

DOCUMENTO INFORMATIVO SOBRE ENFOQUES DE CRITERIOS PARA LOS MÉTODOS QUE UTILIZAN UNA “SUMA DE COMPONENTES”

INTRODUCCIÓN

1. En el *Manual de procedimiento* de la Comisión del Codex Alimentarius se ofrecen instrucciones completas en las que se detalla de qué modo un comité del Codex puede proponer métodos de análisis apropiados para determinar el analito o elaborar un conjunto de criterios a los que deberá ajustarse el método aplicado para la determinación en cuestión. En cualquiera de los dos casos, debe señalarse el nivel máximo, el nivel mínimo, cualquier otro nivel regulado o el grado de concentración de interés especificados.

2. Cuando un comité del Codex decida que se debe elaborar un conjunto de criterios, en algunos casos el comité podría considerar más fácil recomendar un método específico y pedir al Comité sobre Métodos de Análisis y Toma de Muestras (CCMAS) que “convierta” dicho método en criterios apropiados. Posteriormente, el CCMAS examinará a efectos de ratificación dichos criterios, que, después de la ratificación, formarán parte de la norma. Los métodos se evalúan en función de las características siguientes:

- Selectividad
- Exactitud
- Precisión
- Límite de detección
- Sensibilidad
- Practicabilidad
- Aplicabilidad.

3. En el manual también se contempla el establecimiento de otros criterios según proceda, y se ofrece cierta orientación sobre la manera de elegir entre diferentes métodos.

4. Se acepta el “enfoque de criterios” como alternativa a la aprobación de un método específico (*ibidem*). Gracias al enfoque de criterios se puede establecer un conjunto de criterios (valores numéricos) que deberá cumplir un método para que sea aplicable (es decir, “apto para el uso previsto”) a una norma específica. El enfoque de criterios es aplicable a métodos plenamente validados de los tipos II y III, excepto para métodos como los de reacción en cadena de la polimerasa (RCP) y de ensayo con sustancias inmunoabsorbentes unidas a enzimas (ELISA); no se puede aplicar a métodos de Tipo I. Actualmente, el enfoque de criterios requiere información sobre la aplicabilidad, el intervalo mínimo aplicable, el límite de detección y de cuantificación, la precisión (con requisitos para la desviación típica relativa de la reproducibilidad), la recuperación y la conformidad.

5. En el *Manual de procedimiento* se describen dos enfoques para el establecimiento de criterios. El primero utiliza el límite especificado (límite máximo o mínimo) para establecer criterios numéricos relacionados con las características mencionadas anteriormente y, el segundo comporta la conversión de un método específico para establecer criterios numéricos. Si bien el método debe estar validado y ser adecuado para el analito y el producto, no existe ningún requisito específico según el cual el método deba estar aprobado antes de “convertirlo” en criterios.

6. Las Directrices para establecer valores numéricos relativos a los criterios del Manual de procedimiento se elaboraron examinando solamente las determinaciones de analitos individuales y no aquellas que comportan una suma de componentes, es decir, métodos en que se mide la concentración de un analito específico y esta determinación se compara con una especificación. Como tal, el enfoque que figura en el Manual de procedimiento puede no ser adecuado para las determinaciones que implican una suma de componentes, es decir, donde se determinan y suman analitos múltiples y esta suma se compara con una especificación.

7. En este documento informativo se facilita información a los Comités del Codex y el CCMAS acerca de una serie de cuestiones (no exhaustivas) que tal vez deseen considerar al elaborar los criterios numéricos de rendimiento de métodos para los enfoques que comporten una suma de componentes.

ANTECEDENTES

8. Hay muchas maneras en que los métodos y límites que comportan una suma de componentes pueden convertirse en criterios numéricos de rendimiento de métodos. En el Anexo A se muestran dos enfoques a título ilustrativo, pero estos no son los únicos que hay disponibles. Los enfoques adoptados deben elaborarse y decidirse caso por caso y se verán influenciados por una serie de factores, entre ellos:

- los componentes se ponderan o no por igual;
- la abundancia natural conocida de componentes (p. ej., las fumonisinas B1 y B2 se determinan conjuntamente cuando la proporción normal B1:B2 en muestras contaminadas de forma natural es de 5:2, pero el LM (límite máximo) es un valor total de B1+B2);
- los valores medidos para componentes individuales independientemente de que estén o no correlacionados. La existencia de correlación (p. ej., debido a múltiples componentes medidos en el mismo instrumento al mismo tiempo) puede tener un efecto importante en la precisión de los valores sumados resultantes en comparación con la precisión disponible cuando los componentes se miden de forma independiente;
- LM o métodos que comportan la utilización de ET o FET; o bien,
- la especificación contiene múltiples LM tanto para un analito único como para una suma de componentes.

