

COMMISSION DU CODEX ALIMENTARIUS



Organisation des Nations Unies
pour l'alimentation
et l'agriculture



Organisation
mondiale de la Santé

F

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Rome, Italie - Tél: (+39) 06 57051 - Courrier électronique: codex@fao.org - www.codexalimentarius.org

Point 5 de l'ordre du jour

CX/MAS 18/39/5

Mars 2018

PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES COMITÉ DU CODEX SUR LES MÉTHODES D'ANALYSE ET D'ÉCHANTILLONNAGE

Trente-neuvième session
Budapest (Hongrie), 7-11 mai 2018

DOCUMENT DE TRAVAIL SUR LES CRITÈRES DE CONFIRMATION DES MÉTHODES BIOLOGIQUES PERMETTANT DE DÉTECTER DES SUBSTANCES CHIMIQUES PRÉOCCUPANTES

(Document élaboré par le Groupe de travail électronique dirigé par le Chili et le Mexique)

CONTEXTE

1. Le Comité du Codex sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage (ci-après dénommé «le Comité»), à sa trente-cinquième session (mars 2014), a approuvé les Critères pour la détermination des analogues de toxines par des méthodes chimiques (section I-8.6.1 de la norme pour les mollusques bivalves vivants et crus – CXS 292 - 2008), ainsi que le classement des méthodes AOAC 959.08 (essais biologiques sur souris) et AOAC 2011.27 (essais de liaison aux récepteurs) dans la catégorie de type IV (section I-8.6.2 de la norme¹).
2. À sa trente-septième session (juillet 2014), la Commission du Codex Alimentarius a examiné les projets de sections I-8.6.1 et I.8.6.2, tels qu'approuvés et modifiés par le Comité. Des intervenants se sont inquiétés du fait que les bio-essais sur souris soient classés en type IV, ce qui signifierait que cette méthode ne pourrait pas être utilisée à des fins de contrôle, d'inspection et de réglementation. Des délégations ont indiqué que le Comité devrait, selon elles, envisager de définir des critères pour les méthodes biologiques étant donné que les critères de choix actuellement suivis s'appliquent aux méthodes chimiques, et ont conduit au classement en type IV.
3. À l'issue des débats, la Commission a renvoyé la section I-8.6.2 au Comité en lui demandant de réexaminer les types attribués aux méthodes en question et a encouragé celui-ci à poursuivre rapidement ses débats sur la façon de traiter les méthodes biologiques au moyen d'une approche fondée sur des critères².
4. À sa trente-sixième session (février 2015), le Comité a analysé la demande de la Commission relative au réexamen des types attribués aux méthodes de détermination des biotoxines marines. À l'issue de débats approfondis sur les types de méthodes (chimiques et biologiques) utilisées pour quantifier les toxines marines, le Comité a décidé de confirmer le classement en type IV des méthodes figurant à la section I-8.6.2 de la norme pour les mollusques bivalves vivants et crus et a reconnu qu'il fallait envisager de toute urgence d'établir des critères régissant le choix des méthodes biologiques, comme le préconisait également la Commission.
5. Le Comité du Codex sur les méthodes d'analyse et d'échantillonnage a créé un groupe de travail électronique dirigé par le Chili et coprésidé par la France, dont le mandat est le suivant: i) classer les méthodes biologiques en fonction de leur nature, de leurs principes, de leurs caractéristiques, etc.; ii) déterminer à quels types de méthodes s'applique la démarche-critère et iii) recommander des critères permettant de confirmer chaque type de méthodes biologiques déterminé à l'étape ii). Aux fins de ce groupe de travail, on entend par méthodes biologiques les méthodes d'analyse qui utilisent des organismes entiers ou des parties de ces organismes comme indicateurs analytiques, sauf les méthodes PCR (réaction en chaîne de la polymérase), enzymatiques et ELISA (épreuves immuno-enzymatiques). En outre, les méthodes servant à évaluer l'hygiène alimentaire ne relevaient pas du mandat du groupe de travail électronique mais de la compétence du Comité du Codex sur l'hygiène alimentaire³.

¹ REP14/MAS, paragraphes 23-25.

² REP14/CAC, paragraphes 53 à 60.

³ REP15/MAS, paragraphes 44 à 59.

6. À la trente-septième session du Comité (février 2016), les délégations du Chili et de la France ont présenté le Document de travail sur les critères de confirmation des méthodes biologiques permettant de détecter des substances chimiques préoccupantes et ont expliqué que le groupe de travail électronique n'avait accompli que la première tâche de son mandat (classification des méthodes)⁴.

