



## Tema 6 del programa

CX/RVDF 10/19/6  
Abril de 2010

### PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS

#### COMITÉ DEL CODEX SOBRE RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS EN LOS ALIMENTOS

##### Decimonovena reunión

*Burlington, Vermont, Estados Unidos de América, del 30 de agosto al 3 de septiembre de 2010*

#### DOCUMENTO DE DEBATE SOBRE MÉTODOS DE ANÁLISIS PARA RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS EN LOS ALIMENTOS

**(Informe del Grupo de trabajo electrónico encargado de preparar un documento de debate con propuestas para la evaluación de métodos de análisis proporcionados por el JECFA y orientación sobre la elaboración de características funcionales para el análisis de residuos múltiples)**

#### Antecedentes

1. En la 18ª reunión del Comité del Codex sobre Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos (CCRVDF) celebrada en Natal, Brasil (del 11 al 15 de mayo de 2009), el Comité acordó establecer un grupo de trabajo electrónico presidido por el Reino Unido y Canadá. El propósito del grupo era:

- (a) preparar un documento de debate que contenga propuestas para la evaluación de los métodos de análisis proporcionados por el JECFA; y
- (b) preparar una orientación sobre la elaboración de características funcionales para el análisis de residuos múltiples

para ser examinados por el CCRVDF en su 19ª reunión.

#### Actas de la reunión del grupo de trabajo electrónico

2. El grupo de trabajo realizó sus tareas principalmente por correo electrónico, y el proceso de observaciones e intercambio de documentos fue facilitado por un foro electrónico establecido por el Reino Unido. Los informes sobre las dos tareas se presentan en los Anexos I y II, respectivamente. El primer borrador de cada anexo fue preparado por un pequeño grupo de redacción, y posteriormente cada anexo fue distribuido al grupo de trabajo completo para recabar observaciones y ser revisado en tres ocasiones separadas. Los anexos adjuntos en el presente documento corresponden a los puntos de vista de los siguientes países y organizaciones:

- (a) Reino Unido, Canadá, Estados Unidos de América, Costa Rica, Brasil, Polonia, Los Países Bajos, Alemania, Suecia, Australia, Francia, el Organismo Internacional de Energía Atómica (OIEA) y la Federación Internacional de Sanidad Animal (IFAH).

#### Recomendaciones sobre la evaluación de los métodos de análisis proporcionados por el JECFA (Anexo I)

3. El grupo de trabajo examinó la evaluación de métodos de análisis realizada por el JECFA y se complació en aceptar que las evaluaciones eran realizadas debidamente por los expertos. Durante el proceso para llegar a esta conclusión (explicada en detalle en el Anexo I), el grupo de trabajo formuló varias recomendaciones para ser examinadas por el Comité. Estas recomendaciones son las siguientes.

- (a) *Se recomienda que en las futuras evaluaciones realizadas por el JECFA se usen las directrices para la validación realizada por un solo laboratorio (VSL) adoptadas por la CAC en su 32º período de sesiones.*
- (b) *Se recomienda que el JECFA aumente la representación de expertos en la evaluación de métodos de análisis.*
- (c) *Se sugiere que, debido a que las compañías farmacéuticas no elaboran rutinariamente patrones de todos los residuos marcadores disponibles a los laboratorios de análisis, el JECFA podría tomar esto en cuenta al seleccionar los residuos marcadores especialmente para los medicamentos veterinarios que ya no están protegidos por una patente y que no están a la venta en el mercado.*
- (d) *Se recomienda que el CCRVDF no requiera realizar otra evaluación de expertos para métodos de análisis recomendados por el JECFA.*
- (e) *El CCRVDF debería tomar en cuenta cómo se podrían poner los métodos de análisis a la disposición de las autoridades reglamentarias.*
- (f) *El CCRVDF debería examinar mecanismos para asegurar la disponibilidad de métodos para el control de residuos para propósitos de vigilancia y monitoreo de sustancias para las que el JECFA no haya podido establecer una IDA ni LMR.*

#### Orientación sobre la elaboración de características funcionales para el análisis de residuos múltiples

4. La preparación de este anexo fue un reto para el grupo de trabajo. Muy rápidamente quedó claro que la única orientación internacional sobre métodos de análisis para residuos múltiples, específicamente para residuos de medicamentos veterinarios, fue preparada como el resultado de la consulta de Miskolc en 1999. No obstante, sí se encontró un poco de orientación sobre estos métodos en cuanto a su aplicación a plaguicidas y, por lo tanto, fue utilizada en este documento según se consideró adecuado. En muchas áreas, la tecnología ha avanzado desde que estos documentos fueron publicados, y ahora hay métodos más sofisticados y sensibles que están comúnmente a la disposición de muchos laboratorios.

5. Por consiguiente, sería adecuado plantear el establecimiento de un grupo de trabajo de expertos que incluya estadísticos, académicos, científicos y analistas de laboratorios reglamentarios que actualmente participan en la elaboración de dichos métodos para residuos múltiples con los instrumentos sofisticados de hoy en día. Ellos podrían proporcionar datos de sus propias investigaciones para permitir así la determinación de límites adecuados para los datos generados con los instrumentos de análisis de la actualidad (en vez de depender de datos viejos de hace dos a tres décadas, generados con instrumentos y equipo del pasado) para usarse como límites para los parámetros de análisis debatidos en estas directrices.

6. El grupo de trabajo preparó un documento proyecto en el que se incluyen elementos de las buenas prácticas actuales internacionales y se comienzan a estudiar los métodos de análisis para residuos múltiples y cómo podrían elaborarse características funcionales para éstos.

