



**PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS
COMITÉ DEL CODEX SOBRE MÉTODOS DE ANÁLISIS Y TOMA DE MUESTRAS
37.ª reunión**

Budapest (Hungria), 22-26 de febrero de 2016

**DOCUMENTO DE DEBATE SOBRE LOS CRITERIOS PARA LA APROBACIÓN DE MÉTODOS
BIOLÓGICOS DESTINADOS A LA DETECCIÓN DE PRODUCTOS QUÍMICOS DE INTERÉS**

(Preparado por el Grupo de trabajo electrónico dirigido por Chile y Francia)

ANTECEDENTES

1. En la 35.ª reunión del Comité del Codex sobre Métodos de Análisis y Toma de Muestras (CCMAS) se mantuvo un amplio debate sobre los tipos de métodos utilizados para cuantificar las toxinas marinas, a saber, el biológico y el químico, y, en consecuencia, sobre la posible aprobación en las normas del Codex Alimentarius.
2. Este debate sobre biología y química no es nuevo, pues también puede celebrarse en otros ensayos como en la determinación de vitaminas. Sin embargo, en el caso de los ensayos de toxinas, el uso de animales vivos para realizar pruebas en las muestras puede considerarse una gran preocupación en algunos países. Asimismo, la lista de métodos biológicos vigentes no estaba bien definida. Los métodos biológicos, que comparten el mismo principio, se clasifican a menudo de manera diferente sin un motivo concreto.
3. El CCMAS, en su 35.ª reunión, acordó establecer un Grupo de trabajo electrónico (GTe) relativo a los criterios para la aprobación de métodos biológicos destinados a la detección de productos químicos de interés, bajo la dirección de Chile y la copresidencia de Francia, y con el inglés como único idioma de trabajo.
4. Se encargó al GTe que preparara un documento de debate sobre la elaboración de criterios para la aprobación de métodos biológicos destinados a la detección de productos químicos de interés.
5. Para los fines de este GTe, se consideraba que los métodos biológicos eran los métodos de análisis que utilizaban organismos o alguna de sus partes como indicadores analíticos, salvo los métodos PCR, enzimáticos y ELISA. Asimismo, quedaron fuera del ámbito del GTe los métodos utilizados para la evaluación de la higiene de los alimentos en el marco del mandato del Comité sobre Higiene de los Alimentos.
6. Se desafió al Grupo de trabajo a:
 - i) clasificar los métodos biológicos según la naturaleza, los principios, las características, etc.;
 - ii) identificar a qué clases de métodos se aplicaba el enfoque basado en criterios, y
 - iii) recomendar criterios para la aprobación de cada clase de método biológico definida en el paso i).
7. El GTe tuvo más de 47 participantes. Al final del documento se presenta la lista de participantes y afiliaciones.

PLAN PRELIMINAR

8. A finales de julio de 2015 se redactó y se envió a todos los miembros un primer documento, en el que se recogía una lista de los métodos vigentes y una lista de definiciones. Los métodos biológicos formalizados actualmente en el Codex Alimentarius se enumeran a continuación. En el Anexo II se presentan las definiciones:

Producto	Disposición	Método	Principio	Tipo
Margarina	Vitamina D	AOAC 936.14	Bioensayo	II
Minarina	Vitamina D	AOAC 936.14	Bioensayo	II
Alimentos especiales	Ácido fólico	AOAC 944.12	Ensayo microbiológico	II
Alimentos especiales	Nicotinamida para alimentos con base de leche	AOAC 944.13	Ensayo microbiológico	II
Alimentos especiales	Ácido pantoténico / alimentos enriquecidos	AOAC 945.74	Ensayo microbiológico	II
Alimentos especiales	Ácido pantoténico / alimentos no enriquecidos	The Analyst 89 (1964):1, 3-6, ibíd. 232	Ensayo microbiológico	IV
		US Dept Agr., Agr. Handbook 97 (1965)		
Alimentos especiales	Relación de eficiencia de las proteínas (REP)	AOAC 960.48	Bioensayo en ratas	I
Alimentos especiales	Vitamina B12	AOAC 952.20	Ensayo microbiológico	II
Alimentos especiales	Vitamina B6	AOAC 961.15	Ensayo microbiológico	II
Alimentos especiales	Vitamina D	AOAC 936.14	Bioensayo en ratas	IV
Preparados de continuación	Ácido pantoténico	AOAC 992.07 Mide el pantotenato total: ácido pantoténico libre + formas combinadas (ACP y CoA).	Ensayo microbiológico	II
Preparados para lactantes	Ácido fólico	AOAC 992.05 <i>Mide el ácido fólico libre más los folatos libres sin combinar presentes de forma natural, agregados y medidos como ácido fólico.</i> EN 14131:2003 <i>Folato total (libre más combinado), agregado y medido como ácido fólico.</i>	Ensayo microbiológico	II
Preparados para lactantes	Niacina	AOAC 985.34 <i>Niacina (preformada) y nicotinamida</i>		III
Preparados para lactantes	Vitamina B6	AOAC 985.32	Ensayo microbiológico	III
Preparados para lactantes	Vitamina B6	EN 14166 <i>(Agrega piridoxal, piridoxina y piridoxamina libres y combinados, y se mide como piridoxina)</i>	Ensayo microbiológico	III