7. Le groupe de travail électronique a constaté que la plupart des méthodes biologiques énumérées dans le Codex étaient de type II ou III, qu'une seule était de type I (essais biologiques sur souris visant à déterminer le coefficient d'efficacité protéique) et que les méthodes permettant de doser les biotoxines marines étaient de type IV. Par ailleurs, il a estimé que l'absence de révision de la liste des méthodes figurant dans la norme CXS 234-1999 constituait un obstacle car il n'existe plus de dispositions pour certaines d'entre elles, que le Comité pourrait donc supprimer ou examiner (par exemple, les méthodes applicables à la minarine et à la margarine, ainsi que l'utilisation actuelle des méthodes chromatographiques pour le dosage des vitamines).

8. Pendant la session, un débat d'ordre général a été organisé et la proposition de mise à jour de la liste des méthodes biologiques à l'aide des orientations demandées aux comités pertinents a été appuyée. Cela permettrait de définir les méthodes auxquelles les critères s'appliqueraient et de ne pas établir de critères pour les méthodes qui pourraient être retirées de la liste.

9. À la trente-huitième session du Comité, certains pays ont indiqué qu'il n'était plus nécessaire de débattre des critères de confirmation des méthodes biologiques, car celles-ci étaient remplacées par des méthodes de CLHP. D'autres pays ont indiqué que les méthodes biologiques faisaient partie des méthodes approuvées dans le système du CODEX, que d'autres méthodes pourraient être ajoutées et également que, dans le cadre de l'examen de la CXS 234, il serait nécessaire de savoir comment approuver ces méthodes.

10. Les délégués favorables à l'élaboration de critères spécifiques régissant la confirmation des méthodes biologiques ont estimé que les Critères généraux ne pouvaient pas s'appliquer aux méthodes biologiques. Toutefois les délégués opposés ont indiqué que les Critères généraux régissant le choix des méthodes d'analyse pouvaient aussi s'appliquer aux méthodes biologiques et que, dans le cas où des critères numériques étaient nécessaires, il faudrait procéder à un examen au cas par cas.

11. Enfin, le Comité est convenu de poursuivre les travaux sur les critères des méthodes biologiques et d'établir un Groupe de travail électronique présidé par le Chili et le Mexique, afin:

- d'utiliser les Critères généraux régissant le choix des méthodes d'analyse indiqués dans le Manuel de procédure et d'autres documents cités en lien avec ce dernier concernant la validation des méthodes d'analyse pour l'évaluation des méthodes qui permettent de mesurer une substance à partir de la réponse d'organismes ou de systèmes vivants;
- de déterminer les critères qui ne s'appliqueraient pas et de proposer d'autres critères qui pourraient se révéler nécessaires pour les méthodes biologiques actuellement approuvées par le Codex.

EXAMEN DU GROUPE DE TRAVAIL ÉLECTRONIQUE

12. Le Groupe de travail électronique a exercé ses fonctions au moyen de la plateforme <http://forum.codex-alimentarius.net/>, ainsi que le recommandait le Secrétariat du Comité. Au total, trente-quatre utilisateurs se sont inscrits sur la plateforme, mais seuls les commentaires de trois délégations (Canada, Thaïlande et Kazakhstan) ont été reçus, peut-être en raison de la difficulté à utiliser la nouvelle plateforme. Par conséquent, l'opinion des délégués concernés par la question n'est, malheureusement, que faiblement représentée. La liste des participants figure à l'Annexe II.

13. Un document préliminaire a été présenté au Groupe de travail électronique, document dans lequel deux exemples de méthodes biologiques énumérées dans la CX 234 ont été choisies pour représenter les méthodes biologiques utilisant des organismes vivants, comme l'AOAC 959.08, et les méthodes utilisant des organismes microscopiques, comme l'AOAC 992.07.

14. Chaque méthode a été évaluée en tenant d'abord compte des Critères généraux régissant le choix des méthodes d'analyse, puis des Principes régissant l'établissement de critères numériques. L'évaluation avait pour but de dégager des preuves empiriques de l'application des deux critères approuvés par le Codex. Cette comparaison était fondée sur les informations publiées dans des revues scientifiques et sur les informations fournies par le Groupe de travail électronique.

15. Enfin, le groupe de travail électronique a recherché les critères qui pourraient être appliqués pour la confirmation des méthodes biologiques dans d'autres références internationales, afin, par la suite, de faire des recherches sur d'autres valeurs numériques indiquées dans des principes internationaux comme l'AOAC et de comparer à nouveau les informations disponibles à ces critères.

16. Les conclusions de l'examen spécifique de chacune des méthodes figurent à l'Annexe I.

⁴ CX/MAS 16/37/6.

17. D'une manière générale, on observe que les méthodes biologiques respectent certains critères du Codex, non seulement dans les cas relevant des méthodes biologiques, mais encore en ce qui concerne les méthodes chimiques qui ne satisfont pas nécessairement de façon stricte aux critères définis dans le Codex. Ces situations ont été évaluées au cas par cas et ont été classées en type II ou III.

18. Il est important de faire remarquer que lorsque de nombreuses méthodes biologiques ont été validées, les critères actuels n'étaient pas disponibles. Les informations nécessaires pour vérifier la conformité à tous les critères actuels n'existent donc pas, ou le Groupe de travail électronique n'a pas pu disposer de ces preuves.

