

COMISIÓN DEL CODEX ALIMENTARIUS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Organización
Mundial de la Salud

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

Tema 4 del programa

CX/MAS 16/37/4
Enero de 2016

S

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

37.^a reunión

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

ELABORACIÓN DE PROCEDIMIENTOS/DIRECTRICES PARA DETERMINAR LA EQUIVALENCIA CON LOS MÉTODOS DE TIPO I

(Preparado por los Estados Unidos de América)

ANTECEDENTES

1. En su 35.^a reunión, el Comité del Codex sobre Métodos de Análisis y Toma de Muestras (CCMAS) examinó el documento titulado “*Discussion Paper on Considering Procedures for Establishing Criteria for Multi-analyte and Type I Methods*” (Documento de debate sobre la consideración de procedimientos para establecer criterios para métodos de análisis múltiples y métodos de Tipo I).
2. A raíz de tales deliberaciones, en la mencionada reunión el CCMAS acordó que no deberían elaborarse criterios numéricos para los métodos de Tipo I; no obstante, señaló que tal vez sería conveniente estudiar procedimientos para establecer una equivalencia con dichos métodos (REP14/MAS, párr. 59).
3. Basándose en esa decisión, se creó un grupo de trabajo electrónico (GTe) presidido por los Estados Unidos de América, que trabajaría en inglés, con el objetivo de preparar un documento de debate en el que se examinaran diferentes procedimientos o directrices para determinar una equivalencia con los métodos de Tipo I (REP14/MAS, párr. 61).
4. En la 36.^a reunión del CCMAS se presentó un documento de debate preparado por los Estados Unidos de América y se solicitaron observaciones al respecto.
5. El Comité se mostró de acuerdo en general en que el trabajo debía proseguirse pero con cautela, ya que la determinación de la equivalencia podía tener consecuencias no deseadas. Se propusieron una serie de recomendaciones de carácter general. Entre ellas, cabe citar las siguientes:
 - definir claramente el concepto de equivalencia entre métodos y la forma en que se aplicaría tal equivalencia a los métodos de Tipo I-IV;
 - aclarar el papel que desempeñaría un método equivalente en la resolución de controversias;
 - examinar otros procedimientos o protocolos nacionales para establecer una equivalencia.
6. Sobre la base de las deliberaciones del Comité, se convino en proseguir el trabajo en un grupo de trabajo electrónico (GTe) presidido por los Estados Unidos de América, que trabajaría en inglés. Sin embargo, debido a sus otras tareas, los Estados Unidos de América no lograron finalizar el proyecto de documento de debate a tiempo para que los participantes del GTe pudieran examinarlo. Por lo tanto, este documento de debate se presenta con objeto de que en la 37.^a reunión del CCMAS se vuelva a debatir el tema.

ALCANCE

7. La finalidad del presente documento es recomendar un enfoque estadístico para establecer la equivalencia con un método de Tipo I existente, formular recomendaciones para la obtención de resultados analíticos en relación con los distintos métodos y determinar nuevos temas para examen, debate y elaboración ulterior.
8. Estos procedimientos se elaboran para posibilitar el establecimiento de una equivalencia entre un método de Tipo I y cualquier otro método de Tipo I-IV. La determinación de una equivalencia con un método de Tipo I no comporta ningún cambio en cuanto al estado de aprobación del método equivalente, es decir, el nuevo método no queda “aprobado” por medio de la equivalencia. *[Aunque el método equivalente puede utilizarse para fines de ensayo y control, en caso de litigio se mantendría el método del Codex de Tipo I aprobado como método de definición.]*

9. Si bien el objetivo principal de los procedimientos es establecer una equivalencia con los métodos de Tipo I, también son aplicables a la determinación de una equivalencia entre dos métodos cualesquiera, independientemente del tipo al que pertenezcan (p. ej., entre el Tipo II y el Tipo III). Sin embargo, dado que existen disposiciones para el establecimiento de criterios numéricos con respecto a los métodos de Tipo II-IV, la determinación de la equivalencia entre ellos quizá no suponga una ventaja.

INTRODUCCIÓN

10. En el Manual de Procedimiento del Codex se proporciona la siguiente definición de método de Tipo I: “método que determina un valor al que puede llegarse sólo mediante la aplicación del método en cuestión y que, por definición, es el único método para establecer el valor aceptado del parámetro medido.” De acuerdo con esta definición, se espera que el método de Tipo I aprobado por el Codex produzca el valor verdadero del parámetro aplicable y sirva como criterio de referencia para determinar la conformidad de cualquier alternativa al método de Tipo I.