7. El proyecto de Anexo II adjunto extrae elementos de los siguientes documentos: -

- La consulta de Miskolc
- CAC/GL 40-1993 (Directrices sobre buenas prácticas de laboratorio en el análisis de residuos)
- CAC/GL 71-2009 (Directrices para el diseño y la implementación de programas reglamentarios nacionales de aseguramiento de inocuidad alimentaria relacionados con el uso de medicamentos veterinarios en los animales destinados a la producción de alimentos)
- CAC/GL 72-2009 (Directrices sobre la terminología analítica)
- Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed (European Commission Document No. SANCO/10684/2009)

#### Recomendaciones para la preparación de orientación sobre características funcionales para métodos de análisis para residuos múltiples (Anexo II)

8. El grupo de trabajo presenta las siguientes recomendaciones al Comité.

- *El trabajo inicial acerca de la preparación de una orientación sobre las características funcionales debería continuar.*
- *La orientación no debería estar dirigida al estándar más alto disponible, ni tampoco al estándar que debiera lograr un laboratorio con desempeño promedio. En vez de ello, debería elaborarse una orientación que sea “idónea para la finalidad prevista” y debería reconocerse que distintas características funcionales podrían ser adecuadas para distintos procedimientos y técnicas de análisis.*
- *Establecer un grupo de expertos que incluya estadísticos y analistas o científicos de laboratorios reglamentarios, el ámbito académico y la industria para recopilar e interpretar datos generados para métodos de análisis de residuos múltiples para determinar y validar escalas o límites de análisis como parámetros funcionales característicos para medicamentos veterinarios que se incluyen en tales métodos de análisis para residuos múltiples.*
- *El Comité debería reconocer la importancia de vincular la elaboración de los criterios funcionales para métodos de análisis para residuos múltiples con la necesidad de elaborar requisitos de validación para tales métodos, y esto debería basarse en la orientación existente que figura en el documento CAC/GL 71-2009.*
- *Toda orientación elaborada no deberá tener una naturaleza preceptiva y debería incluir opciones que se adapten a las necesidades locales siempre que sea posible.*
- *Debería convenirse un grupo de trabajo durante la reunión para debatir este documento antes de que sea debatido por el Comité.*

**ANEXO I: Propuestas para la evaluación de los métodos de análisis proporcionados por el JECFA****Resumen ejecutivo**

- *El JECFA evalúa los métodos de análisis y proporciona una garantía de que los datos utilizados en la evaluación toxicológica, así como en la posterior determinación de un LMR, estaban basados en la ciencia sólida. Se recomienda que en las futuras evaluaciones realizadas por el JECFA se usen las directrices para la validación realizada por un solo laboratorio (VSL) adoptadas por la CAC en su 32º período de sesiones.*
- *Se recomienda que el JECFA continúe aumentando la representación de expertos en la evaluación de métodos de análisis.*
- *Se sugiere que, debido a que las compañías farmacéuticas no elaboran rutinariamente patrones de todos los residuos marcadores disponibles a los laboratorios de análisis, el JECFA podría tomar esto en cuenta al seleccionar los residuos marcadores especialmente para los medicamentos veterinarios que ya no están protegidos por una patente y que no están a la venta en el mercado.*
- *Se recomienda que el CCRVDF no requiera realizar otra evaluación de expertos para métodos de análisis recomendados por el JECFA.*
- *El CCRVDF debería tomar en cuenta cómo se podrían poner los métodos de análisis a la disposición de las autoridades reglamentarias.*
- *El CCRVDF debería examinar mecanismos para asegurar la disponibilidad de métodos para el control de residuos para propósitos de vigilancia y monitoreo de sustancias para las que el JECFA no haya podido establecer una IDA ni LMR.*

*El Reino Unido y Canadá, copresidentes de este grupo de trabajo electrónico (GTe), agradecen las aportaciones de Australia, Suecia, Costa Rica, el Reino Unido, Canadá, EE.UU., Brasil, Francia, la OIEA y la IFAH en la preparación de este documento proyecto.*

**Objetivo 1:** *examinar la recientemente publicada Monografía 6 de FAO JECFA (70ª reunión, 2008) en la que se describen los métodos examinados por el JECFA en la 70ª reunión, y la Serie de Informes Técnicos de la OMS 954 “Evaluation of certain veterinary drug residues in food” 70th Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (Evaluación de residuos de algunos medicamentos veterinarios en los alimentos, Informe de la 70ª reunión del Comité Mixto FAO/OMS de expertos en aditivos alimentarios), disponible en inglés en <http://www.fao.org/docrep/011/i0659e/i0659e00.htm>, para examinar si puede concluirse que el JECFA ha actuado con debida diligencia asegurándose de que todo método recomendado al CCRVDF para avanzar los proyectos de LMR, de hecho, cumpla con los criterios generalmente aceptados de “idóneo para la finalidad prevista”.*

1. En la 18ª reunión del CCRVDF, se acordó que el JECFA es responsable de la evaluación de métodos de análisis en apoyo de los LMR propuestos por el JECFA. Si el JECFA está usando las nuevas directrices para la validación realizada por un solo laboratorio (VSL) tal como figuran en las recientemente adoptadas directrices del CCRVDF tituladas “Directrices para el diseño y la implementación de programas nacionales reglamentarios de aseguramiento de inocuidad alimentaria relacionados con el uso de medicamentos veterinarios en los animales destinados a la producción de alimentos” adoptadas por la CAC en su 32º período de sesiones, además de cualquier texto que se elabore en respuesta a la petición descrita en el párrafo 111 del informe de la 18ª reunión del CCRVDF, ¿hay algún motivo para que el CCRVDF realice algún examen y/o evaluación adicional? ¿No deberíamos hacer un argumento poderoso a favor de que un examen de expertos, que tendrá el beneficio adicional de acelerar el proceso de LMR, es adecuado? El Apéndice 1, presentado a continuación, incluye un examen detallado de las evaluaciones realizadas por el JECFA en la “Evaluación de la Monografía 6 del JECFA y Serie de Informes Técnicos de la OMS 954: Evaluación de residuos de algunos medicamentos veterinarios en los alimentos - Informe de la 70ª reunión del JECFA”.

