



NORMA EN 15426 PARA LA DETECCIÓN DE LAS TOXINAS PARALIZANTES DE MOLUSCO. ANÁLISIS DEL CAMBIO DEL MÉTODO DE REFERENCIA POR EL LNRBM

La Nota Técnica NT-55 de la Entidad Nacional de acreditación (ENAC) sobre *"Laboratorios de referencia en el sector agroalimentario: Política sobre participación en el sistema de acreditación"* establece la *"política en relación con el papel de los laboratorios de referencia de la UE y nacionales en el sistema de acreditación"*. En concreto en los puntos 1 y 3, de dicha política, se establece lo siguiente:

"1) ENAC considerará en todo momento como adecuadas las decisiones, prácticas y procedimientos de ensayo utilizados por los laboratorios que operan en el control oficial que sigan las instrucciones, directrices, recomendaciones o documentos publicados por el correspondiente Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) de cualquier estado miembro o el Laboratorio de Referencia de la UE (EU-RL) respectivo.

3) En caso de que se produzcan cambios en métodos de normalizados¹, ENAC aceptará como suficiente el análisis de cambios realizado por el Laboratorio de Referencia correspondiente así como las modificaciones que establezca como necesarias, siempre y cuando éste lo haga público. Por su parte, ENAC diseñará el proceso de evaluación más adecuado en función de los cambios identificados por el Laboratorio de Referencia y aplicará dicho proceso a todos los laboratorios afectados."

En base a esta política establecida por ENAC y teniendo en cuenta que el laboratorio de Biotoxinas Marinas del Intecmar es, desde septiembre de 2021, el Laboratorio Nacional de Referencia para las biotoxinas Marinas, se realiza a continuación una evaluación del cambio en el método de referencia de la UE para la detección de las toxinas paralizantes de molusco.

El Reglamento de Ejecución (UE) 2019/627 de la Comisión de 15 de marzo de 2019 establece lo siguiente, en su ANEXO V, Capítulo I:

"MÉTODO DE DETECCIÓN DE LAS TOXINAS PARALIZANTES DE MOLUSCO

A. El contenido de toxinas paralizantes de molusco (PSP) en el cuerpo entero o cualquier parte consumible por separado de los moluscos bivalvos se determinará mediante el método oficial OMA 2005.06 de la AOAC, publicado en el AOAC International Journal 88(6), 1714-1732 (método de Lawrence), el bioensayo en ratones o cualquier otro método validado reconocido internacionalmente.

B. En caso de discrepancia sobre los resultados, el método de referencia será el método oficial OMA 2005.06 de la AOAC mencionado en la parte A."

Este texto fue sustituido, en el Reglamento de Ejecución (UE) 2021/1709 de la Comisión de 23 de septiembre de 2021, por el texto siguiente:

"MÉTODO DE DETECCIÓN DE LAS TOXINAS PARALIZANTES DE MOLUSCO

A. El contenido de toxinas paralizantes de molusco (PSP) en el cuerpo entero o cualquier parte consumible por separado de los moluscos bivalvos se determinará





mediante **el método descrito en la norma EN 14526 (*)** o cualquier otro método validado reconocido internacionalmente que no implique la utilización de un animal vivo.

B. Los métodos antes mencionados deberán determinar, como mínimo, los siguientes compuestos:

- a) Las toxinas carbamato STX, NeoSTX, gonyautoxinas 1 y 4 (isómeros GTX1 y GTX4 determinados conjuntamente) y gonyautoxinas 2 y 3 (isómeros GTX2 y GTX3 determinados conjuntamente).
- b) Las toxinas N-sulfo-carbamoyl (B1), gonyautoxina-6 (B2), N-sulfocarbamoyl-gonyautoxinas 1 y 2 (isómeros C1 y C2 determinados conjuntamente), N-sulfocarbamoyl-gonyautoxinas 3 y 4 (isómeros C3 y C4 determinados conjuntamente).
- c) Las toxinas decarbamoyl dcSTX, dcNeoSTX, decarbamoylgoniautoxina-2 y -3 (isómeros determinados conjuntamente).