CONCLUSION

19. Les critères de performance du Manuel de procédure ont été établis dans une optique d'approbation des méthodes chimiques. Toutefois, certains critères peuvent être appliqués pour l'adoption et le classement des méthodes biologiques.

20. Il existe des critères qui peuvent être utilisés par le Codex en vue de l'adoption et du classement des méthodes biologiques, notamment: *AOAC INTERNATIONAL Methods Committee Guidelines for Validation of Biological Threat Agent Methods and/or Procedures*, *AOAC Recommended Guidelines for Stakeholder Panel on Infant Formula and Adult Nutritionals (SPIFAN) Single-Laboratory Validation*.

21. Lors des travaux réalisés par ce Groupe de travail, il était évident que les preuves scientifiques utilisées pour appuyer l'adoption et le classement des méthodes énumérées dans la CXS 234 n'étaient pas disponibles. Lors des échanges de vues du Groupe de travail, différentes publications scientifiques ont été examinées, mais on ignore si ce sont celles dont s'est servi le Comité à l'époque ou si d'autres références ont été consultées. Le Groupe de travail invite donc le Comité à débattre de la mise en place d'une procédure qui permettrait d'assurer la sauvegarde, la protection ou le traçage des informations scientifiques qui ont servi à prendre les décisions.

22. Les méthodes figurant dans les normes internationales ont été systématiquement évaluées et comparées à la lumière de certains critères qui étaient en vigueur à l'époque de leur adoption. Il y a donc dû y avoir des preuves attestant que ces méthodes étaient appropriées compte tenu du but poursuivi.

23. Les informations consultées lors des travaux du Groupe de travail électronique nous permettent de conclure que les études interlaboratoires ou les études de validation avaient été élaborées avant l'approbation des critères actuels et que, par conséquent, elles ne peuvent être pleinement conformes à ceux-ci.

RECOMMANDATIONS

24. Si l'on tient compte du fait que les méthodes adoptées par les organes de normalisation internationale, comme l'AOAC ou l'ISO, comprennent des critères spécifiques régissant l'adoption des méthodes, le Comité devrait indiquer clairement le mécanisme ou la procédure qu'il faudrait appliquer, afin de déterminer si une méthode satisfait ou non aux critères approuvés par le Codex.

25. En ce qui concerne l'adoption des méthodes, le Comité doit indiquer clairement si ce sont les critères actuels ou les critères établis au moment de l'élaboration de la méthode qui doivent être respectés.

26. Si le Comité décide que ce sont les critères actuels qu'il faut prendre en compte pour l'approbation des méthodes, il faudrait alors réaliser une analyse critique, afin de déterminer si les méthodes acceptées actuellement respectent pleinement les critères actuels.

27. Si le Comité décide que les méthodes approuvées peuvent respecter les critères qui étaient en vigueur au moment de leur adoption, il faudrait mettre en place une procédure qui permette d'identifier précisément les critères qui étaient respectés au moment de l'adoption des méthodes.

28. Les travaux réalisés par le Groupe de travail électronique ont également permis de constater qu'on manque d'informations sur la fiabilité des méthodes et que le Comité pourrait avoir besoin de preuves scientifiques et d'indications claires qui expliquent pourquoi la décision d'adopter telle méthode et son classement a été prise. Le système figurant à l'Appendice I du présent document pourrait peut-être servir d'exemple en vue de motiver les décisions relatives à l'adoption, à la ratification et au classement des méthodes au sein du Comité.

29. Le Comité est invité à:

- examiner l'idée d'une procédure visant à assurer la sauvegarde, la protection ou le traçage des informations scientifiques permettant la prise de décision pour les nouvelles méthodes énumérées dans la CXS 234 1999;
- en ce qui concerne les méthodes biologiques, débattre de la façon de procéder: soit s'appuyer sur les critères actuels au cas par cas, soit élaborer des critères spécifiques pour les méthodes biologiques.

OBJECTIF

Utiliser les Critères généraux régissant le choix des méthodes d'analyse établis dans le Manuel de procédure et d'autres documents cités en lien avec ce dernier en ce qui concerne la validation des méthodes d'analyse pour évaluer les méthodes qui permettent de mesurer l'activité d'une substance à partir de la réponse d'organismes ou de systèmes vivants, afin de définir les critères qui ne s'appliqueraient pas et de proposer d'autres critères qui pourraient être nécessaires aux méthodes biologiques actuellement approuvées par le Codex.