#### **Comentario general y observación sobre el objetivo 1:**

2. En general, el JECFA ha actuado con debida diligencia, y ha determinado durante su evaluación más reciente que, los métodos evaluados son “idóneos para la finalidad prevista” y adecuados para el análisis rutinario para el cumplimiento con respecto a esos medicamentos veterinarios. Sin embargo, se señala que para la dexametasona, los límites de cuantificación (LC) para los métodos de análisis proporcionados no cumplieron con el requisito general de que el método sea capaz de detectar y cuantificar el analito a 0.5 veces el valor del LMR.

#### **Recomendaciones que surgen del objetivo 1:**

3. La Secretaría del JECFA debería continuar asegurándose de que un equipo asignado al examen de un medicamento veterinario incluya por lo menos una persona con experiencia demostrada en la elaboración y la validación de métodos de análisis para medicamentos veterinarios, ya sea por medio de sus publicaciones o a través de su función como científico o gerente en un laboratorio de control de residuos o programa de control de residuos.

4. Además, la Secretaría del JECFA debería asegurarse de que todo método recomendado por medio del proceso del JECFA como adecuado para programas de vigilancia o monitoreo, deba incluir una sección sobre garantía de calidad redactada siguiendo las directrices para VSL recomendadas por el CCRVDF, que requiriera que cada laboratorio que presente datos para ser examinados por el JECFA demuestre experiencia y competencia en el uso del método al generar datos que cumplan con las normas de especificación del método.

5. Se insta al JECFA a trabajar conforme a las nuevas directrices para VSL, tal como fueron acordadas en la 18ª reunión del CCRVDF y adoptadas en el 32º período de sesiones de la CAC.

6. Si las recomendaciones anteriores se adoptan, entonces no habrá necesidad de añadir otro grupo de expertos para evaluar la evaluación del JECFA de métodos adecuados para la vigilancia del cumplimiento.

**Objetivo 2:** *¿Qué soluciones pueden elaborarse para hacer que estos métodos validados que han sido evaluados por el JECFA (y determinados a ser adecuados para efectos del cumplimiento reglamentario de los medicamentos de interés, tomando en cuenta la naturaleza confidencial de la mayoría de los métodos evaluados por el JECFA) sean de fácil acceso para todos los países miembros del Codex?*

7. En EE.UU. y Canadá, los métodos de análisis para el control reglamentario de medicamentos veterinarios usados en la producción de animales destinados a la alimentación humana son considerados

información pública. Ciertas consideraciones con respecto a cuestiones de confidencialidad se vuelven necesarias una vez que se incluye la participación de los laboratorios comerciales. Sin embargo, los controles se llevan a cabo solamente en los laboratorios del gobierno federal o en los laboratorios privados que trabajan bajo contrato con el gobierno. Las empresas farmacéuticas (patrocinadores) son obligadas a proporcionar cualquier patrón o reactivo poco común requerido para el análisis del medicamento para el que se ha obtenido una licencia y aprobación para su uso en la producción de animales destinados a la alimentación humana.

8. La posición sobre esto es un poco distinta en la Unión Europea. La Agencia Europea de Medicamentos (EMA) es responsable de proporcionar los métodos de análisis presentados en apoyo de una solicitud de LMR a las autoridades competentes nacionales (AC). Las AC son responsables de proporcionar el método a los laboratorios de control oficiales. Por lo tanto, un número considerable de métodos de análisis e información sobre esos métodos ya se está intercambiando, compartiendo y distribuyendo, y la industria está abierta a cualquier sistema que garantice el uso adecuado de la información para propósitos de vigilancia. Cuando los análisis de residuos para efectos de control reglamentario son realizados por laboratorios bajo contrato, la celebración de un contrato con un gobierno en el que se especifique el número previsto de análisis podría formar la base de acceso al método y a cualquier patrón requerido. No obstante, debe reconocerse que, en algunos casos donde se usen laboratorios bajo contrato, podría ser difícil o incluso imposible hacer que sus métodos estén disponibles para una distribución general debido a motivos de confidencialidad.

9. Las empresas farmacéuticas podrían proporcionar a las autoridades nacionales patrones analíticos de los residuos marcadores donde éstos sean el medicamento veterinario de origen. No obstante, podría ser difícil obtener suministros de metabolitos o derivados como residuos marcadores, presentando un reto para la vigilancia eficaz de residuos. Como gestor de riesgos, el CCRVDF deberá estudiar maneras para alentar el suministro de patrones de referencia para residuos marcadores recomendados por el JECFA al evaluar medicamentos para los LMR del Codex.

