

comisión del codex alimentarius



ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES
UNIDAS PARA LA AGRICULTURA
Y LA ALIMENTACIÓN

ORGANIZACIÓN
MUNDIAL
DE LA SALUD



OFICINA CONJUNTA: Viale delle Terme di Caracalla 00100 ROMA Tel: 39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Tema 9 del programa

CX/RVDF 04/15/7

Julio de 2004

PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS

COMITÉ DEL CODEX SOBRE RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS EN LOS ALIMENTOS

S

Décima quinta reunión

Washington, DC (área metropolitana), Estados Unidos de América, del 26 al 29 de octubre de 2004

ANTEPROYECTO REVISADO DE LA PARTE II “CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA EL CONTROL DE RESIDUOS” DE LAS DIRECTRICES DEL CODEX PARA EL ESTABLECIMIENTO DE UN PROGRAMA REGLAMENTARIO PARA EL CONTROL DE RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS EN LOS ALIMENTOS

Se invita a los gobiernos y a las organizaciones internacionales que estén interesadas en presentar observaciones en el Trámite 3 sobre el anteproyecto revisado adjunto de la Parte II “Consideraciones Generales sobre los Métodos Analíticos para el Control de Residuos” de las Directrices para el Establecimiento de un Programa Reglamentario para el Control de Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos (CAC/GL 16-1993) a presentar sus observaciones **a más tardar el 15 de septiembre de 2004** y dirigirse a: U.S. Codex Office, Food Safety and Inspection Service, US Department of Agriculture, Room 4861, South Building, 14th Independence Avenue, S.W., Washington DC 20250, EE.UU. (Por fax al: +1 202 720 3157; o *de preferencia por* correo electrónico a: uscodex@usda.gov, con copia a la: Secretaría de la Comisión del Codex Alimentarius, Programa Conjunto FAO/OMS sobre Normas Alimentarias, FAO, Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Roma, Italia (Fax: +39.06.5705.4593; Correo electrónico: Codex@fao.org).

ANTECEDENTES

1. El Comité del Codex sobre Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos, en su 14^a reunión, acordó que un grupo de redacción revisaría la Parte II “Consideraciones Generales sobre Métodos Analíticos para el Control de Residuos” de las Directrices para el Establecimiento de un Programa Reglamentario para el Control de Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos (CAC/GL 16-1993) para su distribución, a fin de recabar observaciones en el Trámite 3, y someter el documento nuevamente al examen del Comité en su 15^a reunión.¹

2. Se invita a los gobiernos y a las organizaciones internacionales interesadas a presentar observaciones, como se indicó anteriormente, en el **Trámite 3** sobre el anteproyecto revisado de la Parte II “Consideraciones Generales sobre los Métodos Analíticos para el Control de Residuos” de las Directrices para el Establecimiento de un Programa Reglamentario para el Control de Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos (CAC/GL 16-1993)” el cual se encuentra adjunto a este documento.

¹ ALINORM 03/31A, párr. 105.

ANTEPROYECTO DE LA PARTE II REVISADA “CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE LOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA EL CONTROL DE RESIDUOS” DE LAS DIRECTRICES PARA EL ESTABLECIMIENTO DE UN PROGRAMA REGLAMENTARIO PARA EL CONTROL DE RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS EN LOS ALIMENTOS (CAC/GL 16-1993, PARTE II²)”

1. Los métodos analíticos utilizados para determinar el cumplimiento con los Límites máximos de residuos de medicamentos veterinarios (LMRMV) deberían ser eficaces y prácticos para la detección, cuantificación y confirmación *de todos los residuos de medicamentos veterinarios y sustancias* que también pueden ser utilizadas como medicamentos veterinarios, tales como determinados plaguicidas, *que pueden estar presentes en productos dentro de los términos de referencia de este comité del Codex. Estos métodos deberían ser aptos para el uso rutinario de las autoridades de control reglamentarias de los gobiernos miembros para los programas de evaluación de residuos.* Algunas aplicaciones para dichos métodos en un programa reglamentario incluyen el análisis de muestras de estudio seleccionadas al azar en un programa nacional para determinar el cumplimiento con los LMRMV establecidos y el análisis de muestras objetivo cuando existe una razón para sospechar el incumplimiento con los LMRMV. Otros usos pueden incluir el análisis de muestras para satisfacer un requisito comercial o los análisis utilizados para estimar la exposición del consumidor a los residuos por medio de los alimentos. Además, los métodos pueden ser requeridos para detectar residuos de sustancias prohibidas para su uso en los animales productores de alimentos o para los que no se han establecido todavía los LMRMV.

2. Puede haber algunas diferencias en los requisitos para el funcionamiento de los métodos, dependiendo del uso previsto de éstos. A pesar de que el punto central de la evaluación del funcionamiento del método se encuentra habitualmente dentro de un rango analítico relativamente estrecho abarcando una concentración objetivo para aquellas sustancias para las que se ha establecido un LMRMV, la aplicación a las estimaciones de la ingesta alimentaria puede requerir métodos con un rango analítico más amplio y con una capacidad para detectar cantidades más pequeñas de una sustancia objetivo, de lo requerido para vigilar el cumplimiento con un LMRMV. Para aquellas sustancias para las que no se ha establecido un LMRMV, el llamado “residuo cero” se convierte en una concentración objetivo más baja a medida que las capacidades de detección, tanto tecnológicas como analíticas, evolucionan. Aunque el punto central de este documento se concentra en los métodos destinados a la determinación del cumplimiento con los LMRMV, se incluye un poco de estudio y de orientación respecto a las otras aplicaciones de los métodos de residuos para los residuos de medicamentos veterinarios y sustancias afines en los alimentos.

3. *Los métodos que poseen las capacidades mencionadas anteriormente no están disponibles rutinariamente para todos los posibles compuestos de interés en todos los materiales de muestra posibles debido al extenso número de los residuos de medicamentos veterinarios potenciales que podrían encontrarse en los alimentos correspondientes a los términos de referencia del Comité del Codex sobre Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos (CCRVDF). Para optimizar la eficacia de los programas reglamentarios empleados para evaluar los residuos de medicamentos veterinarios, los programas para el control de residuos deben identificar y seleccionar para su uso la metodología de residuos que sea adecuada para asegurar el cumplimiento con los LMRMV del Codex y, según sea necesario, para tomar las acciones reglamentarias adecuadas en contra de los productos adulterados, que sean coherentes con la confiabilidad de los datos analíticos. Para ayudar a las autoridades reglamentarias en la determinación de sus necesidades analíticas relativas a los programas para el control de residuos, este documento describirá los tipos de métodos disponibles e identificará los atributos de los métodos para determinar que los métodos sean aptos para su propósito en los programas para el control de residuos destinados a llevar a cabo las misiones descritas con anterioridad.*

² El texto que se retuvo de la Parte II original se presenta en letra cursiva.