9. No sorprende que no haya actualmente ningún mecanismo para convertir los LM que comportan una suma de componentes en criterios de rendimiento de métodos, puesto que resulta complejo. En la evaluación de métodos futuros, cuando los responsables de la elaboración de métodos tomen en consideración el enfoque de una “suma de componentes”, el cumplimiento podría resultar menos problemático para el Codex. Además, al mejorar la capacidad de la tecnología analítica podría resultar viable la identificación y cuantificación de múltiples componentes a niveles más bajos en las disposiciones sobre un producto, lo cual no había sido posible en el pasado. O bien, podrían especificarse componentes individuales como “marcadores” para el “total de los componentes”, por ejemplo, el benzo(a)pireno para los hidrocarburos aromáticos polinucleares (HAP) en el agua potable. Por tanto, para lograr el mejor resultado es probable que tengan que presentarse al mismo tiempo algunas opciones de los criterios de la “suma de componentes” aplicados por el Codex y los exámenes de sus comités en los casos en que se haya establecido una especificación de una norma sobre la base de una “suma de componentes”.

FACTORES DE EQUIVALENCIA TÓXICA

10. En el caso de ciertos productos o analitos, existen especificaciones en que las concentraciones individuales de analitos múltiples se determinan mediante un único método, las concentraciones se convierten en un “equivalente tóxico” utilizando un factor de equivalencia tóxica (FET) y la especificación es un límite basado en la suma de equivalentes. Constituye un ejemplo de este planteamiento la determinación del grupo de saxitoxinas recogida en la *Norma para los moluscos bivalvos vivos y los moluscos bivalvos crudos* (CXS 292-2008). La especificación es para la concentración de equivalentes de saxitoxina, que se determina a partir de 12 congéneres de saxitoxina, cada uno de ellos multiplicado por un FET y sumado. Los FET también se utilizan en otras determinaciones, como las de las dioxinas y los bifenilos policlorados (BPC) análogos a las dioxinas. El enfoque de criterios actual del Manual de procedimiento no se elaboró teniendo en cuenta las especificaciones que utilizan FET o una suma de equivalentes tóxicos.

RECOMENDACIONES

1. Resulta importante señalar que al elaborar un enfoque de criterios, corresponde a la autoridad competente (gobierno, comité del Codex) especificar el intervalo de las concentraciones para cada analito. La consideración de la ratio de componentes, la toxicidad y las propiedades de las matrices (productos) quedan fuera de las atribuciones del CCMAS; la responsabilidad recae en los comités del Codex para los productos o los Gobiernos de que se trate.
 2. Hay muchas formas en que los métodos y límites que comportan una suma de componentes pueden convertirse en criterios de rendimiento de métodos, pero este proceso debe realizarse con sumo cuidado por analistas que comprendan plenamente la metodología empleada y también caso por caso. El CCMAS se ofrece para asesorar a los comités del Codex si desean elaborar criterios numéricos de rendimiento de métodos para métodos o límites que impliquen una suma de componentes.
 3. Si los métodos de análisis que comportan una suma de componentes se ensayan en colaboración sobre la base de la “suma de componentes”, entonces pueden convertirse directamente en criterios.
11. Respecto a los LM que comportan el uso de ET o FET u otra potencia toxicológica, se recomienda no convertir los propios LM en criterios de rendimiento de métodos. En tales casos, el segundo enfoque detallado en el Manual de procedimiento (p. ej., la conversión de un método específico para establecer criterios numéricos) podría ser apropiado cuando puedan elaborarse criterios numéricos utilizando datos de rendimiento de métodos sin transformar (es decir, datos brutos que no se hayan convertido en FET) suponiendo que el método haya sido validado adecuadamente. Este fue el enfoque adoptado al enmendar la *Norma para los moluscos bivalvos vivos y los moluscos bivalvos crudos* (CXS 292-2008), donde se establecieron criterios de rendimiento numérico no ponderados (es decir, no se aplicaron FET) a partir de diversos métodos aprobados.
12. Para disposiciones que contienen LM tanto para componentes individuales como para una suma de componentes, puede resultar apropiada una combinación de enfoques. Por ejemplo, utilizando los enfoques establecidos en el Manual de procedimiento para componentes únicos y un enfoque de suma de los componentes para LM que comporten una suma de componentes.
13. Si los componentes incluidos en la definición de LM no están presentes en proporciones constantes y cuando la inclusión de factores de ponderación de los componentes individuales da como resultado unos valores de límite de detección y límite de detección o un intervalo mínimo aplicable que no pueda validarse, se debe utilizar el LM /n para determinar el criterio relativo al límite de detección (por ejemplo, $1/5 * LM/n$) y al límite de detección (por ejemplo, $2/5 * LM/n$) o al intervalo mínimo aplicable (por ejemplo, $LM/n \pm 2SR$), donde n es el número de componentes incluidos en la definición de LM.