10. Tanto en EE.UU. como en la UE, los métodos de análisis proporcionados por la industria (patrocinador) son aquellos específicamente elaborados para los estudios de eliminación de residuos en tejidos como parte del requisito para el proceso de registro y aprobación de medicamentos. En la UE, tanto los Laboratorios Comunitarios de Referencia (LCR) como los Laboratorios Nacionales de Referencia (LNR) elaboran métodos rutinarios de selección, cuantitativos y de confirmación requeridos para la vigilancia del cumplimiento, según sea necesario. Estos métodos, que son generalmente métodos para residuos múltiples y aplicables a distintas matrices, se elaboran para el uso eficaz de recursos de laboratorio y para garantizar el informe oportuno de los resultados. Tales métodos podrían satisfacer mejor las necesidades de los países miembros del Codex que los métodos elaborados por la industria que, por necesidad, se enfocan solamente en el análisis del residuo marcador en un tejido apropiado elegido como objetivo para una aplicación dada de un LMR.

11. El proporcionar información de dominio privado sobre métodos de análisis a laboratorios nacionales es la responsabilidad de los gobiernos nacionales, no del CCRVDF.

12. Para las sustancias para las que el JECFA no haya podido establecer una IDA ni LMR pero para las que haya una necesidad de controlar residuos, se recomienda al CCRVDF que establezca un mecanismo para garantizar la disponibilidad de métodos de análisis adecuados.

### **Recomendaciones que surgen del objetivo 2:**

13. Las autoridades nacionales deberían asegurar que los laboratorios que trabajen bajo contrato ofreciendo servicios de análisis trabajen conforme a las normas internacionales aceptadas.

14. Debería darse la debida consideración a la posibilidad de buscar un acuerdo entre los laboratorios de residuos en el mundo que tengan mandatos afines, para compartir sus métodos con la comunidad de laboratorios de control mundial o de los países miembros de Codex.

15. El CCRVDF debería preparar una base de datos que incluya los contactos de las autoridades competentes nacionales para medicamentos veterinarios autorizados con LMR que tengan programas rutinarios establecidos para el control de residuos. Esto dará a los países que deseen iniciar programas de control de residuos un primer “punto de contacto” para la obtención de métodos de análisis prácticos

utilizados en programas rutinarios para el control de residuos y permitirles así seleccionar un método apropiado que sea el más apto para su experiencia y capacidad.

16. Al seleccionar los residuos marcadores para los LMR, el JECFA deberá estar consciente de la posible dificultad que los laboratorios y las autoridades reglamentarias podrían tener para obtener residuos marcadores que no sean el compuesto de origen.

17. El CCRVDF debería instar a las compañías farmacéuticas veterinarias a poner a la disposición de las autoridades competentes en los países miembros patrones de todos los residuos marcadores para los medicamentos veterinarios que tengan LMR del Codex. El CCRVDF deberá dar la debida consideración a hacer de esto un requisito para el establecimiento de un LMR a fin de facilitar el comercio y garantizar la protección del consumidor de mejor manera.

18. Para las sustancias para las que el JECFA no haya podido establecer una IDA ni LMR pero para las que haya una necesidad de controlar residuos, se recomienda al CCRVDF que establezca un mecanismo para garantizar la disponibilidad de métodos de análisis adecuados.

## APÉNDICE 1

### Examen del GTe de la “Evaluación de la Monografía 6 del JECFA y Serie de Informes Técnicos de la OMS 954: Evaluación de residuos de algunos medicamentos veterinarios en los alimentos - Informe de la 70ª reunión del JECFA”

**Avilamicina – Evaluada por la Dra. Adriana Fernández Suarez (ARG), el Dr. Bruno Le Bizec (FR) y el Dr. Richard Ellis (EE.UU.).**

Los autores reconocieron que se disponía de métodos validados de CL-EM/EM (Eichmeir *et al.* 2006b) para la determinación de la avilamicina en grasa, músculo, riñón e hígado de cerdos, para tejidos de pollos / gallinas (Eichmeir *et al.*, 2006a), tejidos de pavos (Eichmeir *et al.*, 2006c) y tejidos de conejos (Eichmeir *et al.*, 2006d) que miden el residuo marcador ácido dicloroisovernínico (AcDi), y los evaluaron frente a los criterios de validación con respecto a selectividad, linealidad, exactitud, recuperación, repetibilidad, robustez, límites de cuantificación, límites de detección y estabilidad. Se concluyó que, a pesar de que los límites de cuantificación (LC) para la avilamicina en las distintas matrices tuvieron que volver a calcularse, el método remitido era satisfactorio para el análisis cuantitativo de la avilamicina en tejidos de cerdos, pavos, conejos y pollos / gallinas.

**El método recomendado tiene un LC de aproximadamente 1/10 del LMR recomendado expresado como ácido dicloroisovernínico (AcDi). Los LC calculados por el elaborador fueron 150 µg AcDi/kg para hígado, 100 µg AcDi/kg para riñón, 50 µg AcDi/kg para piel/grasa y 25 µg AcDi/kg para músculo (basados en una exactitud y precisión aceptables) y eran más coherentes con los LMR propuestos que las estimaciones de los examinadores basados en las determinaciones de la relación señal/ruido.**

Los examinadores expertos comentaron que, debido a la relativamente compleja instrumentación de CL-EM/EM que pudiera no estar disponible en todos los laboratorios reglamentarios, tal vez sería necesario utilizar otros métodos en las situaciones donde no se dispusiera del equipo.