9. Se recibieron algunos comentarios sobre las definiciones y se modificó el Anexo 2.
10. Asimismo, se recibieron algunas propuestas para añadir referencias de otros métodos, la mayoría de los cuales eran métodos de microbiología (fuera del ámbito de aplicación) y no se introdujeron en la lista.
11. Se recibieron y añadieron dos métodos para la determinación de biotoxinas marinas.

Producto	Disposición	Método	Principio	Tipo
Determinación de biotoxinas marinas	PSP	AOAC 959.08	Bioensayo en ratones	IV
	PSP	AOAC 2011.27	Bioensayo en ratones	IV

12. La mayoría de los métodos identificados están destinados a cuantificar las vitaminas y, para ser más exactos, las actividades de las vitaminas transformadas en cantidades de disposición. La mayoría de estos productos en cuestión son alimentos especiales o preparados para lactantes. Es bien sabido que actualmente la vitaminas se cuantifican mediante métodos cromatográficos. ¿Mantendrá el CCMAS la aprobación de estos métodos en los próximos años?

13. Parece haber una alta probabilidad de que el CCMAS no mantenga la aprobación de la mayoría de estos métodos, en cuyo caso, se pide al Comité que considere si existe realmente la necesidad de establecer criterios para la aprobación de métodos biológicos.

14. El GTe formuló otras dos cuestiones que debían abordarse, que no pudieron debatirse por restricciones de tiempo y que eran fundamentales para la labor encaminada a:

- identificar a qué clases de métodos se aplicaba el enfoque basado en criterios;
- recomendar criterios para la aprobación de cada clase de método biológico definida.

RECOMENDACIONES

15. El GTe recomienda al CCMAS que vuelva a evaluar la lista de métodos biológicos y que considere su aprobación en el futuro antes de continuar.

16. Chile y Francia, en calidad de países directores del GTe, consideran necesario continuar la labor de este grupo a fin de debatir en mayor detalle los temas propuestos: identificar a qué clases de métodos se aplica el enfoque basado en criterios y recomendar criterios para la aprobación de cada clase de método biológico definida.

ANEXO 1

GRUPO DE TRABAJO ELECTRÓNICO RELATIVO A LOS CRITERIOS PARA LA APROBACIÓN DE MÉTODOS BIOLÓGICOS DESTINADOS A LA DETECCIÓN DE PRODUCTOS QUÍMICOS DE INTERÉS