DOCUMENT EXAMINÉ ET DÉBATTU PAR LE GROUPE DE TRAVAIL ÉLECTRONIQUE**A) INTRODUCTION**

Le Comité a constaté lors de ses débats que de nombreuses méthodes biologiques employées actuellement pour doser les vitamines peuvent être remplacées par des méthodes CLHP. Une liste de propositions a été envoyée, pour examen, aux comités s'occupant de produits. Certaines méthodes microbiologiques sont encore considérées comme utiles pour le dosage de la vitamine B12, des folates et de l'acide pantothenique dans les aliments. En ce qui concerne les méthodes biologiques figurant toujours dans la CXS 234, il est utile d'ouvrir un débat approfondi qui permette de clarifier la façon d'appliquer correctement les critères existants pour l'adoption des méthodes biologiques.

Lors de la réunion du Comité, certains délégués ont estimé que les critères régissant l'adoption des méthodes décrites dans le Manuel de procédure devaient être appliqués en l'état pour les méthodes biologiques. Toutefois, les conclusions de la précédente version du Groupe de travail électronique indiquaient que les paramètres et les valeurs appliqués étaient différents de ceux qui sont établis dans le Manuel de procédure.

B) DÉBAT

Les principes des méthodes biologiques et chimiques diffèrent dans la mesure où les premières sont fondées sur la réponse d'organismes vivants, alors que les secondes sont fondées exclusivement sur la réponse instrumentale, ce qui crée des divergences par rapport aux critères numériques établis par le Codex en vue de la ratification des méthodes.

Actuellement, le Comité utilise le tableau 1 pour approuver et évaluer les méthodes, en vue de leur classement et de leur approbation:

Applicabilité	La méthode doit être applicable pour la disposition concernée, le produit considéré et la ou les limites spécifiées (maximale et/ou minimale) (LM). La fourchette minimale applicable de la méthode dépend de la limite spécifiée (LM) à évaluer, et peut être exprimée par l'écart-type de reproductibilité (s_R) ou par les limites de détection (LD) et de quantification (LQ).			
Fourchette minimale applicable	Pour $LM \geq 0,1$ mg/kg, $[LM - 3 s_R, LM + 3 s_R]$ Pour $LM < 0,1$ mg/kg, $[LM - 2 s_R, LM + 2 s_R]$ s_R^{12} = écart-type de reproductibilité			
Limite de détection (LD)	Pour $LM \geq 0,1$ mg/kg, $LD \leq LM \cdot 1/10$ Pour $LM < 0,1$ mg/kg, $LD \leq LM \cdot 1/5$			
Limite de quantification (LQ)	Pour $LM \geq 0,1$ mg/kg, $LQ \leq LM \cdot 1/5$ Pour $LM < 0,1$ mg/kg, $LQ \leq LM \cdot 2/5$			
Précision	Pour $LM \geq 0,1$ mg/kg, $HorRat \leq 2$ Pour $LM < 0,1$ mg/kg, $RSD_{TR} < 22\%$ RSD_R^{13} = écart-type de reproductibilité relatif $RSD_R \leq 2 \cdot PRSD_R$			
Récupération (R):	Concentration	Rapport	Unité	Récupération (%)
	100	1	100 % (100 g/100g)	98-102
	≥ 10	10^{-1}	$\geq 10\%$ (10 g/100g)	98-102
	≥ 1	10^{-2}	$\geq 1\%$ (1 g/100g)	97-103
	$\geq 0,1$	10^{-3}	$\geq 0,1\%$ (1 mg/g)	95-103
	0,01	10^{-4}	100 mg/kg	90-107
	0,001	10^{-5}	10 mg/kg	80-110
	0,0001	10^{-6}	1 mg/kg	80-110
	0,00001	10^{-7}	100 μ g/kg	80-110
	0,000001	10^{-8}	10 μ g/kg	60-115
0,0000001	10^{-9}	1 μ g/kg	40-120	
Justesse	D'autres directives sont disponibles pour les fourchettes de récupération attendues dans des domaines d'analyse spécifiques. Dans les cas où il a été démontré que les récupérations sont une fonction de la matrice, d'autres spécifications peuvent être appliquées. Pour l'évaluation de la justesse, il est préférable d'utiliser du matériau de référence certifié.			

Comme indiqué dans les Directives sur la terminologie analytique (CXG 72-2009), la définition de la LD et de la LQ permet de prendre en compte des exceptions au cas simple qui est décrit, c'est-à-dire comportant des distributions non normales et des processus d'hétéroscédasticité (par exemple des processus de «comptage»

[Poisson] comme ceux utilisés pour la PCR en temps réel). Cette exception peut être transposée dans les méthodes fondées sur la croissance de micro-organismes qui s'appuient également sur la distribution de Poisson ou qui ne sont pas fondées sur la létalité d'une population d'organismes ou d'un individu et qui ne suivent pas nécessairement une distribution normale.

¹ **CXG 72-2009**

Étant donné les travaux du précédent groupe de travail électronique et les consensus dégagés lors de la dernière session, nous considérons qu'il est opportun d'examiner l'applicabilité des critères établis dans le manuel de procédure pour les méthodes biologiques en analysant des exemples concrets.