	LMR (µg/kg)			
	Músculo (LC)	Riñón (LC)	Hígado (LC)	Piel / Grasa (LC)
Cerdos	200 (24)	200 (3.3)	300 (10)	200 (22.4)
Pavos	200 (18.4)	200 (22.4)	300 (30.4)	200 (18.7)
Pollos / gallinas	200 (18.4)	200 (22.4)	300 (30.4)	200 (18.7)
Conejos	200 (18.4)	200 (22.4)	300 (30.4)	200 (18.7)

[Ref: Eichmeir, L. S. (2006) Validation of an HPLC-MS/MS method for the determination of avilamycin in chicken liver, kidney, muscle and fat/skin. Report No. 49783, ABC Laboratories Inc. Columbia, MO EE.UU. (ABC Method 49783-MI Remitido por patrocinador)]

[Ref: Eichmeir, L. S. (2006) Validation of an HPLC-MS/MS method for the determination of avilamycin in chicken liver, kidney, muscle and fat/skin. Report No. 49784, ABC Laboratories Inc. Columbia, MO EE.UU. (ABC Method 49784-MI-01 Remitido por patrocinador)]

### **Dexametasona – Evaluada por el Dr. Bruno Le Bizec (FR).**

La dexametasona fue evaluada en la 42ª reunión del JECFA y se recomendaron LMR temporales expresados como medicamento de origen (residuo marcador) basados en una ingesta diaria admisible (IDA) de 0 – 0.015 µg/kg pc para vacunos / vacas y cerdos porque no se disponía de un método adecuado para determinar el cumplimiento con los LMR. Se recomendaron los mismos LMR para caballos en la 43ª reunión del JECFA. En la 17ª reunión del CCRVDF, se presentó una petición para recomendaciones de LMR en tejidos de vacunos / vacas (tejidos y leche) y cerdos.

Se remitieron tres métodos para ser evaluados por el JECFA:



- (1) un método de CL-EM/EM (ESI-) para la determinación de residuos de dexametasona en hígado bovino (Método 1);

[Ref: National Food Administration, SLV k1-f2-v321 (2008-03-27 BGOS) Validation of the method: analysis of glucocorticosteroids Dexamethasone, Betamethasone, Flumethasone, Prednisolone, and 6-methylprednisolone in bovine liver using LC-MS/MS. (Remitido a la FAO por la National Food Administration, Uppsala, Suecia)]

- (2) un método de CL-EM/EM (ESI-) para la determinación de residuos de dexametasona en leche bovina (Método 2);

[Ref: McDonald, M., Granelli, K., and Sjöberg, P (2007). Rapid multi-residue method for the quantitative determination and confirmation of glucocorticosteroids in bovine milk using LC-tandem mass spectrometry, Anal. Chim. Acta 588, 20-25].

- (3) un método de CL-EM/EM (ESI+) para la determinación de residuos de dexametasona en músculo y riñón bovinos (Método 3).

[Ref: Boison, J., Fedeniuk, R., and Chrush, J (2008) A determinative and confirmatory method for 29 antibiotic residues in bovine muscle tissues by LC-tandem mass spectrometry. Project No. SF0103. Improved test capability for banned substances in food of animal origin. Remitido a la FAO por la Canadian Food Inspection Agency, Saskatoon Laboratory, Centre for Veterinary Drug Residues, Canadá]

El experto del JECFA evaluó la idoneidad de los métodos remitidos para medir la dexametasona en el LMR temporal previamente definido de 0.3 µg/L para la leche, 0.5 µg/kg para el músculo y riñón bovinos y 2.5 µg/kg para el hígado bovino.

Después de examinar los parámetros analíticos remitidos para la selectividad, sensibilidad, exactitud, precisión, recuperación, robustez y estabilidad de los analitos, se concluyó que:

- (a) se dispone de un método rutinario validado adecuado para la vigilancia de residuos de dexametasona en leche bovina en 0.3 µg/L (Método 2);
- (b) se dispone de un método rutinario validado adecuado para la vigilancia de residuos de dexametasona en hígado bovino en 2.0 µg/kg (Método 1);
- (c) se dispone de un método rutinario validado adecuado para la vigilancia de residuos de dexametasona en tejidos de riñón y músculo bovinos en 1.0 µg/kg en vez de en el LMR temporal recomendado de 0.5 µg/kg (Método 3).

	LMR temporal (CAC) (µg/kg)	Método 1 (µg/kg)	Método 2 (µg/L)	Método 3 (µg/kg)
Riñón bovino	0.5			1.0
Hígado bovino	2.5	2.0		
Músculo bovino	0.5			1.0
Leche bovina	0.3		0.3	

Los tejidos elegidos como objetivo adecuados son hígado o riñón y leche.

#### Para la dexametasona

- el LC para el método de hígado bovino de 2.0 µg/kg es sólo 4/5 (no ½) del LMR temporal recomendado por el Comité de 2.5 µg/kg;
- el LC para el método de leche bovina de 0.3 µg/L es igual (no ½) al LMR temporal recomendado por el Comité de 0.3 µg/L;

- el LC para el método de riñón bovino de 1.0 µg/kg es el doble (no ½) del LMR temporal recomendado por el Comité de 0.5 µg/kg.

NOTA: todavía no había métodos validados para caballos y cerdos, pero el experto señaló que el método remitido para vacunos / vacas es adecuado para extenderse a los tejidos de cerdos y caballos.

**Malaquita verde (MV) – Evaluada por el Dr. Bruno Le Bizec (FR), el Dr. Dieter Arnold (ALEM) y el Dr. Richard Ellis (EE.UU.).**

Los autores presentan un análisis exhaustivo de enfoques para el análisis de la MV y la leucomalaquita verde (LMV), pero no hay indicaciones de que ningún método en particular fue examinado para determinar su idoneidad para efectos de cumplimiento a excepción de una declaración hecha en una discusión de la cinética de la eliminación de la MV en el pescado, de que un método validado por Andersen *et al.*, (2006) fue usado para medir la suma de las concentraciones de la MV y la LMV en salmones tratados con MV. Los autores identificaron varios métodos de selección, cuantitativos y de confirmación con características funcionales definidas, pero, a excepción de los casos donde se indicó que los requisitos de sensibilidad superaban los límites mínimos de funcionamiento exigidos (MRPL) de la UE, no se presentaron conclusiones definitivas en cuanto a la idoneidad de ninguno de los métodos para el control reglamentario de la MV y la LMV.

