

COMISIÓN DEL CODEX ALIMENTARIUS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Organización
Mundial de la Salud

S

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia - Tel: (+39) 06 57051 - Correo electrónico: codex@fao.org - www.codexalimentarius.org

Tema 5 del programa

CX/MAS 18/39/5
Marzo de 2018

PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS COMITÉ DEL CODEX SOBRE MÉTODOS DE ANÁLISIS Y TOMA DE MUESTRAS

39.^a reunión
Budapest (Hungría)
7-11 de mayo de 2018

DOCUMENTO DE DEBATE SOBRE LOS CRITERIOS PARA LA APROBACIÓN DE MÉTODOS BIOLÓGICOS UTILIZADOS PARA DETECTAR PRODUCTOS QUÍMICOS DE INTERÉS

(Preparado por el Grupo de trabajo por medios electrónicos dirigido por Chile y México)

ANTECEDENTES

1. El Comité del Codex sobre Métodos de Análisis y Toma de Muestras (CCMAS), en su 35.^a reunión (marzo de 2014) aprobó los criterios para la determinación de sustancias análogas a las toxinas por métodos químicos en la Sección 1-8.6.1 de la *Norma para los moluscos bivalvos vivos y los moluscos bivalvos crudos* (CXS 292-2008), así como la clasificación de los métodos AOAC 959.08 (bioensayo en ratones) y AOAC 2011.27 (ensayo de unión a receptor) como Tipo IV, en la Sección 1-8.6.2 de dicha Norma¹.
2. Durante el 37.^o período de sesiones de la Comisión del Codex Alimentarius (CAC) (julio de 2014), se examinaron los proyectos de secciones 1-8.6.1 y 1-8.6.2, enmendados y aprobados por el CCMAS. Se manifestó preocupación sobre la clasificación del bioensayo en ratones como método del Tipo IV, que impediría utilizarlo para fines de control, inspección y reglamentación. Algunas delegaciones expresaron la opinión de que el CCMAS debía considerar la posibilidad de elaborar criterios para los métodos biológicos, ya que los criterios utilizados actualmente para la sección de métodos eran aplicables a los métodos químicos y llevaban a su clasificación como métodos del Tipo IV.
3. Tras haber debatido esta cuestión, la CAC devolvió la Sección 1-8.6.2 al CCMAS y le pidió que examinara la tipificación de los métodos en cuestión; alentó además al CCMAS a examinar sin demora la manera de abordar los métodos biológicos desde la perspectiva de un enfoque basado en criterios².
4. En la 36.^a reunión del CCMAS (febrero de 2015), se analizó la petición de la Comisión de revisar la tipificación de los métodos para determinar las biotoxinas marinas. Tras debatir ampliamente la cuestión sobre los tipos de métodos (químicos y biológicos) utilizados para cuantificar las toxinas marinas, el Comité acordó mantener la aprobación de los métodos de la Sección 1-8.6.2 de la *Norma para los moluscos bivalvos vivos y los moluscos bivalvos crudos* como Tipo IV y convino en que el establecimiento de criterios para los métodos biológicos debía considerarse con carácter urgente, como también recomendaba la Comisión.
5. El CCMAS estableció un Grupo de trabajo por medios electrónicos (GTe) dirigido por Chile y copresidido por Francia, con el siguiente mandato: i) clasificar los métodos biológicos según su naturaleza, principios, características, etc.; ii) determinar a qué tipo de método es aplicable el enfoque basado en criterios; iii) recomendar criterios para la aprobación de cada tipo de método biológico definido en el inciso ii). Para los fines de este GTe, se consideró que los métodos biológicos eran los métodos de análisis que utilizaban organismos o alguna de sus partes como indicadores analíticos, salvo los métodos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), los métodos enzimáticos y las pruebas de inmunoabsorción enzimática (ELISA). Además, los métodos utilizados para la evaluación de la higiene alimentaria quedaban fuera del alcance del GTe, ya que eran competencia del Comité del Codex sobre Higiene de los Alimentos (CCFH)³.

¹ REP14/MAS, párrs. 23-25.

² REP14/CAC párrs.53-60.

³ REP15/MAS, párrs. 44-59

6. En la 37.^a reunión del CCMAS (febrero de 2016), las delegaciones de Chile y Francia presentaron el documento titulado "*Discussion paper on criteria for endorsement of biological methods used to detect chemical of concern*" (Documento de debate sobre los criterios para la aprobación de métodos biológicos utilizados para detectar productos químicos de interés) y explicaron que el GTe solo había abordado el primer tema de su mandato (la clasificación de los métodos)⁴.