ANEXO A: EJEMPLOS DE ENFOQUES**ENFOQUE 1: EL LM ES UNA SUMA DE COMPONENTES PONDERADOS POR IGUAL**

En el caso de análisis de analitos múltiples en los que todos los componentes se ponderen por igual, n es el número de componentes o analitos. Los criterios relacionados con los analitos múltiples (y los analitos individuales, $n = 1$) serían, por tanto, los presentados en el Cuadro 1.

Cuadro 1: Directrices para establecer criterios numéricos si el LM es una suma de componentes ponderados por igual.

Aplicabilidad:		El método debe ser aplicable a la disposición especificada, el producto especificado y los niveles especificados (límite máximo, mínimo o ambos, LM). El intervalo mínimo aplicable del método depende del nivel especificado (LM) que se debe evaluar y puede expresarse, bien como la desviación típica de la reproducibilidad (s_R), bien como límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC).		
Intervalo mínimo aplicable para <u>los componentes individuales</u>¹:		Respecto de un $LM/n \geq 0,1$ mg/kg, $[LM/n - 3 s_R, LM + 3 s_R]$. Respecto de un $LM/n < 0,1$ mg/kg, $[LM/n - 2 s_R, LM + 2 s_R]$. Nota: el nivel máximo es superior al LM para los componentes individuales.		
Límite de detección (LD) para <u>los componentes individuales</u>:		Respecto de un $LM/n \geq 0,1$ mg/kg, $LD \leq LM/n \cdot 1/10$. Respecto de un $LM/n < 0,1$ mg/kg, $LD \leq LM/n \cdot 1/5$.		
Límite de cuantificación (LC) para <u>los componentes individuales</u>:		Respecto de un $LM/n \geq 0,1$ mg/kg, $LC \leq LM/n \cdot 1/5$. Respecto de un $LM/n < 0,1$ mg/kg, $LC \leq LM/n \cdot 2/5$.		
Precisión para <u>los componentes individuales</u>:	Respecto de un $LM/n \geq 0,1$ mg/kg, valor de HorRat ≤ 2 . Respecto de un $LM/n < 0,1$ mg/kg, la $RSD_R < [44 \ %]$. RSD_R = desviación típica relativa de la reproducibilidad.			
Recuperación (R) para <u>componentes individuales</u>:	Concentración	Razón	Unidad	Recuperación (%)
	100	1	100 % (100 g/100 g)	98-102
	≥ 10	10^{-1}	$\geq 10 \ %$ (10 g/100 g)	98-102
	≥ 1	10^{-2}	$\geq 1 \ %$ (1 g/100 g)	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	

¹ En el caso de análisis de analitos múltiples en los que todos los componentes se ponderen por igual, n = número de componentes o analitos.

	0,0000001	10^{-9}	1 µg/kg	40-120
Conformidad:	Existen otras directrices relativas a los intervalos previstos de recuperación en áreas específicas de análisis. En casos en los que se haya demostrado que la recuperación es una función de la matriz, podrán aplicarse otros requisitos especificados. Para la evaluación de la conformidad, debería utilizarse preferiblemente material de referencia certificado.			