Il est proposé d'examiner individuellement les méthodes suivantes, en s'appuyant sur le tableau des méthodes en observation.

Aliment	Disposition	Méthode	Principe	Type
Mollusques bivalves	Toxines paralysantes des mollusques	AOAC 959.08	Essai biologique sur souris	IV
Aliments spéciaux	Acide pantothénique/	AOAC 992.07	Essai microbiologique	II

Il sera alors procédé à une analyse des critères établis dans le manuel de procédure et dans d'autres documents, afin de définir les critères qui s'appliquent aux méthodes biologiques et de déterminer les valeurs numériques que ces méthodes devraient respecter.

B.1. Méthode AOAC 959.08:

Aliment	Disposition	Méthode	Principe	Type
Mollusques bivalves	Toxines paralysantes des mollusques	AOAC 959.08	Essai biologique sur souris	IV

B.1.1. Évaluation de la conformité aux **Critères généraux régissant le choix des méthodes d'analyse**, selon la section II du Manuel de procédure: Élaboration des normes Codex et textes apparentés.

Critères généraux	Vérification	Observation
Méthodes d'analyse officielles élaborées par des organisations internationales s'occupant elles-mêmes d'une denrée alimentaire ou d'un groupe de denrées alimentaires	Conforme	Méthode d'analyse officielle
Sélectivité	Conforme	LEDOUX et HALL: JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL. 83, NO. 2, 2000.
Exactitude	Conforme	Ibidem
Précision; Répétabilité / en laboratoire (dans le même laboratoire), reproductibilité interlaboratoire (dans le même laboratoire et dans d'autres laboratoires)	Conforme	Ibidem
LQ	Conforme	Ibidem

Sensibilité	Non daté	Ibidem
Utilité pratique et applicabilité dans des conditions normales de laboratoire	Conforme	1) Ibidem VAN DE RIET ET AL.: JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL. 92, NO. 6, 2009
Utilisation habituelle	Conforme	Ibidem
Relatif au Codex	Conforme	CODEX STAN 292-2008
Application à plusieurs groupes d'aliments	Ne s'applique pas	Seulement pour les mollusques bivalves

B.1.2. Approche par critère. Établissement des valeurs numériques relatives aux critères et comparaison avec les études de validation

Paramètre	Valeurs numériques du Codex	LEDOUX et HALL: JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL. 83, NO. 2, 2000.	Observation
Applicabilité:	Analyte: Groupe des saxitoxines (STX). Disposition: Mollusques bivalves. LM: ≤0,8 milligrammes (2HCl) de STX Eq/kg		
Niveau le plus bas de la fourchette d'application:	0,42 - 1,18 mg/kg	0,524 mg/kg ⁵	Non conforme
LD:	0,08 mg/kg	Non déterminé	Non daté
LQ:	0,16 mg/kg	0,34 mg/kg dans les moules et 0,41 mg/kg dans les palourdes ⁶ 0,1692 mg/kg ⁷	Conforme
Précision:	16%	1,528 mg/kg RSDr 9,78 RSDR 13,12 334,7 mg/kg RSDr 9,83 RSDR 39,57 ⁸	Conforme
Récupération:	60 à 115% d'après le manuel de procédure (50 à 130% d'après la norme CODEX STAN 292-2008)	1,528 mg/kg 35,1% 334,7 mg/kg 46,5% ⁹	Non conforme
MRC:	Conforme aux matériaux de référence certifiés	Facteur de conversion	Conforme

⁵ LEDOUX et HALL: JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL. 83, NO. 2, 2000.

⁶ Van de Riet et al., Journal of AOAC International Vol.94 No.4 2011. p. 1154-1176.

⁷ Validation protocol for PSP and Lipophilic Toxins Biological Methods, Community reference Laboratory for Marine Biotoxins. Agencia Española de Seguridad Alimentaria, Van de Riet et al., Journal of AOAC International Vol.94 No.4 2011. p. 1154 à 1176.

⁸ LEDOUX et HALL: JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL. 83, NO. 2, 2000.

⁹ LEDOUX et HALL: JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL. 83, NO. 2, 2000.

B.1.3. Annexe I: AOAC INTERNATIONAL Methods Committee Guidelines for Validation of Biological Threat Agent Methods and/or Procedures¹⁰

	Étude collaborative	LEDOUX et HALL: JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL. 83, NO. 2, 2000.	Observation
Nombre de collaborateurs	De 8 à 12	8	Conforme
Niveaux de contamination	4	3	Non conforme
Nombre de prises d'essai	2	2	Conforme
RSDr	32	1,528 mg/kg RSDr 9,78 334,7 mg/kg RSDr 9,83	Conforme
RSDR	32	1,528 mg/kg RSDR 13,12 334,7 mg/kg RSDR 39,57	Conforme
Récupération	80 à 110% de récupération	1,528 mg/kg 35,1% 334,7 mg/kg 46,5%	Non conforme