7. El GTe señaló que la mayor parte de los métodos biológicos clasificados en el Codex eran de Tipo II y III, con solo un método de Tipo I (el bioensayo en ratones para la determinación de la relación de eficiencia de las proteínas), en tanto que los métodos para la determinación de biotoxinas marinas eran de Tipo IV. Además, se consideró como un obstáculo el hecho de que no se hubiera revisado la lista de métodos incluidos en los *Métodos de análisis y de muestreo recomendados* (CXS 234-1999), porque ya no había disposiciones para algunos de ellos, y podían ser retirados o bien examinados por el Comité (como los métodos para la minarina y la margarina, así como el uso actual de los métodos cromatográficos para la determinación de las vitaminas).

8. Durante la reunión, se mantuvo un debate general y se apoyó la propuesta de actualizar la lista de métodos biológicos, solicitando orientación a los comités pertinentes para determinar a qué tipo de métodos serían aplicables los criterios y evitar que se establecieran criterios para métodos que podrían ser eliminados de la lista.

9. En la 38.^a reunión del CCMAS, algunos países señalaron que no era necesario proseguir el debate sobre los criterios para la aprobación de métodos biológicos, puesto que el uso de este tipo de métodos se había sustituido por el de métodos de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC). Otros países mencionaron que los métodos biológicos figuraban entre los métodos aprobados en el sistema del Codex y que podrían incluirse otros métodos; además, para el examen de la Norma CXS 234, sería necesario saber cómo aceptar esos métodos.

10. Los delegados que estaban a favor de elaborar criterios específicos para la aprobación de métodos biológicos consideraban que no podían aplicarse a estos los criterios generales. Por su parte, los que estaban en contra destacaban que los Criterios generales para la selección de métodos de análisis eran también aplicables a los métodos biológicos y, en el caso de que se necesitaran criterios numéricos, estos debían considerarse caso por caso.

11. Finalmente, el Comité acordó proseguir la labor sobre los criterios para los métodos biológicos y establecer un GTe presidido por Chile y México que trabajase con el fin de:

- Utilizar los Criterios generales para la selección de métodos de análisis incluidos en el Manual de procedimiento, así como otros documentos conexos a los que se hace referencia en el Manual de procedimiento, para la validación de métodos de análisis destinados a la evaluación de métodos en los que la base de medición de una sustancia esté determinada por la respuesta de organismos o sistemas vivos.
- Determinar qué criterios no serían aplicables y proponer otros criterios que pudieran ser necesarios para los métodos biológicos actualmente respaldados por el Codex.

DEBATE DEL GTe

12. Este GTe desempeñó sus funciones en la plataforma <http://forum.codex-alimentarius.net/>, como recomendó la Secretaría del CCMAS. En total se inscribieron en ella 34 usuarios; sin embargo, solo se recibieron comentarios de tres delegaciones (Canadá, Tailandia y Kazajstán), tal vez debido a las dificultades para utilizar la nueva plataforma. Lamentablemente, esto implica una baja representación de la opinión de los delegados interesados en esta cuestión. La lista de los participantes se incluye en el Apéndice II.

13. Se presentó un documento inicial al GTe en el que se seleccionaban dos ejemplos de métodos biológicos incluidos en la lista de la norma CX 234 en representación de los métodos biológicos que utilizan organismos vivos, como el AOAC 959.08, y de los que utilizan organismos microscópicos, como el AOAC 992.07.

14. Cada método se evaluó teniendo en cuenta, en primer lugar, los Criterios generales para la selección de métodos de análisis y, en segundo lugar, las directrices relativas al establecimiento de criterios numéricos, con el propósito de demostrar de forma práctica la aplicación de ambos criterios reconocidos por el Codex. Esta comparación se basó en la información publicada en revistas científicas y en la información proporcionada por el GTe.

⁴ CX/MAS 16/37/6.

15. Por último, el GTe buscó en otras referencias internacionales los criterios que podrían aplicarse para la aceptación de métodos biológicos, para después investigar otros valores numéricos en directrices internacionales como las de la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC), a fin de comparar una vez más la información disponible con estos criterios.
16. Las conclusiones resultantes del examen específico de cada uno de los métodos se encuentran disponibles en el Apéndice I.
17. En general, puede observarse que los métodos biológicos se ajustan a determinados criterios establecidos en el Codex, no solo en las situaciones asociadas a dichos métodos biológicos sino también a métodos químicos que no necesariamente cumplen estrictamente los criterios establecidos por el Codex. En tales situaciones, se ha realizado una evaluación caso por caso y los métodos se han clasificado como de Tipo II o Tipo III.
18. Es importante señalar que cuando se validaron muchos de los métodos biológicos los criterios actuales no estaban disponibles, por lo que no existía —o al menos el GTe no pudo contar con estos datos— información necesaria para verificar el cumplimiento de todos los criterios actuales.