11. Se han establecido criterios generales para los métodos de análisis del Codex, entre ellos, el requisito de validación en varios laboratorios, o en uno solo, para confirmar que el método en cuestión es “apto para el uso previsto”. Ello supone la aplicación de un proceso riguroso para evaluar las características de rendimiento del método utilizando muestras adecuadas que definan el alcance del mismo, preferiblemente en varios laboratorios. Estos mismos principios deberían aplicarse a cualquier método que se considere equivalente a un método de Tipo I. Por otra parte, además de cumplir todos los criterios generales especificados en el Manual de Procedimiento, el método “alternativo” también debería producir resultados, para cada muestra, equivalentes a los del método de Tipo I existente. La cuestión de la equivalencia no reside únicamente en determinar si el método alternativo es apto para el uso previsto, sino también si el método alternativo propuesto produce resultados equivalentes a los del método de Tipo I aprobado.

12. Con el fin de evaluar la equivalencia de una propuesta alternativa con un método de Tipo I, será necesario analizar uno o más conjuntos de muestras utilizando ambos métodos y, posteriormente, comparar los resultados. Por esta razón, un requisito indispensable es que ambos métodos produzcan resultados para el mismo mensurando en las mismas unidades. Las muestras a las que se aplica cada método deberían ser homogéneas y abarcar todas las matrices y todos los rangos de concentraciones representativos definidos en el alcance del método alternativo. Debería analizarse un conjunto de muestras para cada matriz e intervalos de concentración necesarios a fin de demostrar la equivalencia respecto al ámbito del nuevo método. Es necesario someter cada conjunto de muestras a una prueba apropiada de equivalencia para poder considerar el método alternativo realmente equivalente.

13. Lamentablemente, se dispone de escasa orientación de organismos de reglamentación o asociaciones científicas tales como la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC) o la Organización Internacional de Normalización (ISO) sobre los procedimientos exactos para establecer la equivalencia de métodos analíticos. En los últimos años, se ha solicitado a la industria farmacéutica que establezca procedimientos para evaluar la equivalencia de métodos con arreglo a reglamentos de bioequivalencia de medicamentos administrados por vía oral. Como resultado de ello, la cuestión de la equivalencia de métodos se ha debatido a fondo en este contexto; el análisis de las opciones de procedimiento que figura a continuación se ha tomado en gran medida de un examen de esos documentos.

ENFOQUE ESTADÍSTICO

Dos ensayos *t* unilaterales (TOST)

14. Como prueba estadística recomendada para evaluar la equivalencia de dos métodos, se propone realizar un contraste estadístico de dos ensayos *t* unilaterales (TOST). Se recomienda adoptar el enfoque TOST en un ensayo *t* de dos muestras porque se considera que es más riguroso. Además, mediante el enfoque TOST se resuelven los problemas relacionados con el ensayo *t* de dos muestras al determinar el criterio de aceptación, θ . En concreto, si un método es poco preciso o se utiliza un número reducido de muestras al evaluar la equivalencia, el ensayo *t* de dos muestras puede determinar erróneamente la equivalencia entre métodos. Asimismo, el ensayo *t* de dos muestras puede llevar a la conclusión de que existe una diferencia estadísticamente significativa aun cuando dicha diferencia no tenga importancia práctica.

15. El TOST parte de la hipótesis nula, es decir, que los dos valores medios de los métodos en cuestión no son equivalentes. Mediante un contraste de significación positivo, a un determinado nivel de confianza, se demuestra luego que los dos conjuntos de datos son equivalentes. El ensayo TOST exige la especificación de un parámetro denominado criterio de aceptación, $\pm\theta$, que representa la diferencia más pequeña en los valores medios de ambos métodos considerada importante desde un punto de vista práctico. La hipótesis nula, H_0 , y la alternativa, H_a , se describen en términos de la diferencia en los promedios, $\mu_1 - \mu_2$, y θ , mediante las siguientes fórmulas:

$$H_0: \mu_1 - \mu_2 \leq \theta_L \text{ or } \mu_1 - \mu_2 \geq \theta_U$$

$$H_a: \theta_L < \mu_1 - \mu_2 < \theta_U$$

16. La hipótesis alternativa se demuestra a un determinado nivel de confianza, cuando la verdadera diferencia en los promedios entre métodos se encuentra dentro de los límites determinados por $\pm\theta$.