4. *Los principales atributos de los métodos analíticos utilizados en los programas para el control de residuos* dependen del uso del método y de la información prevista que éste proporcionará. Los requisitos varían dependiendo de si un método está o no destinado simplemente a detectar, a cuantificar o a confirmar la presencia de un residuo objetivo. Los métodos que proporcionan resultados cuantitativos deben funcionar con un buen control estadístico dentro de un rango analítico que comprenda al LMRMV. En tales casos, el funcionamiento del método dentro de dicho rango y la inclusión de puntos de calibración adecuados (incluido el nivel calibrado más bajo, o LCL) pueden ser más importantes que una caracterización de un límite de detección (LD) o de un límite de cuantificación (LOQ). Para los métodos aplicados en estudios para evaluar la ingesta diaria de un residuo seleccionado, la capacidad del método para medir con exactitud concentraciones dentro de órdenes de magnitud menores al LMRMV puede ser importante, de manera que el límite de cuantificación y la linealidad de la respuesta a lo largo de un rango analítico extenso se convierten en las consideraciones primordiales.

5. *Hay algunos métodos para los que se requiere un análisis adicional como apoyo para las acciones reglamentarias. Esta categoría puede incluir métodos que no proporcionen información adecuada de la estructura o la concentración del residuo. Sin embargo, estos métodos pueden ser útiles para evaluaciones de selección de sustancias en una concentración mínima determinada, a fin de identificar productos que podrían contener residuos que se encuentran fuera de cumplimiento con los LMRMV. Los resultados obtenidos utilizando tales métodos deberían ser considerados solamente como estimaciones de la concentración del analito o identificación sin información analítica de respaldo adicional. Los resultados de estos métodos pueden ser útiles para reunir información sobre residuos, tal como la determinación de si existe o no un problema de residuos de medicamentos veterinarios en una población de muestreo, y la determinación de si hay o no una necesidad de aplicar un método más definitivo a muestras en particular. Estos métodos no deberían ser utilizados por sí solos para fines de control de residuos en muestras oficiales sin contar con información adicional (p. ej., tal como la presencia de un punto de inyección en la muestra) y sin la disponibilidad de métodos determinativos y/o métodos de confirmación debidamente validados para ser aplicados a toda muestra identificada como posiblemente fuera de cumplimiento con un LMRMV.*

6. Algunos métodos pueden ser aplicados en programas reglamentarios de control para la detección de residuos de sustancias para las que la Comisión del Codex Alimentarius no ha establecido LMRMV debido a que la toxicología de un analito no permite la determinación de una IDA o un LMRMV. Los métodos para analitos tales como el cloranfenicol se encontrarían en esta categoría. Para dichas sustancias, la determinación de la concentración más baja en la que se puede detectar el residuo así como confirmar la identidad del mismo en un alimento, es una preocupación primordial sobre el método de validación. Las características de funcionamiento relacionadas con los análisis cuantitativos pueden ser menos críticas para tales sustancias, donde la detección y la confirmación de la presencia de la sustancia como un residuo, constituyen la cuestión más importante. La confirmación de la identidad de un residuo está basada en la comparación de un grupo de características de una sustancia detectada con aquellas de un estándar conocido del residuo bajo estudio.

7. *Los atributos de funcionamiento, o características, que deben ser determinadas durante la validación del método para cada tipo de método - evaluación para selección, método determinativo, método de confirmación - se presentan en una sección ulterior de este documento.*

CONSIDERACIONES PARA LA SELECCIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

8. Varios tipos de métodos están disponibles para las agencias y los programas de inocuidad alimentaria para realizar análisis que *puedan ser coherentes con sus requisitos*. Las decisiones sobre el uso de un método analítico específico *deberían estar basadas* en los objetivos previstos del programa reglamentario y en las características analíticas de funcionamiento *resultantes requeridas* de los métodos *seleccionados*. Los métodos que son aptos para la determinación del cumplimiento con los LMRMV son

aquellos que *han sido validos con éxito para el análisis de combinaciones específicas de residuos de medicamentos veterinarios, tejidos y especies*. Estos métodos proporcionan resultados analíticos para la cuantificación o bien la confirmación de que son adecuados para *respaldar* las acciones reglamentarias sin la necesidad de realizar análisis adicionales. En algunos casos, estos métodos pueden ser considerados métodos de referencia, pero los métodos de referencia *no son* frecuentemente *aquellos seleccionados para el uso rutinario*.

9. Relativamente pocos de los *métodos analíticos que actualmente están siendo utilizados en programas de control de residuos han completado con éxito un estudio interlaboratorios (realizado entre varios laboratorios)*. Los estudios interlaboratorios sobre el funcionamiento de métodos generalmente *satisfacen los requisitos analíticos para su uso en un programa reglamentario*, debido a que por medio de estos estudios se obtiene valiosa información sobre el funcionamiento de métodos en las manos de diferentes analistas en diferentes laboratorios. Los métodos validados mediante un estudio interlaboratorios son sometidos a un estudio debidamente diseñado, el cual es realizado por analistas en laboratorios independientes de manera que los participantes utilicen distintas fuentes de reactivos, medios cromatográficos y equipo. *Los métodos sometidos a estudios de colaboración realizados antes de 1995 han completado con éxito la evaluación de métodos con un mínimo de seis laboratorios en un estudio con un diseño estadísticamente aceptable*. Métodos cuantitativos sometidos a estudios de colaboración, conforme al protocolo armonizado revisado adoptado en 1995, han sido evaluados en un mínimo de 8 laboratorios, a menos que se haya identificado la necesidad de equipo altamente complejo o de otros requisitos poco usuales (en tales casos, se requiere un mínimo de 5 laboratorios participantes). Para los estudios de colaboración de métodos cualitativos actualmente se requiere un mínimo de 10 laboratorios participantes.

10. Los estudios interlaboratorios de métodos, así como los estudios de colaboración, por lo general no abarcan todas las combinaciones posibles de residuos, tejidos y especies a las que el método podría ser posteriormente aplicado. Estos *métodos pueden ser extendidos para cubrir analitos afines, tejidos adicionales, productos de las especies o combinaciones de éstos, que no fueron incluidos en el estudio interlaboratorios original, al completar estudios adicionales de laboratorio intralaboratorio (dentro de un laboratorio individual) debidamente diseñados*. Tomando como base cada caso individual, los resultados analíticos de estudios de extensión de métodos *podrían requerir análisis adicionales y/o revisión antes de usarlos en un programa reglamentario*. Siempre que sea posible, los resultados analíticos obtenidos mediante el uso de *métodos que no han sido validados por medio de estudios tradicionales realizados entre varios laboratorios deberían ser correlacionados y comparados con los resultados obtenidos empleando un método que ha sido validado por medio de un estudio de colaboración o un estudio interlaboratorios*. La comparación debería ser basada en *un diseño de estudio estadísticamente aceptable, utilizando porciones de las mismas muestras (homogéneas)*. Los datos de tales estudios *deberían ser revisados independientemente por un tercero calificado (tal como una unidad de Garantía de calidad, colegas pertenecientes a un grupo de científicos reglamentarios, auditores de un órgano de acreditación nacional) para determinar la comparabilidad del funcionamiento del método*.