Ejemplo elaborado

Sustancia x, compuesta de cuatro analitos, x_1 , x_2 , x_3 y x_4 , en la matriz y.

LM (o sea, $x_1 + x_2 + x_3 + x_4$) = 20 µg/kg,

puesto que hay cuatro analitos, $n = 4$;

LM/n = 20/4 µg/kg = 5 µg/kg.

Mediante la hoja de cálculo Excel del NMKL, se establece lo siguiente:

Intervalo mínimo aplicable para <u>los componentes individuales</u>:	0,003* – 0,029** mg/kg = 3 – 29 µg/kg. * correspondiente a un LM/n = 5 µg/kg. ** correspondiente a un LM = 20 µg/kg.
Límite de detección (LD) para <u>los componentes individuales</u>:	1 µg/kg
Límite de cuantificación (LC) para <u>los componentes individuales</u>:	2 µg/kg
Precisión para <u>los componentes individuales</u>:	$RSD_R \leq 44 \%$
Recuperación (R) para los componentes individuales:	40 – 120 %

Cuestiones que se han de examinar

1. Es importante destacar que a lo largo de todo el enfoque no se modifica el propio LM real (a efectos del cumplimiento).
2. El concepto de intervalo mínimo aplicable está claro y puede aplicarse para determinar la conformidad con las especificaciones. Sin embargo, podría interpretarse erróneamente en el caso de contaminantes de los alimentos cuyos resultados analíticos se utilizan para evaluar la exposición de los consumidores a las sustancias analizadas y los riesgos que esta entraña (p. ej., micotoxinas, dioxinas, bifenilos policlorados [BPC], etc.). A tal efecto, son importantes los resultados de mediciones de concentraciones bajas, en el límite de cuantificación (LC) técnicamente viable o por encima del mismo. Esto vale especialmente para la determinación de los analitos más tóxicos de la suma.
3. Utilizando este enfoque, los límites de detección (LD) o límites de cuantificación (LC) pueden ser demasiado estrictos, especialmente cuando “ n ” es elevado (p. ej., $n \gg 5$). En tales casos, los responsables de establecer criterios numéricos de rendimiento de métodos han de examinar la manera de tener en cuenta los métodos que comportan una suma de múltiples componentes (p. ej., esteroides y HAP) aunque lo más probable es que solo estén realmente presentes algunos de ellos. En tales casos, los LD/LC estimados pueden ser demasiado estrictos a efectos prácticos y tal vez sea más apropiado adoptar un enfoque alternativo. Por ejemplo, en tales casos, podría ser apropiado establecer que n es igual al número de analitos de “interés” más bien que al número total de componentes. En su defecto; puede resultar apropiado dejar el intervalo mínimo aplicable individual, los LD/LC si ya están estipulados sin tener en cuenta el número de congéneres o componentes de la suma.

ENFOQUE 2: EI LM ES UNA SUMA DE COMPONENTES CON UNA PROPORCIÓN O ABUNDANCIA NATURAL CONOCIDA DE COMPONENTES

Respecto a los análisis de analitos múltiples con una proporción o abundancia natural conocida de componentes, f es el factor ratio. Los criterios relacionados con los analitos múltiples (y los analitos individuales, $f = 1$) serían, por tanto, los presentados en el Cuadro 2.

Cuadro 2: Directrices para el establecimiento de criterios numéricos si el LM es una suma de componentes con una proporción o abundancia natural conocida de componentes