N.º	Nombre	Organización	País	Correo electrónico
1	Codex Argentina		Argentina	codex@minagri.gob.ar
2	Codex Australia		Australia	codex.contact@agriculture.gov.au
3	Punto de contacto del Codex de la Unión Europea		Unión Europea	codex@ec.europa.eu
4	Punto de contacto de Corea	Ministerio para la Seguridad en los Alimentos y Fármacos	República de Corea	codexkorea@korea.kr
5	Acevedo Irma	Servicio Agrícola Ganadero	Chile	irma.acevedo@sag.gob.cl
6	Alzamora Claudia	Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual (Indecopi)	Perú	calzamora@indecopi.gob.pe
7	Arpad Ambrus	Presidente del CCMAS	Hungría	ambrusadr@yahoo.co.uk
8	Behnisch Peter	BioDetection Systems b.v.	Alemania	peter.behnisch@bds.nl
9	Choi Eun-Jin	Ministerio para la Seguridad en los Alimentos y Fármacos	República de Corea	cej1@korea.kr
10	Coghlan Richard	National Measurement Institute, Department of Industry and Science	Australia	richard.coghlan@measurement.gov.au
11	de Vreeze Marcel	AgroFood & Consument Consultor sobre Normalización de las normas del Instituto Neerlandés de Normalización (NEN) y las normas ISO en el sector agroalimentario	Países Bajos	marcel.devreeze@nen.nl
12	Denisse Canouet	SERNAPESCA	Chile	dcanouet@sernapesca.cl
13	Donders Mauricio	Universidad Tecnológica Metropolitana	Chile	mdonders@utem.cl
14	Dubois-Lozier Aurélie	Federación Internacional de Lechería (FIL)	FIL	adubois@fil-idf.org
15	Flores Laura	Laboratorio Tecnológico del Uruguay (LATU)	Uruguay	lflores@latu.org.uy
16	Fodor Andrea	Oficina Nacional de Inocuidad de la Cadena Alimentaria Dirección de Inocuidad de los Alimentos y Piensos	Hungría	fodora@nebih.gov.hu
17	Franklin Pinto Rosane Maria		Brasil	alimentos@anvisa.gov.br
18	Gálvez González César Omar	Comisión de Control Analítico y Ampliación de Cobertura Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios	México	cgalvez@cofepris.gob.mx czargg@gmail.com

N.º	Nombre	Organización	País	Correo electrónico
19	Geetanjali	Laboratorio Alimentario Central, Kolkata, Autoridad de Inocuidad Alimentaria y Normas de la India	India	geetanjali.sharma.cfl@gmail.com
20	Guim Moon	Instituto Nacional de Evaluación de la Inocuidad de Alimentos y Medicamentos	República de Corea	luna@korea.kr
21	Gulyás Márta	Oficina Nacional de Inocuidad de la Cadena Alimentaria	Hungría	GulyasM@nebih.gov.hu
22	Józwiák Ákos	Oficina Nacional de Inocuidad de la Cadena Alimentaria	Hungría	jozwiaka@nebih.gov.hu
23	Katikou Panagiota	Laboratorio Nacional de Referencia para las Biotoxinas Marinas Departamento de Patología de los Organismos Acuáticos, Control de Biotoxinas y Toxinas Marinas en otras Aguas Dirección del Centro Veterinario de Tesalónica Ministerio de Reconstrucción Productiva, Medio Ambiente y Energía	Grecia	biotoxin@otenet.gr
24	Khudhair Abas Sumeia	Organización Central de Normalización y Control de Calidad (COSQC)	Iraq	sumeiak.abas37@yahoo.com
25	Krishnan Anoop	Organismo de Inspección de Exportaciones (EIA) de Kolkata	India	eia-kolkatalab@eicindia.gov.in
26	Lee Barbara	Dirección General de Productos de Salud y Alimentos (HPFB) Health Canada	Canadá	Barbara.Lee@hc-sc.gc.ca
27	Lindner Schreiner Ligia		Brasil	ligia.schreiner@anvisa.gov.br
28	Maratos Marie	Oficina del Codex de los Estados Unidos Servicio de Inocuidad e Inspección de los Alimentos	EE.UU.	Marie.Maratos@fsis.usda.gov
29	Máthé Endre	Universidad de Debrecen Facultad de Ciencias Agrícolas y de los Alimentos y Gestión Medioambiental	Hungría	endre.mathe64@gmail.com
30	Morris Susan	Ministerio de Industrias Primarias	Nueva Zelandia	susan.morris@mpi.govt.nz
31	Nagy Attila	Oficina Nacional de Inocuidad de la Cadena Alimentaria	Hungría	nagyattila@nebih.gov.hu
32	Noonan Gregory	División de Química Analítica Centro de Inocuidad Alimentaria y Nutrición Aplicada (CFSAN) Administración de Alimentos y Drogas (FDA) de los Estados Unidos de América	EE.UU.	gregory.noonan@fda.hhs.gov