11. *Algunos métodos para el control de residuos, en los que se ha demostrado su utilidad en la determinación del cumplimiento con los LMRMV, tienen un origen histórico*. Estos métodos con una historia de uso *fueron considerados a ser los mejores métodos disponibles en el momento del uso reglamentario inicial y han continuado a estar en uso a lo largo de un extenso período de tiempo en la ausencia de métodos alternativos validados*, o bien, porque continúan siendo la elección preferida por razones que pueden incluir tales consideraciones como: tecnología fácilmente disponible, costo, confiabilidad e idoneidad para su uso dentro de las limitaciones de un programa nacional. Aunque se carece de pruebas producidas por un estudio de colaboración oficial del método o por un estudio interlaboratorios, el rendimiento o funcionamiento del método ha sido demostrado por medio de su uso exitoso en varios laboratorios con el paso del tiempo.

12. La mayoría de los laboratorios reglamentarios deben depender del uso de *métodos para residuos de medicamentos veterinarios que no han sido sometidos a un estudio interlaboratorios*. Los factores que han

contribuido a esta situación incluyen un *requisito de experiencia o equipo especializado*, el costo de tales estudios, la carencia de laboratorios adecuados para participar en la colaboración, la inestabilidad del analito, la muestra, o ambos, y las tecnologías que cambian con mucha rapidez. A pesar de que por muchos años el punto de atención en la equivalencia de los resultados analíticos estaba basado en el uso de métodos estandarizados que tenían características de funcionamiento definidas basadas en estudios de colaboración, hoy en día los laboratorios acreditados operan en un entorno donde es la responsabilidad del laboratorio individual el demostrar que los métodos utilizados y los resultados analíticos producidos cumplen con los criterios de funcionamiento establecidos en colaboración con el cliente.

13. La Comisión del Codex Alimentarius ha proporcionado orientación para los laboratorios que participan en la evaluación de importación /exportación de alimentos³. Esta orientación incluye las recomendaciones de que dichos laboratorios deberían:

- utilizar procedimientos internos de control de calidad que cumplan con las Directrices armonizadas para el control de calidad interno en la química analítica (*Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry*)⁴;
- participar en programas de pruebas de competencia diseñados y llevados a cabo en conformidad con el Protocolo armonizado internacional para pruebas de competencia de laboratorios analíticos (químicos) [*International Harmonized Protocol for Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories*]⁵;
- convertirse en laboratorios acreditados según la Guía 25 ISO/IEC: Requisitos generales para la competencia de laboratorios de calibración y pruebas (*General requirements for the competence of calibration and testing laboratories*)^{6,7}; y
- siempre que estén disponibles, utilizar métodos que han sido validados de conformidad con los principios establecidos por la Comisión del Codex Alimentarius.

14. Para los laboratorios reglamentarios que participan en el análisis de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos, los requisitos típicos incluirían que los métodos sean capaces de detectar los compuestos incluidos en el programa de control para residuos en los productos alimenticios determinados, con recuperación analítica y precisión que cumplan con los criterios declarados en otra parte de este documento, y que los métodos sean utilizados dentro de un sistema establecido de garantía de calidad de laboratorio, que sea coherente con los principios expresados en el documento sobre el control de calidad interno al que se hizo referencia anteriormente. Cuando en un programa para el control de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos se utilizan métodos que no han sido sometidos a un estudio interlaboratorios de funcionamiento, *los procedimientos de control de calidad y de garantía de calidad aplicados con estos métodos* requieren una definición, implementación y vigilancia detenidas. En el caso de métodos que han sido sometidos a estudios interlaboratorios, las características de funcionamiento, tales

³ CAC/GL 27-1997. *Guidelines for the Assessment of the Competence of Testing Laboratories Involved in the Import and Export Control of Food* (Directrices para la evaluación de competencia de los laboratorios de pruebas que participan en el control de la importación y exportación de alimentos).

⁴ Thompson, M. and Wood, R. 1995. *Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories* (Directrices armonizadas para el control de calidad interno en laboratorios de química analítica). *Pure & Appl. Chem.* 67: 649-666.

⁵ Thompson, M. and Wood, R. 1993. *International Harmonized Protocol for Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories* (Protocolo armonizado internacional para pruebas de competencia de laboratorios analíticos (químicos)). *Pure & Appl. Chem.* 65: 2132-2144.

⁶ ISO/IEC. 1990. *ISO Guide 25: General requirements for the competence of calibration and testing laboratories* (Requisitos generales para la competencia de laboratorios de calibración y pruebas). International Organization for Standardization, Geneva.

⁷ La Guía ISO/IEC 25 ha sido remplazada con ISO/IEC-17025: *General requirements for the competence of calibration and testing laboratories* (Requisitos generales para la competencia de laboratorios de calibración y pruebas). International Organization for Standardization, Geneva (1999).

como la recuperación y la precisión, son definidas mediante los resultados obtenidos durante el estudio. Para un método validado con un estudio intralaboratorio, se deben generar datos para definir las características de funcionamiento previstas para el método cuando éste se utilice por analistas dentro de ese laboratorio y, después, el funcionamiento continuo debe ser vigilado por medio del sistema de calidad establecido en el laboratorio.

15. La Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) publicó, como un informe técnico, un documento de orientación sobre la validación de métodos mediante estudios intralaboratorio, las “Directrices armonizadas para la validación de métodos de análisis realizada por un solo laboratorio [*Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods of Analysis*]”⁸. El Comité del Codex sobre Métodos de Análisis y Toma de Muestras (CCMAS) también ha considerado requisitos para el uso de la validación de métodos por un solo laboratorios, para los efectos del Codex⁹. Se ha propuesto la adición de las siguientes condiciones al Manual de procedimiento para establecer “criterios para casos donde los métodos validados mediante estudios intralaboratorio puedan ser utilizados:

- a) No hay un método que haya sido validado mediante un estudio interlaboratorios que sea adecuado.
- b) Los métodos validados por un solo laboratorio deben satisfacer los siguientes criterios:
 - i) el método es validado en conformidad con un protocolo internacionalmente reconocido (por ejemplo, el antedicho protocolo de la IUPAC);
 - ii) el uso del método está incluido en un sistema de garantía de calidad que se encuentra bajo acreditación;
 - iii) cuando está disponible, se presenta referencia externa mediante una participación sistemática en programas de competencia, mediante la calibración en la que se utilizan materiales de referencia y mediante la comparación de los resultados con aquellos obtenidos utilizando otros métodos”.