CONCLUSIÓN

19. Los criterios de rendimiento establecidos en el *Manual de procedimiento* se fijaron pensando en la aprobación de métodos químicos. No obstante, algunos de ellos pueden aplicarse a la adopción y clasificación de métodos biológicos.
20. Existen criterios que pueden ser utilizados por el Codex para la adopción y clasificación de métodos biológicos. Por ejemplo, las directrices del Comité de Métodos de la AOAC INTERNATIONAL sobre la validación de métodos y/o procedimientos para agentes de amenaza biológica (AOAC INTERNATIONAL Methods Committee Guidelines for Validation of Biological Threat Agent Methods and/or Procedures) y las directrices recomendadas de la AOAC para el Panel de Actores Estratégicos sobre Preparados para Lactantes y Nutrición de Adultos relativas a la validación en un único laboratorio (AOAC Recommended Guidelines for Stakeholder Panel on Infant Formula and Adult Nutritionals (SPIFAN) Single-Laboratory Validation).
21. En la labor llevada a cabo por este Grupo de trabajo resultó evidente que las pruebas científicas utilizadas para sustentar la adopción y clasificación de los métodos enumerados en la Norma CXS 234 no estaban disponibles. Durante el debate del Grupo de trabajo, se examinaron diferentes publicaciones científicas pero se desconoce si fueron dichas publicaciones las utilizadas por el CCMAS en su momento o si se consultaron otras referencias. Por consiguiente, el Grupo de trabajo invita al CCMAS a debatir un procedimiento para almacenar, salvaguardar o rastrear la información científica utilizada para adoptar las decisiones.
22. Necesariamente, los métodos incluidos en las normas internacionales se habrán evaluado y comparado con determinados criterios que estaban en vigor en el momento de su adopción. Y sin duda habrá habido pruebas de que los métodos eran apropiados para su fin.
23. La información consultada durante los trabajos de este GTe nos permite concluir que los estudios entre laboratorios o los estudios de validación se realizaron antes de la aprobación de los criterios actuales y, por consiguiente, no cumplen dichos criterios plenamente.

RECOMENDACIONES

24. Si se considera que los métodos adoptados por órganos internacionales de normalización, como la AOAC o la Organización Internacional de Normalización (ISO), cuentan con criterios específicos para su adopción, el CCMAS deberá aclarar qué mecanismo o procedimiento debería seguirse para distinguir si un método se ajusta o no a los criterios aceptados por el Codex.
25. El CCMAS debe aclarar si, para la adopción de los métodos, es necesario que se cumplan los actuales criterios o los criterios establecidos en el momento en que el método se elaboró.
26. Si el CCMAS determina que son los actuales criterios los que deben considerarse para la aceptación de los métodos, debería llevarse a cabo un análisis crítico para evaluar si los métodos actualmente aceptados cumplen plenamente los criterios vigentes.
27. En el caso de que el CCMAS determine que los métodos aceptados pueden ajustarse a los criterios que estaban en vigor en el momento de su adopción, debería disponerse de un procedimiento que permita determinar de manera específica cuáles son los criterios que se cumplieron en el momento de la adopción de los métodos.

28. Asimismo, el ejercicio llevado a cabo por el GTe ha permitido descubrir una falta de información sobre el rendimiento de los métodos, y quizá el CCMAS necesite disponer de pruebas científicas y registros claros en los que se especifique por qué ha decidido adoptar un determinado método y su clasificación. Tal vez el sistema planteado en el Anexo I del presente documento pueda servir como ejemplo de cómo documentar las decisiones sobre la adopción, la ratificación y la tipificación de métodos en el CCMAS.

29. Se invita al Comité a que considere lo siguiente:

- Un procedimiento para guardar, proteger o hacer un seguimiento de la información científica utilizada para la adopción de decisiones relativas a los nuevos métodos enumerados en la Norma CXS 234-1999.
- En cuanto a los métodos biológicos, debatir el modo de proceder, bien utilizando los criterios actuales caso por caso o elaborando criterios específicos para los métodos biológicos.