[Ref: Andersen, Et. al., (2006). *Quantitative and confirmatory analyses of malachite green and leucomalachite green residues in fish and shrimp. J. Agric Food Chem.*, 54, 4517-4523]

**Monensina – Evaluada por la Dra. Lynn Friedlander (EE.UU.) y el Dr. Pascal Sanders (FR).**

En una reseña exhaustiva, los autores indicaron que varios métodos habían sido utilizados para generar datos de eliminación, pero resumieron las características funcionales del método para dos métodos recientemente elaborados y validados que fueron utilizados para estimar los LMR para la monensina en alimentos de origen animal, uno que utilizaba derivación post-columna y otro que utilizaba detección por espectrometría de masas de manera idónea para la vigilancia rutinaria:

- (a) Para vacunos / vacas, el LMR se estimó a partir de estudios de eliminación de medicamento no marcado realizados con un método validado de cromatografía líquida de alto rendimiento (CLAR) con derivación post-columna;

[Ref: Anon (sin fecha) *Analytical method AM-AA-CR-R152-AA-791 Determination of monensin in chicken tissues by HPLC using post-column derivatization. Remitido por patrocinador*]

- (b) Para pollos / gallinas y pavos, el LMR se estimó a partir de estudios de eliminación de medicamento no marcado realizados con un método validado de CLAR-EM/EM;

[Ref: Cordoc'h, S. (2007). *Non-clinical laboratory study (GLP): Validation of an HPLC-MS/MS method for the assay of monensin A in bovine muscle, liver, kidney, fat and milk. Unpublished study No A061485 from Avogadro, Fontenilles, France, Elanco Animal Health, a division of Eli Lilly and Company. Greenfield, IN. Remitido por patrocinador*]

- (c) Para la leche de vaca, el LMR se estimó a partir de estudios de eliminación de medicamento no marcado realizados con el método validado de CLAR-EM/EM.

[Ref: Cordoc'h, S. (2007). *Non-clinical laboratory study (GLP): Validation of an HPLC-MS/MS method for the assay of monensin A in bovine muscle, liver, kidney, fat and milk. Unpublished study No A061485 from Avogadro, Fontenilles, France, Elanco Animal Health, a division of Eli Lilly and Company. Greenfield, IN. Remitido por patrocinador*]

**El LC (basado en el patrón más bajo de la curva estándar) para el método validado para la leche de vaca fue 1/8 del LMR recomendado.**

**Narasina – Evaluada por la Dra. Betty San Martín (CHILE) y la Dra. Lynn Friedlander (EE.UU.).**

Los autores indicaron que se habían utilizado varios métodos tanto en estudios que cumplían con las buenas prácticas de laboratorio (BPL) como en estudios que no cumplían con las BPL para generar datos de eliminación de residuos para la narasina. Ellos citaron específicamente cinco métodos validados, dos

métodos de CLAR/UV con derivación post-columna y tres métodos CLAR-EM/EM que ellos dicen que pueden considerarse idóneos para la vigilancia rutinaria de residuos de medicamentos de la narasina en tejidos de pollos / gallinas y cerdos. A pesar de que los métodos no habían sido validados para los tejidos de vacunos / vacas, el Comité recomendó los mismos LMR en estado temporal para vacunos / vacas. En su evaluación, se recomienda el hígado o la grasa (según se disponga de éstos) como el tejido elegido como objetivo, y el medicamento de origen como el residuo marcador.

**El método validado de CLAR/UV tenía un LC de 25 µg/kg, que era ½ del LMR recomendado de 50 µg/kg para el hígado (o grasa) de pollos / gallinas o cerdos.**

[Ref: Method 1. Lacoste, E and Larvor, A (2003). Residue study in edible tissues of broiler chickens fed with narasin at 80 ppm for five consecutive days. European Animal Science Research. Elanco Animal Health, Division of Eli Lilly and Company, Report No T2NAFR0103. Remitido por patrocinador].

**El método validado de CLAR/UV tenía un LC de 7 µg/kg, que era ½ (0.5 veces) el LMR recomendado de 15 µg/kg para músculo y riñón de pollos / gallinas o cerdos.**

[Ref: Method 2. Ward, TL., Moran, JW., Turner, JM., and Coleman, MR. (2005). Validation of a method for the determination of narasin in edible tissues of chickens by liquid chromatography. J. AOAC Intl. 88, 95-101].

Es sorprendente observar que, aunque ambos métodos de CLAR/UV fueron validados para piel / grasa, músculo, hígado y riñón, los autores eligieron definir el LMR para el hígado en un método, y para riñón y músculo en otro método, sin ofrecer ninguna justificación para la elección del método. Además, a pesar de que los autores indicaron que los métodos de espectrometría de masas de detección y confirmación ofrecían buena especificidad y sensibilidad, sus LC (expresados en 1 µg/kg para hígado y huevos para uno de ellos) no fueron considerados para nada en la determinación de los LMR.

Nota: Antes de que el JECFA pueda iniciar una reevaluación para proponer LMR permanentes para los residuos de la narasina en vacunos / vacas, será necesario remitir al JECFA un método reglamentario validado con todas sus características funcionales antes de finales del 2010.