CONSIDERACIONES SOBRE LA ELABORACIÓN DEL MÉTODO

16. *Para elaborar un método analítico se requieren analistas con experiencia en las técnicas analíticas a ser utilizadas, así como también espacio de laboratorio, equipo y apoyo financiero. Para optimizar el beneficio de estos recursos, es importante proporcionar información introductoria y antecedentes para establecer una perspectiva para la planeación de un proyecto de elaboración de un método analítico y para la evaluación del funcionamiento del método analítico. Los programas para el control de residuos utilizan metodología adecuada para los analitos de interés a fin de asegurar un suministro inocuo y saludable de alimentos. Se deberían tomar acciones necesarias y adecuadas en contra de los productos adulterados, que sean coherentes con la confiabilidad de los datos analíticos. Antes de iniciar las actividades de la elaboración del método, se deberían determinar el uso previsto y la necesidad de un método en un programa para el control de residuos, incluidos los parámetros de funcionamiento requeridos. Otras consideraciones incluyen el ámbito de aplicación requerido del método (compuesto o clase de compuestos de interés y tipos de materiales de muestra), las sustancias que posiblemente puedan causar interferencia, los posibles sistemas de medición y sus propiedades, las propiedades físicas y químicas pertinentes que puedan influir en el funcionamiento del método, la especificidad deseada para el sistema de pruebas y cómo será ésta determinada, datos sobre la estabilidad del analito y el reactivo y la pureza de los reactivos, las condiciones de operación aceptables para cumplir con los factores de funcionamiento del método, las directrices para la preparación de la muestra, los factores ambientales que pudieran influir en el funcionamiento del método, cuestiones de seguridad y cualquier otra información específica pertinente a las necesidades del programa.*

⁸ Thompson, M., Ellison, S.L.R. & Wood, R. (2002) *Harmonized Guidelines for Single-Laboratory Validation of Methods of Analysis* (Directrices armonizadas para la validación de métodos de análisis por un solo laboratorio). *Pure & Appl. Chem.* 74: 835-852.

⁹ CX/MAS 02/11.

En particular, se debería evaluar la estabilidad del analito de los estándares y durante el procesamiento de las muestras. La estabilidad del analito durante las condiciones típicas del almacenamiento de las muestras antes del análisis también debería ser determinada, incluido cualquier período durante el que una muestra pueda ser retenida en espera de un posible reanálisis para efectos de confirmación.

CARACTERÍSTICAS ANALÍTICAS DE FUNCIONAMIENTO

17. La capacidad de un método analítico para detectar y discriminar la respuesta de la señal de un compuesto en la presencia de otros compuestos, que pudieran estar presentes en el material de muestra, es de particular importancia en la definición de las características de funcionamiento de los métodos utilizados en los programas reglamentarios para el control de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. Hay dos aspectos que deben ser considerados; la capacidad del método de proveer una respuesta de la señal que esté exenta de interferencias de otros compuestos que pudieran estar presentes en una muestra o extracto de muestra, y la capacidad del método de identificar sin lugar a dudas la respuesta de una señal como una respuesta exclusivamente relacionada con un compuesto específico. Estos dos atributos afines, de un método analítico, son habitualmente conocidos como la selectividad y la especificidad del método, respectivamente.

18. En el Manual de procedimiento, la especificidad se define como “la propiedad de un método de responder exclusivamente a la característica o al analito definido en la norma del Codex”. Para un método analítico utilizado para respaldar los LMRMV en un programa reglamentario, *la especificidad se considera como la capacidad de un método de distinguir entre el analito de interés y otras sustancias que pudieran estar presentes en la muestra de prueba. Un método de confirmación para el control de residuos debe tener la capacidad de proveer la identificación inequívoca del compuesto que está siendo medido. La capacidad de diferenciar cuantitativamente el analito de productos homólogos, análogos o metabólicos bajo las condiciones experimentales empleadas es una consideración importante de la especificidad.* El CCMAS ha propuesto que el término "selectividad", definido como “la medida en la que un método puede determinar analitos específicos en mezclas o matrices sin interferencias de otros componentes”, es “el término recomendado en la química analítica para expresar la medida en la que un método en particular puede determinar analitos en la presencia de las interferencias de otros componentes”¹⁰. Esta propiedad debería ser determinada mediante el análisis de muestras de control de materiales conocidos. No se deberían detectar sustancias que causan interferencia cuando el método se aplica a materiales típicos de la muestra que son representativos de aquellos materiales que serían presentados para análisis. El método debería ser capaz de discriminar al analito en la presencia de sustancias que posiblemente causen interferencia (selectividad), tales como otros medicamentos de los que se podría anticipar su presencia como residuos en muestras típicas de campo.

19. Información sobre la especificidad y la selectividad asociadas con el análisis de un residuo de medicamento veterinario particular, presente en una muestra, puede ser obtenida con la ayuda de varias fuentes entre las que se encuentran¹¹:

- i) datos de la química utilizada en la extracción y el procedimiento de limpieza;
- ii) datos de la cromatografía ulterior;
- iii) datos de la espectroscopía o electroquímica de detección;
- iv) datos de los reactivos de control;
- v) datos de las muestras de control;

¹⁰ CX/MAS 02/5

¹¹ Stephany, R.W. (2003). *SPECLOG – The Specificity Log* (El registro de especificidad). CRD-9, Comité del Codex sobre Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos, 14^a reunión, celebrada en Arlington, VA., EE.UU., del 4 al 7 de marzo.

- vi) datos de los estudios bibliográficos para encontrar posibles interferencias o productos equivalentes;
- vii) una evaluación crítica de los datos disponibles y de la interpretación posterior respecto a por qué las posibles interferencias no deberían interferir en la práctica;
- viii) información disponible sobre la disponibilidad y los usos potenciales de un compuesto en particular; y
- ix) otros datos de interés o importancia, tales como los correspondientes al muestreo y a los antecedentes de transporte /almacenamiento.

20. La información anterior puede ser capturada en un documento de registro estructurado de toda la información que conduce a la conclusión de que un método ha detectado un compuesto particular en una muestra, en una concentración medida como se informó. A pesar de que no hay una sola medición o análisis que pueda proporcionar la prueba inequívoca de la identidad de un compuesto y/o la cantidad presente que es deseada, la información combinada que ha sido reunida proporciona pruebas de que el analista ha realizado un esfuerzo serio para llegar a un resultado lógico y coherente con los datos y otra información disponible.

21. La "precisión" se define en el Manual de procedimiento como "el grado de concordancia entre los resultados independientes de una prueba obtenidos en condiciones establecidas". Ésta puede ser expresada en términos de repetibilidad (pruebas realizadas dentro de un solo laboratorio) y de reproducibilidad (pruebas realizadas entre varios laboratorios). Para la validación de métodos de un solo laboratorio, la precisión, expresada como repetibilidad, debería ser determinada a partir de experimentos realizados en días diferentes, utilizando lotes de reactivos diferentes y, de preferencia, realizados por analistas diferentes. La precisión, expresada como reproducibilidad, requiere un estudio interlaboratorios del método. *La precisión de un método, por lo general, se expresa como una desviación estándar. Otro término útil es la desviación estándar relativa, o coeficiente de variación (la desviación estándar, dividida entre el valor absoluto de la media aritmética). Puede ser informada como un porcentaje al multiplicar la magnitud por cien.*

22. *La variabilidad del método lograda en el laboratorio que lo elaboró, después de adquirir considerable experiencia con un método, es habitualmente menor que la variabilidad lograda por otros laboratorios que también podrían utilizar el método después. Si un método no puede lograr un nivel adecuado de funcionamiento en el laboratorio que lo elaboró, no se puede esperar que este método funcione mejor en otros laboratorios.*