B.1 Se incluirán en el análisis nuevos análogos de estas toxinas que puedan descubrirse y para los que se haya establecido un factor de equivalencia de la toxicidad (TEF).

B.2 La toxicidad total se expresará en μg STX 2HCL equivalentes/kg y se calculará utilizando los TEF, tal como se recomienda en el dictamen de la EFSA o en el informe FAO/OMS más reciente, a propuesta del laboratorio europeo de referencia para las biotoxinas marinas y su red de laboratorios nacionales de referencia y previa aceptación por la Comisión Europea. Los TEF utilizados se publicarán en el sitio web del laboratorio europeo de referencia para biotoxinas marinas (**).

C. En caso de discrepancia sobre los resultados, el método de referencia será el método descrito en la norma EN 14526, tal como se menciona en la parte A.

(*) Determinación del grupo de toxinas saxitoxina en crustáceos-método HPLC con derivatización pre-columna con oxidación de peróxido o periodato.

(**) <http://www.aecosan.msssi.gob.es/en/CRLMB/web/home.html>»_____ "

Esta modificación del método de detección de las toxinas paralizantes de molusco, que entró en vigor el 14 de octubre de 2021, implica el cambio en el método de Referencia en la UE para el análisis de dichas toxinas, del método oficial OMA 2005.06 de la AOAC, publicado en el AOAC International Journal 88(6), 1714-1732 (método de Lawrence) al método descrito en la norma EN 14526.

ANÁLISIS DE CAMBIOS:

El método descrito en la norma EN 14526 es el método oficial OMA 2005.06 de la AOAC al que se le han añadido:

- Los resultados de una verificación del método mediante un test de aptitud organizado por el EURL
- Estudios de validación de toxinas cuyos estándares certificados no estaban disponibles en el primer estudio interlaboratorios: dcGTX2,3 y dcNEO





- Mención a la aplicabilidad del método para la cuantificación de GTX6 (B2) y metodología para su cuantificación
- Un método de lavado SPE-COOH alternativo, mediante SPE de intercambio catiónico débil
- Procedimiento de conversión de los resultados individuales de las toxinas a equivalentes de STX 2HCl, para el control del límite legal
- Criterio de resolución de picos para los dos productos de oxidación de dcGTX2,3 y dcSTX
- Especificación de un nº mínimo de puntos para la recta de calibrado y de un valor mínimo para su coeficiente de determinación
- Requisito de verificación de la recuperación de las toxinas con cada lote de cartuchos SPE-C18 y SPE-COOH

El cambio en el método de referencia para la detección de toxinas PSP, en virtud de las adiciones realizadas al método oficial *OMA 2005.06 de la AOAC* en la norma *EN 14526*, aporta la información necesaria para una aplicación armonizada de lo establecido en los puntos B., B.1 y B.2 del ANEXO del Reglamento de Ejecución (UE) 2021/1709 de la Comisión de 23 de septiembre de 2021 y por tanto,

1.- **No cambia la técnica analítica:** el procedimiento de extracción de las toxinas, la limpieza SPE-C18, la purificación y fraccionamiento SPE-COOH, los procedimientos de oxidación y la cromatografía son los mismos.

2.- **No requiere nuevas competencias técnicas del personal.**

3.- **Añade varios requisitos técnicos de cumplimiento, por lo que es necesario una evaluación de estos requisitos por parte del laboratorio.**

Por tanto, el Laboratorio Nacional de Referencia para las Biotoxinas Marinas considera que NO ES NECESARIO UN ESTUDIO DE VALIDACIÓN/VERIFICACIÓN para ser acreditado por el método descrito en la norma EN 14526 para un laboratorio ya acreditado para el método OMA 2005.06 de la AOAC, pero si requiere una evaluación por parte del laboratorio del cumplimiento de los requisitos técnicos de resolución de picos, coeficiente de determinación y verificación de la recuperación de las toxinas con nuevos lotes de cartuchos SPE-C18 y SPE-COOH.