OBJETIVO

Utilizar los “Criterios generales para la selección de métodos de análisis” incluidos en el *Manual de procedimiento*, así como otros documentos conexos a los que se hace referencia en el Manual, para la validación de métodos de análisis destinados a la evaluación de métodos en los que la potencia de una sustancia se mida por la respuesta de organismos o sistemas vivos, a fin de determinar qué criterios no se aplicarían y proponer otros criterios que pudieran ser necesarios para los métodos biológicos actualmente respaldados por el Codex.

**DOCUMENTO EXAMINADO Y DEBATIDO POR EL GRUPO DE TRABAJO POR MEDIOS
ELECTRÓNICOS**

A) INTRODUCCIÓN

Tal como se debatió en el Comité, muchos de los métodos microbiológicos utilizados actualmente para cuantificar las vitaminas pueden reemplazarse por métodos de HPLC; se envió a los comités sobre productos una lista de propuestas para su consideración. Existen todavía algunos métodos biológicos que se consideran útiles para la cuantificación de la vitamina B12, los folatos y el ácido pantoténico en los alimentos. En cuanto a los métodos biológicos que aún figuran en la lista de la Norma CXS 234, conviene mantener un debate adecuado que permita arrojar claridad sobre la correcta aplicación de los actuales criterios para la adopción de métodos biológicos.

Durante la reunión del Comité algunos delegados consideraron que para la adopción de métodos descritos en el *Manual de procedimiento* podían aplicarse los criterios de los métodos biológicos tal como se encontraban en ellos. No obstante, en las conclusiones del anterior GTe se indicaba que los parámetros y valores aplicables no eran los mismos que los establecidos en el *Manual de procedimiento*.

B) DEBATE

La diferencia entre los principios de los métodos biológicos y los de los químicos es que los primeros se basan en la respuesta de un organismo vivo, mientras que los segundos se basan exclusivamente en una respuesta instrumental. Este aspecto genera discrepancias en relación con los criterios numéricos establecidos por el Codex para la ratificación de los métodos.

Actualmente el Cuadro 1 es el que utiliza el CCMAS para la evaluación y clasificación de los métodos, así como para su aceptación:

Cuadro 1: Directrices para el establecimiento de valores numéricos para los criterios

Aplicabilidad:	El método tiene que ser aplicable a la disposición, el producto y el nivel o niveles (máximo y/o mínimo [NM]) especificados. El intervalo mínimo de aplicación del método depende del nivel especificado (NM) que se vaya a evaluar y puede expresarse ya sea como desviación estándar (SR) de la reproducibilidad que como LD y LC.			
Rango mínimo de aplicación:	Para $NM \geq 0,1$ mg/kg, [NM - 3 sR. NM + 3 sR] Para $NM < 0,1$ mg/kg, [NM - 2 sR. NM + 2 sR] sR 12 = desviación estándar de la reproducibilidad			
Límite de detección (LD):	Para $NM \geq 0,1$ mg/kg, $LD \leq NM - 1/10$ Para $NM < 0,1$ mg/kg, $LD \leq NM - 1/5$			
Límite de cuantificación (LC):	Para $NM \geq 0,1$ mg/kg, $LC \leq NM - 1/5$ Para $NM < 0,1$ mg/kg, $LC \leq NM - 2/5$			
Precisión:	Para $NM \geq 0,1$ mg/kg, valor de HorRat ≤ 2 Para $NM < 0,1$ mg/kg, la RSDTR $< 22\%$ RSDR13 = desviación estándar relativa de la reproducibilidad. RSDR ≤ 2 PRSDR			
Recuperación (R):	Concentración	Ratio	Unidad	Recuperación (%)
	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	
Veracidad	Existen otras directrices para los rangos previstos de recuperación en ámbitos específicos de análisis. En los casos en los que se haya demostrado que las recuperaciones son una función de la matriz, se pueden aplicar otros requisitos específicos. Para la evaluación de la veracidad es preferible utilizar material de referencia certificado.			

Como se indica en las *Directrices sobre la terminología analítica* (CXG 72-2009), la definición del límite de detección (LD) y del límite de cuantificación (LC) “proporciona una base para tomar en cuenta las excepciones al caso simple descrito, en presencia de distribuciones distintas de la normal y heteroescedasticidad (por ejemplo procesos de “recuento” (Poisson) como los utilizados para la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real)”. Esta excepción puede traducirse en métodos basados en el crecimiento de microorganismos que, asimismo, sigan una distribución de Poisson, o basados en la letalidad de una población de organismos o un individuo y que no cumplan necesariamente una distribución normal.

¹CXG 72-2009.