23. La exactitud, algunas veces identificada como "conformidad" o "sesgo", se define en el Manual de procedimiento como "el grado de concordancia entre el resultado informado y el valor de referencia aceptado". El Manual de procedimiento también define la "conformidad" como "el grado de concordancia entre el valor medio obtenido de una serie de resultados de pruebas y un valor de referencia aceptado" y el "sesgo" como "la diferencia entre la expectativa relativa a los resultados de una prueba y un valor de referencia aceptado". La exactitud es, por lo tanto, la capacidad de un método de proporcionar un resultado coherente con la concentración verdadera del analito presente en el material de prueba. La exactitud de un método puede ser determinada por medio del análisis de un material de referencia certificado, mediante la comparación de los resultados con aquellos obtenidos utilizando otro método para el cual se han establecido previa y estrictamente los parámetros de funcionamiento (es decir, un método de referencia reconocido) o, en la ausencia de materiales o métodos de referencia, mediante la determinación de la recuperación del analito fortificado en una muestra de control de material conocido.

24. *La exactitud de una medición está estrechamente relacionada con el error sistemático (sesgo del método analítico) y con la recuperación del analito (medida como un porcentaje de recuperación). Los requisitos de exactitud de los métodos variarán dependiendo del uso reglamentario planeado de los*

resultados. Generalmente, la exactitud igual o menor al LMRMV o el nivel de interés debe ser igual o mayor que la exactitud superior al nivel de interés.

25. *El porcentaje de recuperación del analito añadido a una muestra de control de prueba es una medición afín que compara la cantidad encontrada por medio del análisis con la cantidad añadida a la muestra. La recuperación ha sido definida como la proporción de la cantidad de analito presente o añadida al material de prueba que es extraída y presentada para medición⁸. Ésta se expresa típicamente como el porcentaje del analito determinado experimentalmente después de la fortificación del material de muestra en una concentración conocida y debería ser evaluada en concentraciones que cubren el rango analítico del método. En la interpretación de recuperaciones, es necesario reconocer que puede que el analito añadido a una muestra no se comporte de la misma manera que el mismo analito en el medio biológico (residuo de medicamento veterinario). En muchas situaciones, la cantidad de un residuo que es extraído (el producto o la fracción recuperada) de un medio biológico es menor que el total de los residuos presentes en el medio, debido a las pérdidas que ocurren durante la extracción, la ligación intracelular de residuos, la presencia de conjugados o de otros factores que no son completamente representados por los experimentos de recuperación realizados con las muestras de control de tejidos fortificadas con el analito. Esto ha sido tratado por algunas autoridades reglamentarias en el establecimiento de requisitos para el funcionamiento de métodos de análisis reglamentarios¹². En concentraciones relativamente altas, se prevé que las recuperaciones analíticas se aproximen a un cien por ciento. En concentraciones más bajas, y particularmente con métodos que abarcan varios pasos que incluyen la extracción, el aislamiento, la purificación y la concentración, las recuperaciones pueden ser menores. Sin importar el promedio de las recuperaciones observadas, se desea una recuperación con baja variabilidad.*

26. *La sensibilidad de un método es una medida de su capacidad de detectar la presencia de un analito y de discriminar entre pequeñas diferencias en la concentración del analito. Para un método determinativo, la sensibilidad se define en el Manual de procedimiento como “la variación en la respuesta dividida entre la variación correspondiente en la concentración de un estándar (curva de calibración); es decir, la pendiente, s_1 , de la curva de calibración analítica”. También ha sido definida como “la pendiente de la función de calibración”⁶. Además, la sensibilidad requiere la capacidad de diferenciar entre el analito, los compuestos afines y las interferencias de fondo. Para los instrumentos analíticos utilizados en el análisis de residuos, la sensibilidad es determinada por dos factores: la respuesta del instrumento al analito y la interferencia de fondo, o el ruido del instrumento, la respuesta producida por un instrumento cuando no hay un analito presente en la muestra de prueba. Para las mediciones en el nivel o próximas al nivel del LMRMV, un método con la sensibilidad inadecuada puede no permitir al analista distinguir con confianza si las concentraciones de los residuos son superiores o inferiores al LMRMV.*

27. Para una prueba de selección, el término sensibilidad, por lo general, se refiere a la concentración más baja en la que el analito objetivo puede ser detectado con fiabilidad. En el "AOAC Performance Tested Program™" (Programa de funcionamiento evaluado AOAC) para kits de pruebas, esto se determina experimentalmente al evaluar un mínimo de 30 materiales de muestra exentos de residuos, fortificados con el analito en la concentración objetivo. Los materiales de muestra deberían ser por lo menos de seis fuentes diferentes (es decir, por lo menos 5 réplicas de cada una de por lo menos 6 fuentes), todas las cuales deberían producir un resultado positivo cuando estén fortificadas en la concentración objetivo. Tres o más resultados negativos constituyen una falla de la prueba de sensibilidad. Si uno o dos de los resultados son negativos, el experimento debería ser repetido y dos resultados negativos constituirían entonces una falla. El experimento debería ser repetido con material incurrido en la concentración objetivo, si dicho material se encontrara disponible.

¹² Commission Decision 2002/657/EC, implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results (Decisión de la Comisión 2002/657/EC, que implementa la directiva del Consejo 96/23/EC, respecto al funcionamiento de métodos analíticos y la interpretación de resultados), Official Journal of the European Communities, L221/8, August 17, 2002.

28. La *curva de la calibración* debería ser determinada para evaluar la respuesta del detector a los estándares. Las concentraciones (un mínimo de cinco, más la muestra de control) deberían abarcar el rango analítico completo de interés y la curva resultante debería ser estadísticamente expresada. La *función analítica* relaciona la respuesta para el analito recuperado del material de muestra en varias concentraciones a lo largo del rango analítico de interés. Para los analitos para los que se ha establecido un LMRMV en un material de muestra particular (matriz), la respuesta es típicamente determinada para una muestra de control de material conocido y para una muestra de control de material fortificado con cada una de las siguientes concentraciones del LMRMV: 0.5x, 1.0x y 2.0x (se recomienda el uso de 6 distintas fuentes de materiales de muestras de control). El experimento de la función analítica puede ser combinado con el experimento de recuperación descrito anteriormente y es de particular importancia cuando la presencia de coextractantes de matriz modifica la respuesta del analito en comparación con los estándares analíticos. Es cada vez más común en los métodos para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos, basar la determinación cuantitativa en una curva estándar preparada mediante la adición de un estándar a una muestra de control conocida del material representativo de la matriz, en un rango de concentraciones apropiadas que abarcan el valor objetivo. El uso de una "curva de tejido estándar" tal, para la calibración, incorpora una corrección de la recuperación en los resultados analíticos obtenidos. Típicamente, una respuesta lineal es deseable para la curva de calibración y la función analítica, expresada estadísticamente en términos de una correlación lineal.