B.1.4. Observations sur la méthode

D'après les résultats présentés dans les tableaux qui précèdent, nous pouvons affirmer que la méthode de l'essai biologique peut satisfaire aux Critères généraux régissant le choix des méthodes d'analyse, car tous les dosages proposés peuvent être effectués au moyen d'un essai biologique. D'ailleurs, la méthode comprend une étude de validation grâce à laquelle il est possible de confirmer que les critères établis sont respectés. La méthode remplit donc les conditions pour être prise en compte dans les normes du CODEX, mais, d'après le manuel de procédure, pour le classement en type II ou III, il est nécessaire d'identifier les critères et les valeurs quantitatives qui permettent le classement. L'utilisation des instructions de travail pour l'application de la démarche-critères a donc été prise en compte pour calculer les valeurs numériques relatives aux critères, grâce à l'examen des éléments disponibles. On peut en conclure que l'étude n'évalue pas les paramètres tels que la fourchette de mesure ou le seuil de détection, probablement en raison de la nature de la méthode. L'AOAC reconnaît qu'il existe une différence entre les méthodes chimiques ou instrumentales et les méthodes biologiques et indique dans ses recommandations les critères spécifiques suivants pour évaluer la performance des méthodes: RSDr, RSDR, BIAIS, ce qui suggère que le niveau le plus bas d'application, la LD et la LQ, ne sont pas nécessaires pour ce type de dosage.

Quand on compare les résultats de l'étude collaborative aux paramètres des Principes de l'AOAC, on observe que ces derniers ont été partiellement respectés au moment de l'étude et que l'article sur l'étude interlaboratoires lui-même conclut que «la récupération, dans le cadre de l'utilisation d'une matrice pour l'huître épineuse, était très bonne (> 90%) en ce qui concerne les analyses par chromatographie en phase liquide, mais les résultats fondés sur l'essai biologique pour les niveaux de PSP faible et modéré étaient insuffisants (35% et 47% respectivement). Dans l'ensemble, les résultats étaient bons, mais les auteurs ont fait remarquer qu'il fallait réviser ou clarifier plusieurs protocoles de l'AOAC et ce, malgré le fait que le rapport 2001 du Comité sur les toxines naturelles et les aliments allergisants indique que des recherches ont été effectuées. Les publications révisées sur les études comparatives montrent qu'on trouve la même tendance à la sous-quantification de la concentration de STX, à un ratio de 2X, avec la méthode de l'essai biologique.

Le manque de spécificité inhérent aux anciennes méthodes a conduit à élaborer des méthodes instrumentales plus précises. Contrairement aux méthodes biologiques, les méthodes chimiques permettent souvent de cibler des analytes spécifiques/individuels.

¹⁰ AOAC International Methods Committee. AOAC INTERNATIONAL Methods Committee guidelines for validation of biological threat agent methods and/or procedures. J AOAC Int. 2011 Jul-Aug;94(4):1359-81.

Toutefois, dans cette perspective, la limite maximale autorisée n'est pas établie individuellement pour chacune des toxines correspondant au groupe des saxitoxines, mais en unités équivalentes pour la saxitoxine. Cela signifie que, du point de vue de l'innocuité, le dosage individuel de chaque toxine n'est pas pertinent. Le critère de sélectivité pour chaque toxine ne serait donc pas nécessairement à respecter.

En résumé, on peut affirmer que la méthode AOAC 959.08 respecte les critères généraux régissant l'établissement des critères de performance et que l'on peut donc envisager son utilisation en tant que méthode de type IV. D'après le Manuel de procédure, d'autres références peuvent être utilisées pour établir les critères à respecter. Or, l'AOAC a établi des critères spécifiques de conformité aux méthodes biologiques. Il est à noter que les critères de performance établis pour les types de méthodes qui utilisent des animaux pour mesurer un risque biologique sont la LM, la précision, l'exactitude et le biais seulement, alors que les autres paramètres comme la LD, la LQ et la fourchette linéaire ne s'appliquent pas avec cette méthode, en raison de sa nature.

B.2. Méthode AOAC 992.07:

Aliment	Disposition	Méthode	Principe	Type
Aliments spéciaux	Acide pantothénique/	AOAC 992.07	Essai microbiologique	II

B.2.1. Évaluation de la conformité aux Critères généraux régissant le choix des méthodes d'analyse, selon la section II du Manuel de procédure: Élaboration des normes Codex et textes apparentés.

