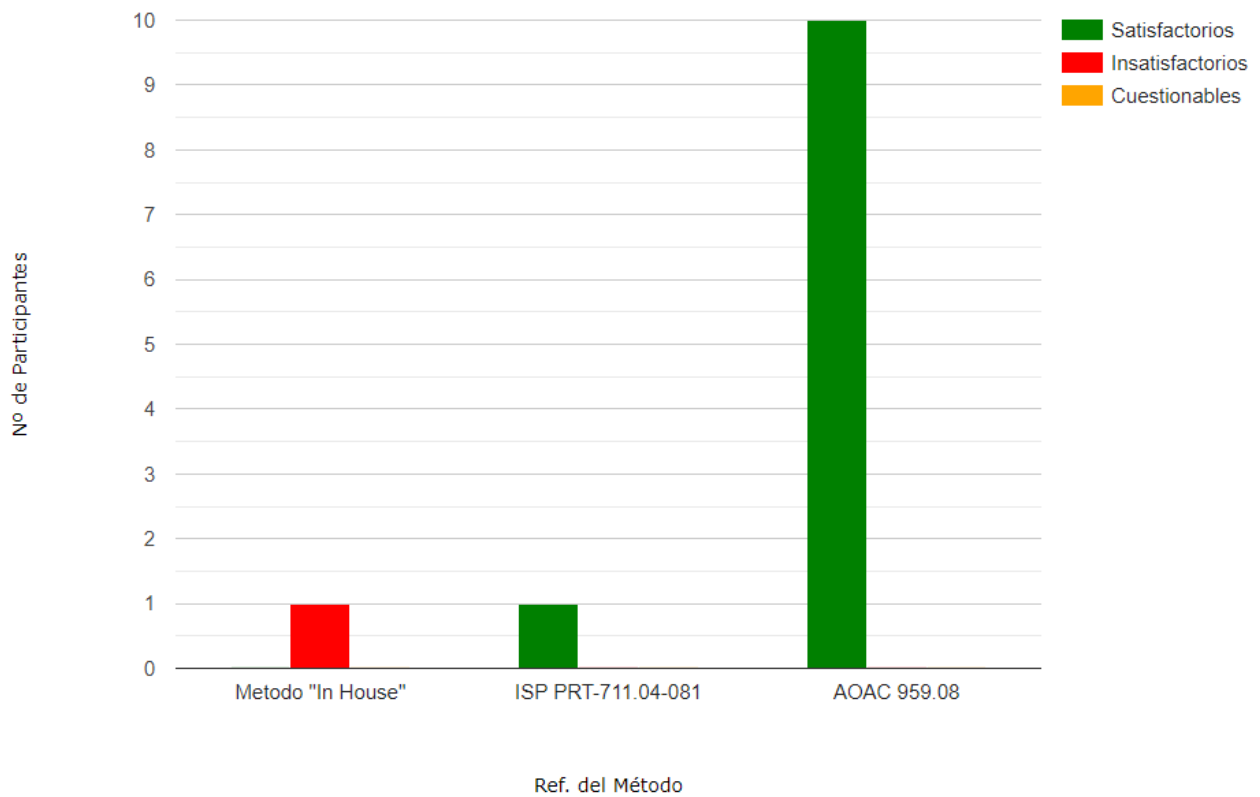
GRÁFICA N° 1

Evaluación de desempeño de Toxina Paralizante de Molusco (VPM), expresada como Saxitoxina equivalente.



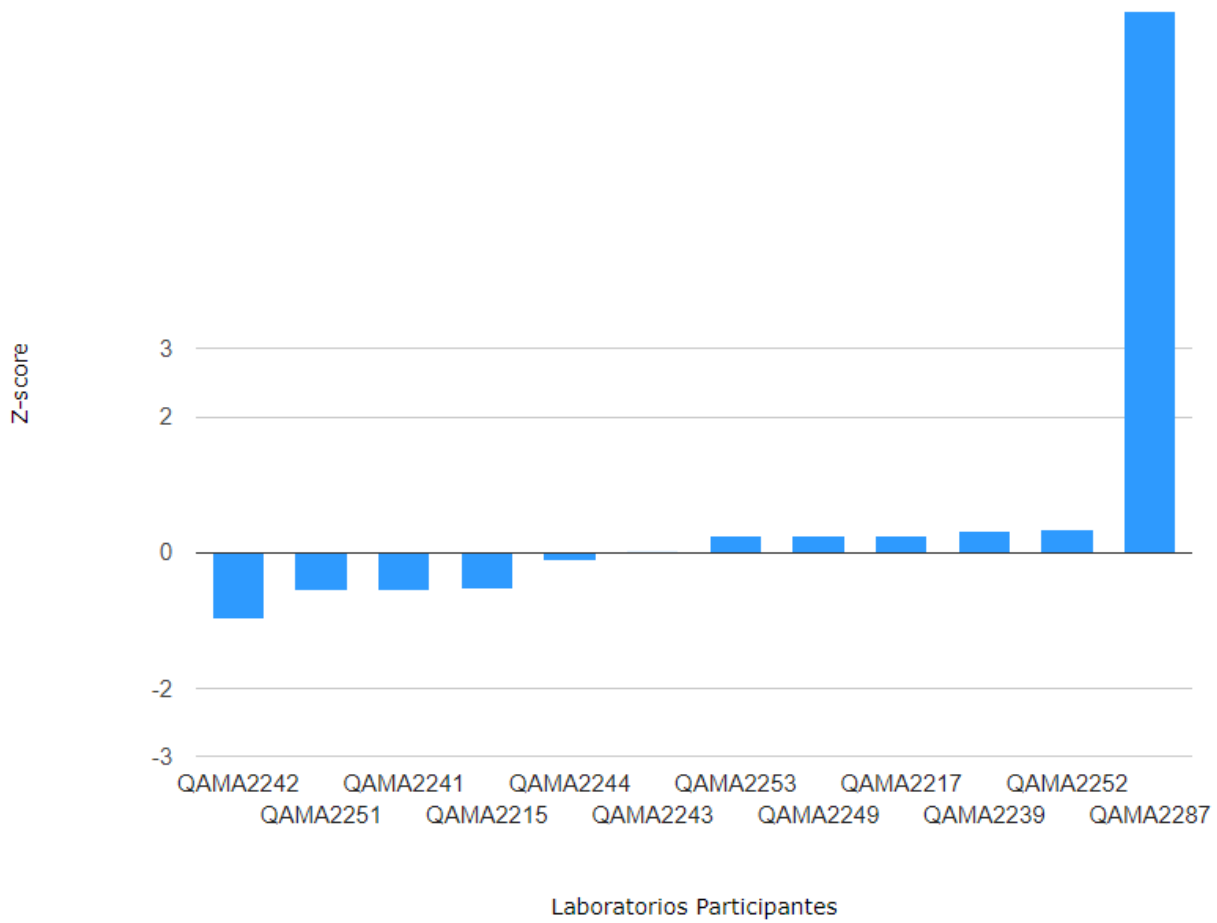
GRÁFICA N° 2.

Evaluación de desempeño según método utilizado por los laboratorios para determinación de Toxina Paralizante de Molusco (VPM), expresada como Saxitoxina equivalente.



GRÁFICA N° 3.

Distribución de z-score para determinación de Toxina Paralizante de Molusco (VPM), expresada como Saxitoxina equivalente.



GRÁFICA N° 4.

Dispersión de datos para determinación de Toxina Paralizante de Molusco (VPM), expresada como Saxitoxina equivalente.