29. La linealidad se ha definido como "la capacidad de un método de análisis, dentro de un cierto rango, de proporcionar una respuesta instrumental o resultados proporcionales a la calidad del analito a ser determinado en la muestra de laboratorio"¹³. Esta proporcionalidad se expresa con una expresión matemática definida *a priori*. Los límites de linealidad son los límites experimentales de las concentraciones entre los que se puede aplicar un modelo de calibración lineal con un nivel de confianza conocido (generalmente considerado a ser del 1 %). Para un método en el que se utiliza una muestra de control del material fortificado de la matriz para la cuantificación, la linealidad se determina a partir de los experimentos de función analítica descritos, y es la expresión estadística de la curva obtenida para el análisis de los materiales de muestra fortificados en las concentraciones objetivo que abarcan el Límite máximo del residuo. Se determina típicamente de un análisis de regresión lineal de los datos, suponiendo que hay una respuesta lineal.

30. El límite de detección se define convencionalmente como la muestra de control más tres desviaciones estándar (+ 3s), donde "s" es la desviación estándar de la señal de la muestra de control⁹. También se define como "la cantidad o concentración más pequeña del analito en la muestra de prueba que puede ser confiablemente distinguida del cero"⁶. Típicamente, el cálculo de la señal promedio para las muestras de control y la desviación estándar se hace a partir de 20 o más determinaciones. Este enfoque puede resultar en una estimación optimista del límite de detección. Un enfoque alternativo incluye el cálculo del límite de detección de la desviación estándar $s_{y/x}$ del análisis de regresión lineal de la curva estándar generada en el experimento de la función analítica descrito anteriormente¹⁴. El límite de detección entonces se calcula utilizando la ordenada en el origen de la curva más tres veces el valor de $s_{y/x}$. Este enfoque proporciona una estimación más prudente del límite de detección.

31. El límite de cuantificación¹⁵, que ha sido definido en términos prácticos como la concentración más baja del analito en una matriz definida que puede ser determinada con la precisión y la exactitud requeridas¹⁶. Éste puede ser expresado prudentemente como 10 veces la desviación estándar del valor de la media para 20 o más determinaciones de la respuesta de muestras de control del material conocido de la matriz. Para los

¹³ CX/MAS 02/4

¹⁴ Miller, J.C., & Miller, J.N. (1993) *Statistics for Analytical Chemistry* (Estadística para la química analítica), 3rd Edition, Ellis Horwood Ltd., Chichester.

¹⁵ Inczedy, J.; Lengyel, T. and Ure, A.M. (1998) *Compendium of Analytical Nomenclature (definitive rules 1997)* [Compendio de nomenclatura analítica (reglas definitivas)], 3rd edition, Blackwell Science, 1998.

¹⁶ Holland, P.T. (1996) *Glossary of Terms Relating to Pesticides* (Glosario de términos relacionados con plaguicidas). Pure & Appl. Chem., 68: 1167-1193.

métodos utilizados para respaldar los LMRMV establecidos por la Comisión del Codex Alimentarius, el límite de cuantificación debería cumplir con los criterios de precisión y exactitud (recuperación) en la Tabla 1 y debería ser igual o menor que la mitad del valor del LMRMV. Sin embargo, dado que el límite de cuantificación de un método puede ser considerablemente menor que las concentraciones reales vigiladas para el cumplimiento con un LMRMV, la validación y la aplicación ulterior del método pueden basarse en el *nivel calibrado más bajo*, que es típicamente 0.5x el valor del LMRMV. Los límites de detección y de cuantificación, para el uso en un programa reglamentario, son parámetros importantes cuando el método será aplicado para estimar exposiciones a residuos, donde puede que haya un interés en la vigilancia de residuos en concentraciones inferiores al LMRMV. Para la vigilancia del cumplimiento con un LMRMV, es importante que un nivel calibrado más bajo (LCL) sea incluido en el análisis que demuestre adecuadamente que la concentración del LMR puede ser confiablemente determinada. El nivel calibrado más bajo de un método utilizado para respaldar un LMRMV no debería ser menor que el límite de cuantificación.

32. El Manual de procedimiento recomienda el término “límite de determinación” bajo los “Términos que han de utilizarse en el planteamiento de criterios”. Éste se define como 6 ó 10 veces la desviación estándar (s) de la señal del valor promedio de la muestra de control, coherente con las definiciones de límite de cuantificación.

33. *Hay varios atributos colaterales aptos para los métodos analíticos para programas reglamentarios de control que van más allá de estos atributos de principios de métodos. Los métodos deberían ser sólidos (resistentes) o robustos, económicos, relativamente sencillos, portátiles y capaces de manejar simultáneamente un grupo de muestras de manera eficaz y oportuna.*

34. El Manual de procedimiento define solidez como “la capacidad de un proceso de medición química de resistir cambios en los resultados cuando éste se somete a pequeños cambios en las variables ambientales y operativas, laboratorios, personal, etc. Las pruebas de solidez deberían ser realizadas utilizando el enfoque del diseño factorial estándar para determinar todos los puntos críticos de control¹⁷. Los factores típicos a incluir en un diseño incluyen variaciones en los volúmenes o concentraciones de reactivos, pH, incubación o tiempo y temperatura de reacción, calidad de los reactivos y distintos lotes o fuentes de un reactivo o material cromatográfico.

35. *El factor económico consiste en el uso de reactivos, instrumentos o equipo relativamente comunes o habitualmente disponibles y utilizados en un laboratorio dedicado al análisis de residuos de medicamentos veterinarios. Los métodos deberían utilizar reactivos y suministros que estén fácilmente disponibles de distribuidores locales, en la pureza requerida, así como equipo para el que las refacciones y el servicio también estén fácilmente disponibles.*

36. La portabilidad es la característica del método analítico que lo habilita a ser transferido de una ubicación a otra sin la pérdida de las características analíticas de funcionamiento establecidas.

37. *La capacidad de un método para el control de residuos de analizar simultáneamente un grupo de muestras contribuye a la eficacia del método al permitir que grupos o lotes de muestras se analicen al mismo tiempo. Este atributo reduce los requisitos del tiempo analítico del análisis de muestras y habitualmente también resulta en un costo menor por muestra, debido a que hay ciertos costos fijos asociados con el análisis de muestras, independientemente de si se realizan o no por separado o en grupos grandes de muestras. La capacidad de un método de acomodar múltiples muestras en un lote es importante cuando se deben analizar grandes números de muestras en marcos de tiempo cortos o fijos.*

¹⁷ Youden, W.J., & Steiner, E.H. (1975) *Statistical Manual of the Association of Official Analytical Chemists* (Manual de estadística de la Asociación de químicos analíticos oficiales), AOAC International, Gaithersburg, VA.