Considerando los trabajos llevados a cabo en el anterior GTe y los acuerdos de la última reunión, consideramos conveniente examinar con algunos ejemplos prácticos la aplicabilidad de los criterios establecidos en el Manual de procedimiento para los métodos biológicos.

Partiendo de los cuadros referentes a los métodos presentados en el documento CX/MAS 17/38/5, se propone el examen individual de los métodos siguientes.

Alimento	Disposición	Método	Principio	Tipo
Moluscos bivalvos	Veneno paralizante de los moluscos	AOAC 959.08	Bioensayo en ratones	IV
Alimentos especiales	Ácido pantoténico	AOAC 992.07	Ensayo microbiológico	II

Se analizarán los criterios establecidos por el *Manual de procedimiento* y otros documentos de referencia para definir qué criterios son aplicables a los métodos biológicos y establecer los valores numéricos que deberían cumplir dichos métodos.

B.1. Método AOAC 959.08:

Alimento	Disposición	Método	Principio	Tipo
Moluscos bivalvos	Veneno paralizante de los moluscos	AOAC 959.08	Bioensayo en ratones	IV

B.1.1. Evaluación del cumplimiento de los “**Criterios generales para la selección de métodos de análisis**” según el *Manual de procedimiento*, Sección II: Elaboración de normas y textos afines.

Criterios generales	Verificación	Comentario
Métodos de análisis oficiales elaborados por organizaciones internacionales para un alimento o grupo de alimentos	Cumple con el requisito	Método de análisis oficial
Selectividad	Cumple con el requisito	LEDOUX y HALL: JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL. 83, N.º 2, 2000.
Exactitud	Cumple con el requisito	Ibídem
Precisión; repetibilidad / intralaboratorio (en el mismo laboratorio), reproducibilidad interlaboratorio (en el mismo laboratorio y en otros laboratorios)	Cumple con el requisito	Ibídem
LC	Cumple con el	Ibídem

	requisito	
Sensibilidad	Sin fecha	Ibídem
Practicabilidad y aplicabilidad en condiciones normales del laboratorio	Cumple con el requisito	1) Ibídem VAN DE RIET ET AL.: JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL. 92, N.º 6, 2009
Uso habitual	Cumple con el requisito	Ibídem
Relacionado con el Codex	Cumple con el requisito	CXS 292-2008
Aplicación a varios grupos de alimentos	No aplicable	Es solo para moluscos bivalvos

B.1.2. Enfoque por criterios. Establecimiento de valores numéricos relativos a los criterios y comparación con estudios de validación

Parámetro	Valores numéricos del Codex	LEDOUX y HALL: JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL. 83, N.º 2, 2000.	Comentario
Aplicabilidad:	Analito: Grupo de las saxitoxinas (STX). Disposición: Moluscos bivalvos Nivel máximo (NM): ≤0,8 miligramos (2HCl) de STX Eq/kg		
Nivel más bajo del intervalo mínimo de aplicación:	0,42 - 1,18 mg/kg	0,524 mg/kg ⁵	No cumple con el requisito
LD:	0,08 mg/kg	Sin determinar	Sin fecha
LC:	0,16 mg/kg	0,34 mg/kg en mejillones y 0,41 mg/kg en almejas ⁶ 0,1692 mg/kg ⁷	Cumple con el requisito
Precisión:	16 %	1,528 mg/kg RSDr 9,78 RSDR 13,12 334,7 mg/kg RSDr 9,83 RSDR 39,57 ⁸	Cumple con el requisito
Recuperación:	60-115 % según el Manual de procedimiento (50-130 % según la CXS 292-2008)	1,528 mg/kg 35,1 % 334,7 mg/kg 46,5 % ⁹	No cumple con el requisito
CRM:	Conformidad con	Factor de conversión	Cumple con

⁵ LEDOUX and HALL: JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL. 83, N.º 2, 2000.

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

⁸ LEDOUX and HALL: JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL. 83, N.º 2, 2000.