N.º	Nombre	Organización	País	Correo electrónico
33	Norden Timothy	División de Ciencia y Tecnología Grain Inspection, Packers and Stockyards Administration Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América	EE.UU.	timothy.d.norden@usda.gov
34	Pellegrino Marcelo	Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA)	Argentina	mpellegr@senasa.gob.ar
35	Salhi Maria	Laboratorio de Análisis de Productos Pesqueros, Departamento de Industria Pesquera, Dirección Nacional de Recursos Acuáticos (DINARA)	Uruguay	msalhi@dinara.gub.uy
36	Soto Marcelo	Instituto de Salud Pública de Chile (ISPCH)	Chile	msoto@ispch.cl
37	Sri Heruwati Endang	Investigador en el Ministerio de Asuntos Marinos y Pesca (antiguo)	Indonesia	endang_heruwati@yahoo.com endang_heruwati@gmail.com rina@bsn.go.id codex_indonesia@bsn.go.id
38	Suárez Brito Pamela	Departamento de Asuntos Internacionales Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios	México	codex@cofepris.gob.mx psuarez@cofepris.gob.mx
39	Takanori Ukena	División de Políticas relativas a la Inocuidad de los Alimentos y el Consumidor Oficina de Asuntos sobre la Inocuidad de los Alimentos y el Consumidor Ministerio de Agricultura, Silvicultura y Pesca	Japón	takanori_ukena@nm.maff.go.jp codex_maff@nm.maff.go.jp
40	Torres Verónica	SENASA	Argentina	vtorres@senasa.gob.ar
41	van der Schee Henk	Nederlandse Voedsel- en Warenautoriteit	Países Bajos	h.a.vanderschee@nvwa.nl
42	Verger Philippe	Departamento de Inocuidad de los Alimentos y Zoonosis Organización Mundial de la Salud (OMS)	OMS	vergerp@who.int
43	Watanabe Takahiro	Instituto Nacional de Ciencias de la Salud Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar Social	Japón	codexj@mhlw.go.jp
44	Weesepeel Yannick	RIKILT	Países Bajos	yannick.weesepeel@wur.nl
45	Zentai Andrea	Vicepresidenta del CCMAS	Hungría	zentaia@nebih.gov.hu

ANEXO 2

DEFINICIONES RELACIONADAS CON LOS MÉTODOS BIOLÓGICOS

1. **Bioensayo:** método en el cual el poder o la potencia de una sustancia se mide a través de la respuesta de organismos vivos o sistemas vivos. **c)**
2. **Clasificación de los bioensayos en función de su naturaleza:**
 - 2.1. Ensayos biológicos basados en los animales, en los que se mide la respuesta biológica de un organismo al producto. **a)**
 - 2.2. Ensayos biológicos basados en cultivos celulares, en los que se mide la respuesta bioquímica o fisiológica a nivel celular. **a)**
 - 2.3. Ensayos bioquímicos, en los que se miden actividades biológicas, como la velocidad de las reacciones enzimáticas o las respuestas biológicas, inducidas por interacciones inmunológicas. **a)**
3. **Clasificación en función del tipo de bioensayo:**
 - 3.1. Los bioensayos cualitativos son aquellos que no generan una respuesta gradual medible, con lo que se obtiene una respuesta absoluta de la unidad sometida a ensayo. El bioensayo ofrece una respuesta negativa o positiva según un límite de concentración específico.
 - 3.2. Los bioensayos cuantitativos ofrecen una respuesta gradual que genera un valor numérico. Estos ensayos pueden utilizarse para métodos estadísticos de cálculo de la potencia, como el modelo de líneas paralelas.
4. **Clasificación de bioensayos en función del período de tiempo:**
 - 4.1. Ensayo de toxicidad a corto plazo: 24-48 h.
 - 4.2. Ensayo de toxicidad a mediano plazo: de 10 a 90 días.
 - 4.3. Ensayo de toxicidad a largo plazo: exposición de mayor duración. **b)**

Otros términos relacionados:

5. **Actividad biológica:** habilidad o capacidad específica del producto de lograr un efecto biológico definido. La potencia es la medida cuantitativa de la actividad biológica. **a)**
6. **Potencia:** medida de la actividad biológica utilizando un ensayo biológico adecuadamente cuantitativo (también llamado ensayo de la potencia o bioensayo) sobre la base del atributo del producto relacionado con las propiedades biológicas pertinentes. **b)**
7. **NOEC (concentración a la cual no se observa efecto):** en un ensayo completo o parcial del ciclo de vida, la mayor concentración tóxica a la que los valores de la respuesta medida no presentan una diferencia estadísticamente significativa en comparación con los valores del control. **b)**
8. **LOEC (concentración más baja a la cual se observa efecto):** en un ensayo completo o parcial del ciclo de vida, la menor concentración tóxica a la que los valores de la respuesta medida presentan una diferencia estadísticamente significativa en comparación con los valores del control. **b)**
9. **Concentración letal media (CL₅₀):** concentración, obtenida por estadística, de una sustancia en un entorno ambiental que se estima letal para el 50 % de los organismos de una población determinada con una serie de condiciones definidas. **e)**
10. **CL₅₀ asintomática:** concentración tóxica a la que la CL₅₀ se acerca a una constante cuando el tiempo de exposición es prolongado. **b)**
11. **Concentración letal (CL):** concentración de una sustancia potencialmente tóxica en un entorno ambiental que causa la muerte tras un determinado período de exposición. **e)**
12. **Tiempo de exposición:** tiempo durante el cual un organismo analítico está expuesto al ensayo. **b)**
13. **Dosis:** cantidad de sustancia tóxica que se introduce en el organismo. Dosis y concentración no son términos intercambiables. **b)**

14. **Toxicidad:** capacidad de causar daños a un organismo vivo definida con referencia a la cantidad de sustancia administrada o absorbida, el modo en que la sustancia se administra y distribuye a lo largo del tiempo (dosis única o dosis repetidas), el tipo de daño y su gravedad, el tiempo necesario para producir el daño, la naturaleza del organismo u organismos afectados y otras condiciones pertinentes. **d)**
15. **Toxicidad aguda:** efectos adversos de duración finita que tienen lugar en un período de tiempo breve (hasta 14 días) tras la administración de una dosis única (o la exposición a una determinada concentración) de una sustancia de ensayo o tras múltiples dosis (exposiciones), generalmente en las primeras 24 horas a partir de un punto de inicio, que puede ser la exposición a la sustancia tóxica, la pérdida de la capacidad de reserva, un cambio en el desarrollo, etc.). Capacidad de una sustancia de provocar efectos adversos en un tiempo breve de exposición o administración de dosis. **d)**
16. **Toxicidad crónica:** efectos adversos tras una exposición crónica. Efectos que se prolongan durante un período de tiempo largo y que pueden producirse inmediatamente tras la exposición o aparecer de forma tardía. **d)**
17. **Factor de equivalencia tóxica (FET, f):** proporción entre la toxicidad de una sustancia química y la de otra sustancia química estructuralmente relacionada (o compuesto índice) elegida como referencia. **d)**
18. **Equivalente de toxicidad (ET, T_{xe}):** contribución de uno o varios componentes específicos a la toxicidad de una mezcla de sustancias relacionadas. **d)**

Nota 1: la concentración de la cantidad de sustancia (o de la sustancia) del equivalente de toxicidad total es la suma de la de los componentes B, C... N.

Nota 2: el equivalente de toxicidad se utiliza más habitualmente en relación con la sustancia tóxica de referencia 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-dioxina [2,3,7,8-tetraclorooxantreno] por medio del FET, que es igual a 1 en el caso de la sustancia de referencia. f_i es el factor de equivalencia tóxica asignado. Por tanto, si c es la concentración de la cantidad de sustancia:

$$T_{xe} = \sum_{i=B}^N f_i c_i$$

Bibliografía:

- (a) ICH Topic Q 6 B Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for Biotechnological / Biological Products
- (b) Standard Methods for Examination of Water and wastewater. 22nd Edition. APHA.AWWA.WEF.
- (c) Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones. Morales, Gabriela. IMTA. México. 2004.
- (d) IUPAC glossary of terms used in toxicology, 2nd edition - Iupac recommendations 2007. Published in Pure Appl. Chem., Vol. 79, No. 7, pp. 1153-1344, 2007
- (e) IUPAC Gold Book. 2003.