38. *La determinación de los atributos de funcionamiento del método es muy importante. Estos atributos proporcionan la información necesaria para que las agencias de inocuidad alimentaria elaboren y gestionen sus programas de salud pública. Los atributos de funcionamiento para los métodos analíticos también proporcionan una base para buenas decisiones de gestión en planeaciones futuras, evaluaciones y disposición de productos. Para la industria del cuidado de salud animal, éstos proporcionan una directriz para saber exactamente qué funcionamiento debe ser logrado en la elaboración de procedimientos analíticos. Todos se beneficiarán de tener factores de funcionamiento bien definidos del método analítico.* Los requisitos de funcionamiento del método variarán, dependiendo de si el método es o no utilizado para la detección, la determinación o la confirmación de un residuo para el que se han establecido Límites máximos de residuos, o para residuos de un medicamento cuyo uso ha sido oficialmente prohibido en los animales productores de alimentos. En el último caso, las autoridades competentes pueden establecer una norma de funcionamiento mínimo que debe ser cumplida por los métodos utilizados por las autoridades reglamentarias. Sin embargo, debido a que no se pueden establecer concentraciones inocuas de estos compuestos en los alimentos, las autoridades competentes se sentirán obligadas a ajustar dichos límites a concentraciones menores, según sea requerido para reflejar las mejoras en la capacidad tecnológica y analítica. Cuando dichos límites no han sido oficialmente establecidos por las autoridades competentes, éstos son habitualmente establecidos *de facto* por las capacidades de detección de los métodos utilizados en los laboratorios reglamentarios.

INTEGRACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA EL CONTROL DE RESIDUOS

39. *Las organizaciones para el control de residuos y establecimiento de normas tienen diferente terminología para describir la aplicación de métodos analíticos. Los métodos de análisis para los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos deben ser capaces finalmente de detectar con fiabilidad la presencia de un analito de interés, determinar su concentración e identificar correctamente el analito.* Para los residuos que resultan del uso de sustancias aprobadas, la presencia de residuos *al nivel o arriba del nivel de un límite máximo de residuos (LMRMV)* debería ser confirmada *para que se puedan tomar acciones de imposición reglamentaria.* Para las sustancias cuyo uso ha sido prohibido en los animales productores de alimentos, la presencia confirmada de residuos en cualquier concentración en un alimento resultará habitualmente en una acción reglamentaria. Los métodos que confirman la identidad de un analito son clasificados como *métodos de confirmación.* Estos métodos de confirmación pueden o no tener un componente cuantitativo o semicuantitativo.

40. *Otros tipos de métodos que pueden ser utilizados en programas para el control de residuos, y que pueden fortalecer tales programas, pueden ser clasificados en dos categorías adicionales. Estas categorías son métodos cuantitativos o determinativos y métodos de selección. Los métodos cuantitativos proporcionan información precisa respecto a la cantidad de un analito que puede estar presente, pero solamente puede proporcionar información indirecta acerca de la identidad estructural del analito. Los métodos de selección pueden determinar rápidamente la presencia de uno o más compuestos, tomando como base una o más características comunes de una clase de medicamentos veterinarios en una manera cualitativa o semicuantitativa, en un límite de concentración especificado. Éstos también pueden determinar que un analito se encuentra por debajo del límite de detección del método de selección.*

41. *Estas tres categorías de métodos: de confirmación, cuantitativos y de selección, con frecuencia comparten un grupo común de características de funcionamiento, descritas anteriormente. Además, puede que tengan otras consideraciones específicas. Es importante entender la relación entre estas tres categorías de métodos para la elaboración y la operación de un programa equilibrado para el control de residuos. Los métodos de selección son útiles porque proporcionan una eficacia analítica mayor (es decir, un número mayor de análisis puede ser realizado en un período determinado) que los métodos cuantitativos y/o los métodos de confirmación. En muchas circunstancias los métodos de selección pueden ser realizados en entornos fuera de laboratorios. Los métodos de selección aptos para uso en entornos fuera de laboratorios*

pueden ser menos costosos para los programas reglamentarios de control que la realización de todas las pruebas dentro de un laboratorio. Los métodos de selección pueden ser utilizados para separar muestras de prueba sin residuos detectables, de aquellas que indican la presencia de un residuo de medicamento veterinario a un nivel igual o menor a un LMRMV o un nivel de interés adecuado. Esto permitiría que un laboratorio concentrara más sus esfuerzos en la cuantificación de las supuestas muestras de prueba positivas de interés reglamentario.

42. *Asimismo, las pruebas de selección también pueden ser utilizadas eficazmente dentro de un laboratorio porque éstas analizan, en un período determinado, un número de muestras mayor que sus correspondientes métodos cuantitativos. Puede que el ahorro de costos no sea tan grande como cuando los métodos de selección se utilizan en entornos fuera de laboratorios porque los costos asociados con el manejo y el envío de las muestras debe todavía ser incurrido. Los resultados supuestamente positivos obtenidos mediante los métodos de selección de laboratorio no deberían ser utilizados independientemente para tomar acciones reglamentarias. Los datos obtenidos de tales métodos pueden ser utilizados para determinar la necesidad de pruebas adicionales y/o la elaboración de un método adecuado para la imposición reglamentaria rutinaria de los LMRMV.*

CONSIDERACIONES PARA LA ELABORACIÓN Y LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS PARA EL CONTROL DE RESIDUOS

43. Los laboratorios deben demostrar que los métodos utilizados para el análisis de muestras reglamentarias han sido debidamente validados. Tradicionalmente, *el método de validación realizado entre varios laboratorios ha sido el enfoque preferido para proporcionar datos analíticos a fin de definir las características de funcionamiento de un método.* Sin embargo, se han elaborado otros modelos que incluyen pruebas interlaboratorios realizadas con un número menor de laboratorios que el número requerido para realizar un estudio completo de colaboración, y la validación de estudios en un solo laboratorio ⁶ basada en evaluaciones rigurosas del funcionamiento del método dentro del laboratorio, respaldada por un sistema de calidad, auditorías independientes y análisis de competencia o materiales de referencia, cuando están disponibles. *Siempre que sea posible, al elaborar un método para el control de residuos, se deberían recolectar datos de tres tipos de muestras. El control del material de prueba de animales que no han recibido tratamiento proporciona información acerca de interferencias analíticas de fondo y de matriz. El material de prueba fortificado, que contiene cantidades conocidas del analito añadido al material de control, produce información acerca de la capacidad del método para recuperar el analito de interés bajo condiciones controladas. El tejido dosificado o en medio biológico, de animales productores de alimentos y aves que han sido tratadas con el medicamento, proporciona información adicional del funcionamiento analítico acerca de las interacciones biológicas o de otra índole que pueden ocurrir al analizar las muestras de control de residuos.* Los tejidos deberían ser obtenidos de múltiples fuentes para cubrir las variaciones que resultan de factores tales como distintos regímenes alimentarios, prácticas pecuarias, sexo y raza de los animales.