⁹ LEDOUX and HALL: JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL. 83, N.º 2, 2000.

	materiales de referencia certificados		el requisito
--	---------------------------------------	--	--------------

B.1.3. Apéndice I: Directrices para la validación de métodos y/o procedimientos para la determinación de agentes de amenaza biológica del Comité de Métodos de la AOAC INTERNATIONAL¹⁰

	Estudio de colaboración en	LEDOUX y HALL: JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL VOL. 83, N.º 2, 2000.	Comentario
Número de colaboradores	De 8 a 12	8	Cumple con el requisito
Niveles de contaminación	4	3	No cumple con el requisito
Número de porciones de ensayo	2	2	Cumple con el requisito
RSDr (repetibilidad)	32	1,528 mg/kg RSDr 9,78 334,7 mg/kg RSDr 9,83	Cumple con el requisito
RSDR (reproducibilidad)	32	1,528 mg/kg RSDR 13,12 334,7 mg/kg RSDR 39,57	Cumple con el requisito
Recuperación	80-110 % Recuperación	1,528 mg/kg 35,1 % 334,7 mg/kg 46,5 %	No cumple con el requisito

B.1.4. Observaciones sobre el método

Fundándonos en los resultados presentados en los cuadros anteriores, podemos sugerir que el método de bioensayo cumple los “Criterios generales para la selección de métodos de análisis”, puesto que todas las determinaciones propuestas se pueden medir en un bioensayo; de hecho, el método cuenta con un estudio de validación por el que puede confirmarse que ha cumplido los criterios establecidos. Por lo tanto, el método reúne las condiciones adecuadas para considerarse dentro de las normas del Codex; sin embargo, según el Manual de procedimiento, para su clasificación como Tipo II o Tipo III es necesario definir criterios y valores cuantitativos que permitan la clasificación. Así pues, se consideró la posibilidad de utilizar las Instrucciones de trabajo para la aplicación del enfoque por criterios para calcular los valores numéricos relativos a los criterios mediante el examen de las pruebas disponibles. Puede concluirse que el estudio no evalúa parámetros como el intervalo de trabajo o el límite de detección, lo cual puede deberse a la naturaleza del método. La AOAC reconoce que hay una diferencia entre los métodos químicos o instrumentales y los métodos biológicos, y establece en sus directrices criterios específicos para evaluar el rendimiento de los métodos. Estos criterios son la RSDr, la RSDR y el sesgo, lo que indica que parámetros como el nivel más bajo de aplicación mínima, el LD y el LC no son necesarios para este tipo de determinación.

Si se comparan los resultados del estudio de colaboración con los parámetros de las directrices de la AOAC, se puede observar que estos se cumplían parcialmente en el momento del estudio; incluso en el propio artículo del estudio entre laboratorios se concluye que la recuperación, utilizando una matriz adicionada en el caso de las ostras, fue muy buena (> 90%) para los análisis con LC, pero los resultados basados en el bioensayo para los niveles bajos y moderados de PSP fueron malos (35% y 47%, respectivamente). Aunque en general los resultados fueron buenos, los autores observaron que era necesario revisar o aclarar algunos protocolos de la AOAC por más que el informe de 2001 del Comité

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

sobre toxinas naturales y alérgenos alimentarios dé cuenta de algunas investigaciones. Las publicaciones revisadas sobre estudios comparativos demuestran la misma tendencia de subcuantificación de la concentración de STX en una proporción de 2X por parte del método de bioensayo.

La falta inherente de especificidad en los métodos más antiguos ha tenido como resultado la elaboración de métodos más precisos basados en instrumentos. A diferencia de los métodos biológicos, los métodos químicos pueden centrarse a menudo en analitos específicos o individuales.

Sin embargo, en este sentido, el límite máximo permitido no se establece individualmente para cada una de las toxinas correspondientes al grupo de las saxitoxinas, sino en unidades equivalentes de saxitoxina. Es decir, desde el punto de vista de la inocuidad, la determinación individual de cada toxina no es pertinente. Por consiguiente, no tendría que cumplirse el requisito de selectividad para cada toxina.

En resumen, puede decirse que el método AOAC 959.08 cumple los criterios generales para el establecimiento de criterios de rendimiento y, por consiguiente, puede considerarse para su uso como método del Tipo IV. Según el *Manual de procedimiento*, pueden utilizarse otras referencias para establecer los criterios que deben cumplir los métodos. La AOAC ha establecido criterios específicos para el cumplimiento de los métodos biológicos. Cabe señalar que los criterios de rendimiento establecidos para estos tipos de métodos que utilizan animales para medir un riesgo biológico son únicamente el NM, la precisión, la exactitud y el sesgo, y que otros parámetros como LD, LC e intervalo lineal no son aplicables a la naturaleza del método.

B.2. Método AOAC 992.07:

Alimento	Disposición	Método	Principio	Tipo
Alimentos especiales	Ácido pantoténico/	AOAC 992.07	Ensayo microbiológico	II

B.2.1. Evaluación del cumplimiento de los “Criterios generales para la selección de métodos de análisis” según el *Manual de procedimiento*, Sección II: Elaboración de normas y textos afines.