#### **Tilmicosina – Evaluada por el Dr. Shixin Xu (RPC) y el Dr. Dieter Arnold (ALEM).**

Se presentó una sección muy breve sobre métodos de análisis que identificaban un método validado de CLAR/UV para tejidos de pollos / gallinas y pavos con un LC de 60 µg/kg para hígado y riñón, y 25 µg/kg para músculo y grasa.

[Ref: Lily Method B04228 rev 7. Lily Laboratory Procedure for Method B04228 revision 7. Determination of tilmicosin residues in chicken, swine, cattle, and sheep edible tissues by HPLC. Remitido por patrocinador]

[Ref: Hawthorne, P (1999). Validation of an analytical method for the determination of tilmicosin residues in turkey liver, kidney, muscle and skin/fat samples. Unpublished Study No CEMS-1035 CEM Analytical Services, Berkshire, England for Elanco Animal Science Research, Lily Industries limited, Basingstoke, Reino Unido. Remitido por patrocinador].

Se proporcionó un método validado de CL-EM/EM con un LC de 25 µg/kg para evaluación.

[Ref: McCracken, B. (2007). Validation of the analytical method, "Method of analysis for the determination of tilmicosin in whole chicken by LC-MS/MS", Study P0002796 includes Appendix I Analytical Method V003516, Method of analysis for the determination of tilmicosin in whole chicken eggs by LC-MS/MS from MPI Research Inc., State College, PA, EE.UU. Remitido por patrocinador].

Para la tilmicosina, los datos del estudio del residuo marcador permitieron que se calcularan LMR para pollos / gallinas y pavos basados en los límites superiores de confianza unilaterales del 95% sobre el percentil 95 de las concentraciones de residuos.

	LMR (µg/kg) para tilmicosina			
	Músculo (LC)	Riñón (LC)	Hígado (LC)	Piel / Grasa (LC)
Pollos / gallinas	150 (25)	600 (60)	2400 (60)	250 (25)
Pavos	100 (25)	1200 (60)	1400 (60)	250 (25)
Huevo de gallina	Método validado de CL-EM/EM con un LC de 25 µg/kg			
Leche bovina y ovina	Método validado de CL/UV con un LC de 10 µg/kg			

### Triclabendazol – Evaluado por el Dr. Philip Reeves (AUS) y el Dr. Gerald Swan (SA).

En su 17ª reunión, el CCRVDF solicitó al JECFA que reevaluara los LMR para el triclabendazol en vacunos / vacas y ovejas. Aunque no se remitieron nuevos estudios farmacocinéticos o de metabolismo para evaluación, se remitieron tres nuevos estudios de residuos en vacunos / vacas usando una formulación de vertido. El Comité recomendó que:

- el residuo marcador es la suma de todos los residuos extraídos y convertidos a cetotriclabendazol;
- el hígado y el músculo son tejidos elegidos como objetivo adecuados;
- se calcularon LMR para hígado, riñón y músculo de vacunos / vacas y ovejas del límite superior de confianza unilateral del 95% sobre el percentil 95 de los residuos de cetotriclabendazol en el 28º día;
- el LC para el método validado fue ½ el LMR recomendado para la grasa;**
- los siguientes métodos de análisis se consideraron idóneos para el análisis rutinario de residuos de triclabendazol en vacunos / vacas y ovejas:

[Ref: Adams, S (2004b) Validation of analytical procedure no 193.F00. Tissue residue of triclabendazole, measured as CGA 110754, in cattle following repeated oral dosing with Fasinex 10%, Novartis Animal Health Australasia Pty ltd., Report No 04/02/1875, Study Y03/49.

Adams, S (2004c). Validation of analytical procedure no 193.F00. Determination of residues of triclabendazole in animal tissues by HPLC. Novartis Animal Health Australasia Pty ltd., Report No TR 04/05/1886, Study V03/57.

Adams, S (2005). Extended validation of analytical procedure no 193.F00. for sheep and cattle tissues. Novartis Animal Health Australasia Pty ltd., Report No TR 05/06/1945.

Dieterle, R., Kissling, M (1995). Validation of method REM 15/83: Determination of common moiety CGA 110754 in muscle, liver, kidney and fat of cattle as well as in muscle and liver of sheep after administration of 14C-CGA 89317 by HPLC. Ciba-Geigy Report on special study 132/94.

Giannone, C. (1983). Determination of total residues in tissues and fat of sheep and cattle. REM 3-38. Ciba-Geigy Limited.

Giannone, C., and Formica, G (1983). Determination of total residues in tissues and fat. REM 15/83. Ciba-Geigy Limited.

Study No AA031 (2001), Determination of tissue residues following treatment of cattle with an abamectin/triclabendazole pour-on formulation. Patrocinador: M. Forster, Ancare NZ Limited. Director del estudio, B. Chick, Veterinary Health Research Pty Ltd., West Armidale, Australia, Laboratory Amdel New Zealand Ltd., Auckland, NZ.

Study No ANT1274 (2002). Determination of tissue residues in beef cattle following administration of an abamectin and triclabendazole pour-on formulation. Patrocinador: M. McArthur, Ancare NZ Limited. Director del estudio, M. Chambers, Veterinary Health Research Pty Ltd., West Armidale, Australia, Laboratory: D. Hennessy, VHR Analytical Laboratory, North Ryde, Australia.]