44. *Los métodos para residuos deberían ser diseñados con tanta simplicidad como sea posible. La simplicidad analítica ayuda a minimizar la variedad, tamaño y tipo de cristalería y equipo necesarios, minimiza la posibilidad de errores analíticos y reduce los costos del laboratorio y del método. Los reactivos y los estándares deben estar disponibles comercialmente o de alguna otra fuente fiable. La instrumentación debería ser seleccionada tomando como base sus características de funcionamiento en vez de un fabricante en particular.* Los laboratorios deberían proporcionar a sus clientes información acerca de la incertidumbre de la medición asociada con los resultados cuantitativos producidos por cada método determinativo. Esto requiere una revisión del método para determinar la posibilidad del error que puede ser introducido en cada paso del método, desde la preparación de los estándares, la selección y el peso de las porciones de prueba, hasta cada uno de los pasos en el análisis y la medición final. Mientras más complejo y complicado sea el método, más difícil es su ejecución.

45. *Los métodos para residuos son algunas veces diseñados utilizando estándares internos para el control analítico. Un estándar interno debidamente utilizado compensará parte de la variabilidad analítica de un análisis, mejorando de esta manera la precisión. Sin embargo, un estándar interno utilizado indebidamente puede ocultar variables que son una parte importante de la medición analítica. Si se utiliza un estándar interno, éste debería ser añadido a una muestra tan pronto como sea posible en las etapas iniciales del procedimiento, de preferencia al material de prueba, antes de que comience el análisis. El estándar interno debe reflejar la recuperación del analito objetivo de una manera uniforme y previsible. Un estándar interno que no refleja el comportamiento del analito objetivo en el método conllevará errores significativos en el cálculo del resultado final. Se debe tener cuidado al elegir los estándares internos a fin de asegurar que éstos no alteren el porcentaje de recuperación del analito de interés o que interfieran con el proceso de medición. Es importante conocer el grado y la previsión de los efectos de un estándar interno en el método analítico. Los estándares internos pueden mejorar grandemente el funcionamiento del método cuando se utilizan correctamente.*

46. *Los métodos para el control de residuos que pueden ser sometidos a entornos físicos de pruebas ampliamente variables necesitarán requisitos adicionales. El tratar estos requisitos puede ayudar a mejorar la solidez del método. Los ambientes más calientes pueden requerir reactivos que sean más térmicamente estables, mientras que los solventes utilizados en el análisis tendrán que ser menos volátiles, y los requisitos para las muestras de prueba tendrán que ser más flexibles. Puede que los ambientes más fríos requieran reactivos y solventes que tengan distintas propiedades físicas, tales como un punto de congelación menor y características de solvencia mayores, a fin de asegurar la extracción eficaz de un analito. Las temperaturas del ambiente pueden influir en el tiempo requerido para realizar un análisis, así como en la velocidad de la reacción, las separaciones gravitacionales y el desarrollo de color. Estas consideraciones pueden complicar los esfuerzos realizados para estandarizar los métodos para su uso en entornos bastante diferentes debido a la necesidad de adaptar métodos para compensar por estos factores. Es importante que al considerar el entorno físico en el que un método será utilizado se recuerde que la cristalería volumétrica y muchos de los instrumentos analíticos son calibrados para ser utilizados en temperaturas específicas o dentro de un rango controlado de temperatura. La operación fuera de estas temperaturas podría comprometer los resultados de la prueba.*

47. *Un método analítico elaborado y utilizado solamente en un laboratorio puede tener un uso limitado en un programa para el control de residuos, a menos que se preste atención para cumplir con las rigurosas expectativas para la validación de métodos realizada en un solo laboratorio bajo el procedimiento de ISO/IEC-17025 o procedimientos de acreditación equivalentes para laboratorios de pruebas. La confiabilidad de los valores informados puede ser una preocupación a pesar de que se hayan empleado fuertes procedimientos de control de calidad, a menos que estén respaldados por datos de un programa continuo de competencia, una comparación con un método de referencia adecuado u otras formas de comparación de resultados entre laboratorios. Como mínimo, anteriormente se recomendó que los laboratorios en los que se preveía el uso de estos métodos deberían elaborar características de funcionamiento para el control de residuos, incluida la variabilidad analítica, y obtener una concordancia estadísticamente aceptable con las mismas muestras divididas entre los laboratorios de pruebas. Se prefiere todavía dicho enfoque, siempre que sea posible. Sin embargo, también se reconoce que con los rápidos cambios en la tecnología y el rango cada vez mayor de compuestos que podrían ser incluidos en un programa para el control de residuos, se requiere, desde un enfoque práctico, que los laboratorios se concentren primero en la validación interna de los métodos para cumplir con las limitaciones de tiempo. Los métodos que han sido detenidamente validados dentro de un solo laboratorio, con la inclusión de pruebas de solidez debidamente diseñadas, deberían ser capaces de ser sometidos con éxito a un estudio de colaboración, en el que participen por lo menos ocho laboratorios diferentes.*

48. *Los principios para realizar una validación dentro de un solo laboratorio, el estudio interlaboratorios de un método, o bien, un estudio de colaboración de un método para el control de residuos, son los mismos. Las muestras para evaluar el funcionamiento del método deberían ser desconocidas para el analista, encontrarse en duplicados al azar, contener el residuo próximo al nivel del*

LMRMV u otra concentración objetivo, así como muestras que contengan el analito a un nivel superior o inferior al nivel de interés, y muestras de control del material de prueba. Todas las muestras del estudio deberían ser analizadas a lo largo de un número limitado de días, de preferencia con análisis replicados, para mejorar la evaluación estadística del funcionamiento del método. Debería notarse que éstos son solamente los requisitos mínimos. El establecimiento de normas de funcionamiento para métodos basados en la estadística se mejora al aumentar el número de analistas y laboratorios independientes que evalúan el método, así como el número de muestras sometidas a prueba. En la validación realizada en un solo laboratorio, se recomienda que el método sea evaluado por varios analistas para proporcionar medidas adecuadas del funcionamiento dentro del laboratorio. Se recomienda expandir la validación para incluir otros laboratorios, de preferencia un número requerido para un estudio de colaboración. Los análisis duplicados en sólo ocho laboratorios, con una o dos especies animales y tejidos, producen estimaciones de calidad limitada para la repetibilidad y reproducibilidad generales. La validación de un método estudiado en colaboración puede ser extendida para incluir tejidos y especies adicionales en un estudio ulterior, realizado por un solo laboratorio experto, según sea requerido.

49. *Los principios de control de calidad y garantía de calidad son componentes esenciales del análisis de residuos. Éstos proporcionan las bases para asegurar el funcionamiento óptimo del método para todos los métodos, independientemente de los atributos del método, siempre que sean utilizados. El control de calidad vigila aquellos factores asociados con el análisis de una muestra por un evaluador, mientras que la garantía de calidad proporciona la supervisión, por parte de críticos independientes, para asegurar que el programa analítico esté funcionando de manera aceptable. Los programas de control de calidad y de garantía de calidad son invaluable para respaldar la toma de decisiones por las agencias de control de residuos, mejorando la confiabilidad de los resultados analíticos y proporcionando datos de calidad para los programas de control de residuos, a fin de demostrar la inocuidad de los alimentos a los consumidores, productores y órganos legislativos, respecto a los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. Se recomienda que los laboratorios reglamentarios de control establezcan medidas de calidad que sean coherentes con los principios publicados por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada¹.*