Critères généraux	Vérification	Observation
Méthodes d'analyse officielles élaborées par des organisations internationales s'occupant elles-mêmes d'une denrée alimentaire ou d'un groupe de denrées alimentaires	Conforme	OMA - Méthode AOAC 992.07
Sélectivité	Pas de rapport	OMA AOAC 992.07
Exactitude	Pas de rapport	OMA AOAC 992.07
Précision; Répétabilité / au laboratoire (dans le même laboratoire), reproductibilité interlaboratoires (dans le même laboratoire et dans d'autres laboratoires)	Conforme	OMA AOAC 992.07
LQ	Conforme	OMA AOAC 992.07
Sensibilité	Non daté	
Utilité pratique et applicabilité dans des conditions normales de laboratoire	Conforme	OMA AOAC 992.07
Utilisation habituelle	Conforme	OMA AOAC 992.07

Relatif au Codex	Conforme	OMA AOAC 992.07
Application à plusieurs groupes d'aliments	Ne s'applique pas	-----

B.2.2. Approche par critère. Établissement des valeurs numériques relatives aux critères et comparaison avec les études de validation

Paramètre	Valeurs numériques du CODEX	Valeurs numériques du CODEX Date de l'essai d'aptitude	AOAC 992.07
Applicabilité	En fonction de la valeur de la norme Analysé: Acide pantothénique Disposition: Préparations pour nourrissons LM: 68,2 mg/kg	Analysé: Acide pantothénique Disposition: Préparations pour nourrissons 4,80 mg/L (valeur moyenne des études interlaboratoires)	Conforme
Fourchette d'application:	60,02 à 76,38 mg/kg	Ne s'applique pas	Pas de rapport
LD:	6,82 mg/kg	Ne s'applique pas	Pas de rapport
LQ:	13,64 mg/kg	Ne s'applique pas	0,008 mg/L
Précision:	HORRRAT <= 2 RSDR= 6%	HORRRAT <= 2 RSDR= 6%	RSDr= 4,59% (conforme) RSDR=10,23% (non conforme)
Récupération:	90 à 107%	80 à 110%	Pas de rapport
MRC:	1849a	Ne s'applique pas	Pas de rapport

B.2.3. Application des critères figurant à l'annexe L: AOAC Recommended Guidelines for Stakeholder Panel on Infant Formula and Adult Nutritionals (SPIFAN) Single-Laboratory Validation.

Linéarité	6 Niveaux
LD	LD = moyenne d'un essai à blanc + 3 écarts types
LQ	LQ = moyenne d'un essai à blanc + 10 écarts types (concentration d'un essai à blanc <10% de la LQ estimée)
Spécificité:	Évaluation adéquate
Précision	SRM 1849a
Exactitude	SRM 1849a (68,2mg/kg) ou taux de récupération maximal de 50 à 150%

B.2.4. Observations sur la méthode

La méthode ne fournit pas d'informations sur la validation ou aucune information n'a été trouvée.

Il existe une étude interlaboratoires dont les résultats sont indiqués dans les méthodes, mais la publication n'est pas disponible.

Étant donné que certaines des références trouvées indiquent des critères spécifiques en fonction du type de produit, il est peut-être souhaitable que la méthode ne respecte que ces critères.

Les critères de l'AOAC et du Codex sont les mêmes, mais il convient de noter que les preuves visant à démontrer que la méthode satisfait à tous les critères établis sont insuffisantes et que le classement en type II n'est peut-être pas correct. Les chercheurs ont résumé les méthodes pour les vitamines et, dans le cas de l'acide pantothénique, ils ont conclu qu'à l'heure actuelle, il n'y a plus de méthode adéquate.

Les études de validation disponibles étant incomplètes par rapport aux critères actuels, il semble que l'on ne dispose pas d'assez d'informations claires lors du classement des méthodes.

Cette divergence dans le processus de décision au sein du Comité peut s'expliquer par un manque d'informations étayées, qui devraient être mises à disposition des membres du Comité, en vue de leur futur examen. En tout état de cause, une analyse au cas par cas peut convenir lorsqu'il s'agit de réaliser un classement correct, mais les éléments scientifiques permettant d'étayer les décisions doivent être mentionnés dans le rapport de la Commission ou, dans tous les cas, transmises lors de la réunion physique, afin que les méthodes et les plans d'échantillonnage soient approuvés. Les données scientifiques sur lesquelles peut s'appuyer la prise de décision devraient rester disponibles pour de futures révisions.

C) BIBLIOGRAPHIE

- LeDoux M, Hall S. Proficiency testing of eight French laboratories in using the AOAC mouse bioassay for paralytic shellfish poisoning: interlaboratory collaborative study. J AOAC Int. 2000 mars-avril;83(2):305-10.
- AOAC International Methods Committee. AOAC INTERNATIONAL Methods Committee guidelines for validation of biological threat agent methods and/or procedures. J AOAC Int. 2011 juillet-août;94(4):1359-81.
- Burrell et al., 2016 S. Burrell, S. Crum, B. Foley, A.D. Turner Proficiency testing of laboratories for paralytic shellfish poisoning toxins in shellfish by QUASIMEME: a review Trends Anal. Chem., 75 (2016), p. 10 à 23
- Hungerford JM. Committee on Natural Toxins and Food Allergens. Marine and freshwater toxins. J AOAC Int. 2005 janvier-février;88(1):299 à 313
- Annexe L: AOAC Recommended Guidelines for Stakeholder Panel on Infant Formula and Adult Nutritionals (SPIFAN) Single-Laboratory Validation
- Annexe K: Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación: Segunda parte.