Aplicabilidad:		El método debe ser aplicable a la disposición especificada, el producto especificado y los niveles especificados (límite máximo, mínimo o ambos, LM). El intervalo mínimo aplicable del método depende del límite especificado (LM) que se debe evaluar y puede expresarse, bien como la desviación típica de la reproducibilidad (s_R), bien como límite de detección (LD) y límite de cuantificación (LC).		
Intervalo mínimo aplicable para <u>los componentes individuales</u>:		Respecto de un LM $f \geq 0,1$ mg/kg, [LM · f - 3 s_R , LM + 3 s_R] Respecto de un LM $f < 0,1$ mg/kg, [LM · f - 2 s_R , LM + 2 s_R] s_R = desviación típica de la reproducibilidad.		
Límite de detección (LD) para <u>los componentes individuales</u>:		Respecto de un LM $f \geq 0,1$ mg/kg, LD \leq LM · f · 1/10 Respecto de un LM $f < 0,1$ mg/kg, LD \leq LM · f · 1/5		
Límite de cuantificación (LC) para <u>los componentes individuales</u>:		Respecto de un LM $f \geq 0,1$ mg/kg, LC \leq LM · f · 1/5 Respecto de un LM $f < 0,1$ mg/kg, LC \leq LM · f · 2/5		
<u>Precisión para los componentes individuales:</u>	Respecto de un LM $f \geq 0,1$ mg/kg, valor de HorRat ≤ 2 Respecto de un LM $f < 0,1$ mg/kg, la RSD _R < [44 %]. RSD _R = desviación típica relativa de la reproducibilidad.			
<u>Recuperación (R) para los componentes individuales:</u>	Concentración	Razón	Unidad	Recuperación (%)
	100	1	100 % (100 g/100 g)	98-102
	≥ 10	10 ⁻¹	≥ 10 % (10 g/100 g)	98-102
	≥ 1	10 ⁻²	≥ 1 % (1 g/100 g)	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 µg/kg	80-110
	0,000001	10 ⁻⁸	10 µg/kg	60-115
0,0000001	10 ⁻⁹	1 µg/kg	40-120	
Conformidad:	Existen otras directrices relativas a los intervalos previstos de recuperación en áreas específicas de análisis. En casos en los que se haya demostrado que la recuperación es una función de la matriz, podrán aplicarse otros requisitos			

	especificados. Para la evaluación de la conformidad, debería utilizarse preferiblemente material de referencia certificado.
--	---

Ejemplo elaborado

Sustancia x, compuesta de dos analitos, x_1 y x_2 , en la matriz y. Se sabe que los analitos x_1 y x_2 se encuentran normalmente en una proporción de 5:3 en muestras contaminadas naturalmente.

El LM = 5 000 µg/kg;

Puesto que los dos analitos se encuentran normalmente en la proporción de 5:3

$$f_1 = 5/8 = 0,625 \text{ y,}$$

$$f_2 = 3/8 = 0,375$$

Para el analito x_1

$$\text{LM} \cdot f_1 = 5\,000 \cdot 0,625 \text{ µg/kg} = 3\,125 \text{ µg/kg y}$$

Para el analito x_2

$$\text{LM} \cdot f_2 = 5\,000 \cdot 0,375 \text{ µg/kg} = 1\,875 \text{ µg/kg}$$

Mediante la hoja de cálculo Excel del NMKL², se establece lo siguiente:

Analito x_1

Intervalo mínimo aplicable para el <u>analito x_1</u>:	1,862* – 6,883** mg/kg = 1860 – 6880 µg/kg. * correspondiente a un LM $f = 3\,125 \text{ µg/kg}$ ** correspondiente a un LM = 5 000 µg/kg.
Límite de detección (LD) para el <u>analito x_1</u>:	313 µg/kg
Límite de cuantificación (LC) para el <u>analito x_1</u>:	625 µg/kg
Precisión para el analito x_1:	$\text{RSD}_R \leq 27 \%$
Recuperación (R) para el <u>Analito x_1</u>:	80 – 110 %

Analito x_2

Intervalo mínimo aplicable para el <u>analito x_2</u>:	1,056* – 6,883** mg/kg = 1 060 – 6 880 µg/kg. * correspondiente a un LM $f = 1\,875 \text{ µg/kg}$. ** correspondiente a un LM = 5 000 µg/kg.
Límite de detección (LD) para el <u>analito x_2</u>:	188 µg/kg
Límite de cuantificación (LC) para el <u>analito x_2</u>:	375 µg/kg
Precisión para el analito x_2:	$\text{RSD}_R \leq 29 \%$
Recuperación (R) para el <u>Analito x_2</u>:	80 – 110 %

² www.nmkl.org en la sección “How to get method criteria based on ML” (Cómo obtener criterios de método basados en LM, disponible solo en inglés)

Cuestiones que se han de examinar

Es importante destacar que a lo largo de todo el proceso anterior no se modifica el LM real (a efectos del cumplimiento).