17. El ensayo TOST se lleva a cabo especificando o calculando en primer lugar la variable θ apropiada para los métodos y de importancia práctica.

$$\theta = \delta + s^* [t_{(1-\alpha, 2n-2)} + t_{(1-\beta, 2n-2)}] \sqrt{\frac{2}{n}} \quad 1)$$

donde δ es el valor absoluto de la diferencia real entre los valores medios de los grupos. Este valor suele fijarse en cero en la mayor parte de los enfoques conservadores. Para garantizar que se representan con precisión las mediciones reales, se utiliza el límite superior de confianza, s^* , en lugar de s y se calcula con arreglo a la siguiente fórmula:

$$s^* = s \sqrt{\frac{n-1}{\chi^2_{(\gamma, n-1)}}} \quad 2)$$

donde $\chi^2_{(\gamma, n-1)}$ es el (100γ) -ésimo percentil de la distribución con $n-1$ grados de libertad.

Una vez especificada la variable θ , el intervalo de confianza (CI) respecto a la diferencia en los promedios a un determinado nivel de confianza (normalmente del 95%) se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$CI = \bar{x}_1 - \bar{x}_2 \pm t_{90, (n_1+n_2-2)} \cdot \sqrt{s_p^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)} \quad 3)$$

donde \bar{x}_1 y \bar{x}_2 son los valores medios de cada conjunto de muestras de cada método; $t_{90, (n_1+n_2-2)}$ es el valor t con un nivel de confianza del 90 % con $n_1 + n_2 - 2$ grados de libertad; s_p es la estimación de la desviación estándar combinada para los conjuntos de muestras; n_1 y n_2 corresponden al número de muestras objeto de análisis de cada conjunto. El valor de $t_{90, (n_1+n_2-2)}$ puede encontrarse en tablas estadísticas o utilizando la función DISTR.T.INV de Excel. (Cabe señalar que el límite de confianza unilateral del 95 % es equivalente al límite de confianza bilateral del 90 %). Si CI queda completamente comprendido en el intervalo definido por $\pm\theta$, los métodos determinados por este conjunto de datos se consideran equivalentes.

18. Un inconveniente del enfoque TOST, especialmente al tratar de establecer procedimientos generales, es la necesidad de especificar o calcular el criterio de aceptación (θ) pertinente en toda comparación de métodos. Establecer un solo criterio de aceptación para todos los métodos puede resultar difícil ya que ello requiere que se determine la menor diferencia en los valores medios que resulta significativa desde el punto de vista práctico, lo que puede exigir una evaluación individual de cada método. Si bien la ecuación 1) puede utilizarse para ayudar a los analistas a determinar el parámetro θ , el hecho de delegar en los analistas la decisión de establecer el valor θ podría conducir a decisiones incorrectas en cuanto a la equivalencia. Cabe considerar asimismo que otro inconveniente del ensayo TOST es el número de muestras necesarias para obtener la potencia o la confianza adecuadas en la conclusión. El número de muestras necesarias depende de la ratio entre θ y s_p ; una ratio mayor requiere un número menor de muestras. Cuando los valores θ y s_p son similares, se necesitan entre 18 y 27 muestras para obtener un nivel adecuado de potencia respecto al ensayo de equivalencia.

RECOMENDACIONES DE ÍNDOLE ESTADÍSTICA

19. Debería utilizarse el enfoque TOST para establecer una equivalencia entre dos métodos.

20. Fijar δ en cero a menos que el analista estime que se dan determinadas condiciones para justificar un valor distinto de cero.

21. Fijar los valores α y β en 0,05, que representan un límite de confianza del 95%, a menos que se den determinadas condiciones o existan consideraciones prácticas que justifiquen un cambio.

22. El analista deberá determinar el criterio de aceptación (θ) para cada comparación de métodos, pero en el documento podría incluirse un pequeño cuadro con valores frecuentes para θ a fin de brindar orientación a la hora de establecer dicho criterio.

RECOMENDACIONES SOBRE LAS PRUEBAS ANALÍTICAS

23. Antes de realizar una comparación estadística sería necesario efectuar un análisis de múltiples conjuntos de muestras que incluyan la matriz y los niveles de concentración adecuados, que abarquen el ámbito de los métodos. Se propone efectuar un ensayo como mínimo en tres concentraciones para cada matriz pertinente, aunque sería conveniente analizar más muestras en varias concentraciones.

El primer conjunto de muestras debería hallarse en el límite de cuantificación (LC); el segundo, en el nivel mínimo o máximo (NM); el tercero, en el extremo más elevado del método analítico. Si no se hubiera establecido para el método en cuestión un determinado NM, debería elegirse una concentración baja, media y alta para cubrir el rango de concentración del método.