- Directives harmonisées pour la validation des méthodes d'analyse par un seul laboratoire (rapport technique de l'UICPA) Appl. Chem., Vol. 74, No.5, p. 835 à 855. 2002.
- Measuring parallelism, linearity, and relative potency in bioassay and immunoassay data. Paul G. Gottschalk et John R. Dunn. Journal of Biopharmaceutical statistics, 15: 437 à 436, 2005.
- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Undécima Edición. México 2014.
- Guía de Validación de Métodos Analíticos. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México, A.C. Edición 2002.
- Validation of assays for use with combination vaccines. James Klein, Robert Capen, Ralph Mancinelli, Robin Robinett, Patricia J. Freda Pietrobon, Joe Quinn and Tim Schoefield. Biologicals (1999) 27, 35à 41.
- Q2B Validation of analytical procedures: Methodology. Guidance for Industry. International Conference on Harmonization. Novembre 1996.
- Bioanalytical method Validation-A revisit with a decade of progress. Vinod P. Shah et al. Pharmaceutical Research, Vol 17, No. 12, 2000.
- Validation overview of bio-analytical methods. M Tuomela, I Stanescu et K Krohn. Gene Therapy, 2005, 12, S131 à S138.
- The United States Pharmacopeial Convention, 2010, Biological Assay Validation <1033>.
- A practical approach to biological assay validation. Dutch Ministry of Housing. 2010.
- Guidance for Industry, Bioanalytical Method Validation, U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER) Center for Veterinary Medicine (CVM) septembre 2013.
- B. Magnusson et U. Örnemark (sous la direction de) Guide EURACHEM: The Fitness for Purpose of Analytical Methods A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. (2nd éd. 2014) ISBN 978-9187461-59-0.
- Directives sur la terminologie analytique (CAC/GL 72-2009)

Liste des participants au groupe de travail électronique**Coordonnateur**

Chili
Soraya Sandoval
Institute Health Public

Mexique
Cesar Gálvez
COFEPRIS

Membres

Australie
Kate Slater
Point de contact du Codex
Ministère de l'agriculture et des ressources en eau

Argentine
Gabriela Catalani
Point de contact du Codex
Ministère de l'agroindustrie

Japon
codexjapan
Autre
Ministère de la santé, du travail et de la protection sociale

Inde
Sunil Bakshi

Inde
D K Sharma
Membre
National Dairy Development Board Anand

Brésil
Ligia Lindner Schreiner

Norvège
Point de contact du Codex pour la Norvège
Point de contact du Codex
Autorité norvégienne de sécurité des aliments

Membres

Australie

Richard COGHLAN

Membre

National Measurement Institute - Australie

Australie

Karina Budd

Membre

Département de l'agriculture et des ressources en eau

Japon

Takahiro Watanabe

Observateur

Institut national des sciences de la santé

Japon

Hidetaka Kobayashi

Membre

Ministère de l'agriculture, des forêts et de la pêche

Canada

Barbara Lee

Membre

Santé Canada

Pays-Bas

Henk van der Schee

Membre

NVWA

Canada

Thea Rawn

Membre

Santé Canada

Iran

Samaneh Eghtedari

Membre

ISIRI (Institut des normes et de la recherche industrielle de la République islamique d'Iran)

Inde

Anoop A Krishnan

Membre

Export Inspection Agency- Kochi Laboratory

Membres

Pays-Bas

Yannick Weesepeol

Membre

RIKILT - Wageningen University and Research

Belgique

Paolo Caricato

Membre

Commission européenne

Colombie

Myriam Rivera Rico

INVIMA Colombia

Équateur

Víctor Hugo Almeida Arteaga

Ministère équatorien de la santé publique

Iran

Arasteh Alimardani

Novin Saffron Co.

Uruguay

Laura Flores

LATU

Chili

Acuña Natalia

Institut chilien de santé publique

République de Corée

Chaehyung Kim

Ministère de l'alimentation et de la sécurité des médicaments

France

Marie-Noelle Douaiher

Observatrice

JANSSEN PMP, une division de Janssen Pharmaceutica

Afrique du Sud

Ephraim Morku

Membre

Ministère de l'agriculture, des forêts et de la pêche

Membres

Thaïlande

Rungrassamee Mahakhaphong

Point de contact du Codex

ACFS

Mexique

Tania Daniela Fosado Soriano

Observatrice

Ministère de l'économie

Thaïlande

Chanchai Jaengsawang

Department of Medical Sciences

Inde

Dinesh Kumar Sharma

National Dairy Development Board (NDDB)

Kazakhstan

Zhanar Tolysbayeva

Ministère des services de santé

Burundi

Nikwigize Pie Claude

Bureau burundais de normalisation (BBN)