Criterios generales	Verificación	Comentario
Métodos de análisis oficiales elaborados por organizaciones internacionales para un alimento o grupo de alimentos	Cumple con el requisito	Método de análisis oficial (OMA por sus siglas en inglés) AOAC 992.07
Selectividad	Sin informe	OMA AOAC 992.07
Exactitud	Sin informe	OMA AOAC 992.07
Precisión; Repetibilidad / intralaboratorio (en el mismo laboratorio), Reproducibilidad interlaboratorio (en el mismo laboratorio y en otros laboratorios)	Cumple con el requisito	OMA AOAC 992.07
LC	Cumple con el requisito	OMA AOAC 992.07
Sensibilidad	Sin fecha	

Practicabilidad y aplicabilidad en condiciones normales del laboratorio	Cumple con el requisito	OMA AOAC 992.07
Uso habitual	Cumple con el requisito	OMA AOAC 992.07
Relacionado con el Codex	Cumple con el requisito	OMA AOAC 992.07
Aplicación a varios grupos de alimentos	No aplicable	-----

B.2.2. Enfoque por criterios. Establecimiento de valores numéricos relativos a los criterios y comparación con estudios de validación

Parámetro	Valores numéricos del Codex	Valores numéricos del Codex Fecha de las pruebas de aptitud	AOAC 992.07
Aplicabilidad	Considerando el valor de la norma Analizado: Ácido pantoténico Disposición: Preparados para lactantes Nivel máximo (NM): 68,2 mg / kg	Analizado: Ácido pantoténico Disposición: Preparados para lactantes 4,80 mg / L (valor medio del estudio entre laboratorios)	Cumple con el requisito
Rango de aplicación:	60,02 - 76,38 mg/kg	No aplicable	Sin informe
LD:	6,82 mg/kg	No aplicable	Sin informe
LC:	13,64 mg/kg	No aplicable	0,008 mg/L
Precisión:	Valor de HORRAT ≤ 2 Desviación estándar relativa (repetitividad) (RSDR)= 6%	HORRAT ≤ 2 RSDR= 6 %	RSDr= 4,59% (cumple) RSDR=10,23% (no cumple)
Recuperación:	90-107%	80-110 %	Sin informe
CRM:	1849a	No aplicable	Sin informe

B.2.3. Aplicación de los criterios del Apéndice L de *AOAC Recommended Guidelines for Stakeholder Panel on Infant Formula and Adult Nutritionals (SPIFAN) Single-Laboratory Validation* (Directrices recomendadas de la AOAC para la validación interna del Panel de Actores Estratégicos sobre Preparados para Lactantes y Nutrición de Adultos [SPIFAN]).

Linealidad	6 niveles
LD	LD = media de la sustancia testigo + 3 desviaciones estándar
LC	LC = media de la sustancia testigo + 10 desviaciones estándar (la concentración de la sustancia testigo será <10% del LC estimado)
Especificidad	Evaluación adecuada
Precisión	SRM 1849a
Exactitud	SRM 1849a (68,2mg/kg) O recuperación de la adición de muestras de 50 a 150%

B.2.4. Observaciones sobre el método

El método no proporciona información de validación o no se encontró información.

Existe un estudio entre laboratorios; los resultados se presentan en los métodos, pero la publicación no está disponible.

Se encontraron referencias que indican criterios específicos para el tipo de producto, por lo que quizá sería aconsejable que el método cumpliera solo esos criterios.

Aunque los criterios del Codex y de la AOAC son los mismos, cabe señalar que no se hallaron pruebas suficientes para demostrar que el método cumple todos los criterios establecidos, por lo que su clasificación como de Tipo II puede no ser correcta; los investigadores han resumido los métodos para vitaminas y, en el caso particular del ácido pantoténico, han llegado a la conclusión de que hasta ahora no existe otro método más apropiado.

Los estudios de validación disponibles están incompletos con respecto a los criterios actuales, por lo que parece haber una falta de información clara en el momento de la tipificación de los métodos.

Esta discrepancia en la adopción de decisiones en el CCMAS puede deberse a una ausencia de información documentada; esta debería ponerse a disposición de los miembros del Comité para un examen futuro. De todos modos, un análisis caso por caso puede resultar apropiado para llevar a cabo una clasificación correcta, pero las pruebas científicas en las que se basen las decisiones deberán mencionarse en el informe de la Comisión o, en todo caso, ser facilitadas durante la reunión presencial de aprobación de los métodos y los planes de muestreo. La información científica en la que se base la adopción de decisiones debería permanecer disponible para futuras revisiones.