24. Respecto al procedimiento TOST, el número de muestras que habría de analizarse para demostrar la equivalencia varía en función de la desviación estándar y el criterio de aceptación, pero una estimación conservadora de 18 a 27 muestras para cada conjunto de datos abarcaría las situaciones en que θ es similar en magnitud a s_p . Los estudios de equivalencia deberían realizarse, en la medida de lo posible, en condiciones de reproducibilidad. Podrían llevarse a cabo en un solo laboratorio, aunque sería conveniente utilizar, en la medida de lo posible, analistas, materiales y equipo diferentes.

25. Puesto que el ensayo TOST parte del supuesto de que los dos métodos tienen la misma varianza, los resultados del contraste se utilizan para confirmar esta hipótesis mediante la prueba de la razón de varianzas (prueba F). Sería conveniente realizar esta prueba para determinar si tienen la misma varianza en cada concentración (baja, media y alta), además de tenerla en todo el intervalo.

26. La equivalencia debe probarse para cada matriz analizada porque incluso una pequeña diferencia en la matriz puede afectar de forma distinta a los resultados de los distintos métodos.

INTERROGANTES PARA EL DEBATE

27. En el presente documento se recomienda la adopción de un método estadístico para evaluar la equivalencia entre dos métodos y se formulan algunas recomendaciones de carácter general para obtener los resultados analíticos necesarios. Aunque este enfoque se ha elaborado con la finalidad de demostrar la equivalencia entre un método de Tipo I y cualquier otro método de Tipo I-IV, también podría aplicarse para establecer la equivalencia entre otros dos métodos cualesquiera, independientemente del tipo. Evidentemente, en el presente documento no se abordan los detalles específicos en lo referente a la aplicación de este enfoque ni se establece un procedimiento por etapas. Además, hay una serie de cuestiones que deberían considerarse antes de elaborar los procedimientos finales.

- i.) Si se establecen procedimientos generales para evaluar la equivalencia, ¿dónde se incluirán? ¿en el Manual de Procedimiento del Codex o en un documento de orientación o información?
- ii.) Respecto a los métodos para medir una determinada composición o característica (como el contenido de humedad), sería necesario que los dos métodos fueran equivalentes respecto a todo el rango del método. No obstante, en las disposiciones en que se establezca un nivel máximo, ¿sería aceptable determinar una equivalencia en torno a ese nivel, sin contemplar la equivalencia a un cierto valor que se halle muy por encima de dicho nivel?
- iii.) Este documento se centra principalmente en los métodos cuantitativos, pero también pueden resultar útiles los procedimientos relativos a métodos cualitativos. Considerando que tales procedimientos tendrían una estructura o planteamiento muy diferentes; ¿se incluirían en un único documento o se elaborarían documentos diferentes para los métodos cuantitativos y cualitativos?

Bibliografía

- a) Freund, J. E.; *Modern Elementary Statistics*, 7.^a ed.; Prentice-Hall: Englewood Cliffs, New Jersey, 1988; pág. 313.
- b) Zhong, J.; Lee, K.; Tsong, Y.; *J. Biopharm. Stat.* **2008**, *18*, 1005-1012.
- c) Bland, D. G.; Altman, J. M. *Lancet* **1986**, *8*, 255.
- d) Bland, D. G.; Altman, J. M.; *Stat. Methods Med. Ia Res.* **1999**, *8*, 137-160.
- e) Dewe, W.; *J. Chrom. B* **2009**, *877*, 2208-2213.
- f) Hartmann, C.; Smeyers-Verbeke, J.; Penninckx, W.; Vander Heyden, Y.; Vankeerberghen, P.; Massart, D. L. *Anal. Chem.* **1995**, *67*, 4491-4499.
- g) Schuirmann, D.; *J. Pharmaco. Biopharm.* **1987**, *15*, 657-680.
- h) Chatfield, M. J.; Borman, P. J. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 9841-9848.
- i) Borman, P. J.; Chatfield, M. J.; Damjanov, I.; Jackson, P. *Anal. Chem.* **2009**, *81*, 9849-9857.
- j) Chambers, D.; Kelly, G.; Limentani, G.; Lister, A.; Lung, K. R.; Warner, E. *Pharm. Tech.* **2005**, *29*, 64-80.
- k) Limentani, G. B.; Ringo, M. C., Ye, F.; Bergquist, M. L.; McSorley, E. O. *Anal. Chem.* **2005**, *77*, 221A-226A.