C BIBLIOGRAFÍA

- 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 Mar-Abr; 83(2):305-10.
- Comité de Métodos de la AOAC International. AOAC INTERNATIONAL Methods Committee guidelines for validation of biological threat agent methods and/or procedures. *J AOAC Int.* 2011 Jul-Ag; 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), pp. 10-23
- Hungerford JM. Committee on Natural Toxins and Food Allergens. Marine and freshwater toxins. *J AOAC Int.* 2005 En-Feb; 88(1):299-313.
- Appendix L: AOAC Recommended Guidelines for Stakeholder Panel on Infant Formula and Adult Nutritionals (SPIFAN) Single-Laboratory Validation.

- Appendix K: Guidelines for Dietary Supplements and Botanicals. Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación: Segunda parte.
- Harmonized Guidelines for Single Laboratory Validation of Methods of Analysis (IUPAC Technical Report). Appl. Chem., Vol. 74, N.º 5, pp. 835-855. 2002.
- Measuring parallelism, linearity, and relative potency in bioassay and immunoassay data. Paul G. Gottschalk y John R. Dunn. Journal of Biopharmaceutical statistics, 15: 437-436, 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 y Tim Schoefield. Biologicals (1999) 27, 35-41.
- Q2B Validation of analytical procedures: Methodology. Guidance for Industry. International Conference on Harmonization. Noviembre de 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 y K Krohn. Gene Therapy, 2005, 12, S131-S138.
- The United States Pharmacopeial Convention, 2010, Biological Assay Validation <1033>.
- A practical approach to biological assay validation. Ministerio de Vivienda de los Países Bajos. 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), septiembre de 2013.
- B. Magnusson y U. Örnemark (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. (2.^a ed. 2014) ISBN 978-9187461-59-0.
- *Directrices sobre la terminología analítica* (CXG 72-2009)

Lista de participantes del GTe

Coordinador

Chile
Soraya Sandoval
Institute Health Public

México
Cesar Gálvez
COFEPRIS

Miembros

Australia
Kate Slater
Codex Contact Point
Department of Agriculture and Water Resources

Argentina
Gabriela Catalani
Codex Contact Point
Agroindustry Ministry

Japón
codexjapan
Other
Ministry of Health, Labour and Welfare

India
Sunil Bakshi

India
D K Sharma
Member
National Dairy Development Board Anand

Brasil
Ligia Lindner Schreiner

Noruega
Norwegian Codex Contact Point
Codex Contact Point
Norwegian Food Safety Authority

Australia

Miembros

Richard COGHLAN

Member

National Measurement Institute - Australia

Australia

Karina Budd

Member

Department of Agriculture and Water Resources

Japón

Takahiro Watanabe

Observer

National Institute of health Sciences

Japón

Hidetaka Kobayashi

Member

Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries

Canadá

Barbara Lee

Member

Health Canada

Países Bajos

Henk van der Schee

Member

NVWA

Canadá

Thea Rawn

Member

Health Canada

Irán

Samaneh Eghtedari

Member

isiri

India

Anoop A Krishnan

Member

Export Inspection Agency-Kochi Laboratory

Países Bajos

Miembros

Yannick Weesepeel

Member

RIKILT - Wageningen University and Research

Bélgica

Paolo Caricato

Member

European Commission

Colombia

Myriam rivera rico

INVIMA Colombia

Ecuador

Víctor Hugo Almeida Arteaga

Ministerio de Salud Pública del Ecuador

Irán

Arasteh Alimardani

Novin Saffron Co.

Uruguay

Laura Flores

LATU

Chile

Acuña Natalia

Instituto de Salud Pública de Chile

República de Corea

Chaehyung Kim

Ministry of Food and Drug Safety

Francia

Marie-Noelle Douaiher

Observer

JANSSEN PMP a division of Janssen Pharamceutica

Sudáfrica

Ephraim Moruke

Member

Department of Agriculture, Forestry and Fisheries

Tailandia

Rungrassamee Mahakhaphong

Miembros

Codex Contact Point
ACFS

México
Tania Daniela fosado Soriano
Observer
Secretaría de Economía

Tailandia
Chanchai Jaengsawang
Department of Medical Sciences

India
Dinesh Kumar Sharma
National Dairy Development Board

Kazajstán
Zhanar Tolysbayeva
The Ministry of Healthcare

Burundi
Nikwigize Pie Claude
Bureau Burundais de Normalisation (BBN)