	LMR ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )			
	Hígado (LC)	Riñón (LC)	Músculo (LC)	Grasa (LC)
Vacunos / vacas	850 (74)	400 (58)	250 (36)	100 (20)
Ovejas	300 (24)	200 (34)	200 (41)	100 (42)

**Tilosina – Evaluada por el Dr. Jack Lewicki (POL), el Dr. Philip Reeves (AUS) y el Dr. Gerald Swan (SA).**

Los autores reconocieron que, además de los datos generados a partir de estudios radiomarcados, varios métodos de CLAR/UV o CLAR-EM/EM para la tilosina A fueron remitidos al JECFA para examen. El JECFA solamente evaluó los métodos que habían sido completamente validados para la tilosina. Este método descrito por Roberts, “método de CL-EM/EM para la determinación de residuos de tilosina A en tejidos comestibles de pollos / gallinas y en huevos con un LC de 50 g/kg para hígado, riñón, músculo y piel / grasa” y de 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  para huevos, fue el único considerado como idóneo para el análisis rutinario de residuos de tilosina A en tejidos comestibles de pollos / gallinas y en huevos.

[Ref: Roberts, S (2007). *Validation of an analytical method for the determination of tylosin in chicken liver, kidney, muscle, skin with fat and in eggs. Analytical method No 1610. Study No 211608. Charles River Laboratories, Tranent, Edinburgh, Reino Unido, Remitido por patrocinador*]

Los autores comentaron que este método podría extenderse fácilmente a otras matrices y que es un método idóneo para el análisis reglamentario de la tilosina A en tejidos comestibles de vacunos / vacas, cerdos, pollos / gallinas y en leche y huevos.

Los autores también estudiaron varios métodos validados disponibles en publicaciones del ámbito público para el análisis de residuos de tilosina en: -

**piensos** [Ref: Peng, Z., & Bang-Ce, Y (2006). *Small molecule micro arrays for drug residue detection in feedstuffs. J. Agric Food Chem., 54, 6978-6983.* Gonzalez de la Huebra et al (2007). *Sample preparation strategy for the simultaneous determination of macrolides antibiotics in animal feeding stuffs by liquid chromatography with electrochemical detection (HPLC-ELCD). J. Pharm. Biomed. Anal., 43, 1628-1637.*; Vincent et. al., (2007). *Validation of an analytical method for the determination of spiramycin, virginiamycin and tylosin in feeding stuffs by TLC and bioautography. J Food Add. Contam., 24, 351-359*],

**líquidos biológicos y tejidos animales** [Ref: Garcia-Mayor et. al., (2006). *Liquid chromatography UV diode array detection method for multi-residue determination of macrolides antibiotics in sheep's milk. J. Chromatogr. A., 1122, 76-83.*; Tang et. al., (2006). *High throughput screening for multi-class veterinary drug residues in animal muscle using LC-tandem mass spectrometry with on-line solid phase extraction. Rapid Commun. Mass Spectrometry 20, 2565-2572.*; Wang et. al., (2006). *Determination of five macrolides antibiotic residues in raw milk using LC-electrospray ionization tandem mass spectrometry. J. Agric Food Chem., 54, 2873-2880*],

**miel** [Ref: Wang, J. (2004). *Determination of five macrolides antibiotic residues in honey by LC-ESI-MS and LC-ESI-MS/MS. J. Agric Food Chem., 52, 171-181*; Benetti, C., et. al., (2004). *Unauthorised antibiotic treatments in beekeeping. Development and validation of a method to quantify and confirm tylosin residues in honey using LC-tandem mass spectrometric detection. Anal. Chim. Acta, 520, 87-92.*; Caldow, M., et. al., (2005). *Development and validation of an optical SPR biosensor assay for tylosin residues in honey. J. Agric Food Chem., 53, 7367-7370.*; Thompson, TS., et. al., (2005). *Determination of lincomycin and tylosin residues in honey by LC-tandem mass spectrometry. Rapid Commun. Mass Spectrometry., 19, 309-316.*; Nalda, MJN., et. al., (2006). *Trace analysis of antibacterial tylosin A, B, C and D in honey by LC-electrospray ionization-mass spectrometry. J. Sep. Sci. 29, 405-413.*; Thompson, TS., et. al., (2007). *Degradation of incurred tylosin to desmycosin – implications for residue analysis for honey. Anal. Chim. Acta, 586, 304-311.*; Hammel, YA., et. al., (2008). *Multi-screening approach to monitor and quantify 42 antibiotic residues in honey by LC-tandem mass spectrometry. J. Chromatogr. A., 1177, 58-76.*] pero no hicieron comentarios en cuanto a su idoneidad o sobre la vigilancia del cumplimiento.

**Los métodos validados tenían un LC de 50 g/kg, que es ½ de los LMR recomendados para la leche y los tejidos de origen animal.**

	LMR (µg/kg)					
	Riñón (LC)	Hígado (LC)	Músculo (LC)	Piel / Grasa (LC)	Leche (LC)	Huevos (LC)
Vacunos / vacas	100 (50)	100 (50)	100 (50)	100 (50)	100 (50)	
Cerdos	100 (50)	100 (50)	100 (50)	100 (50)		
Pollos / gallinas	100 (50)	100 (50)	100 (50)	100 (50)		300 (100)

## **ANEXO II: PROYECTO DE DIRECTRICES DEL CCRVDF PARA LA ELABORACIÓN DE CARACTERÍSTICAS FUNCIONALES PARA EL ANÁLISIS DE RESIDUOS MÚLTIPLES**

### **ÍNDICE**

	Párrafos
Antecedentes	1-3
Introducción	4-6
Ámbito de aplicación	7-10
Criterios funcionales de los métodos de análisis	11-37
Características funcionales de los métodos de selección	11-14
Características funcionales de los métodos cuantitativos	15-25
Características funcionales de los métodos de confirmación	26-37
Características funcionales generales a utilizarse en un programa de control reglamentario	38-41
Otras consideraciones	42-45
Expresión de los resultados	46
Tablas 1 a 5	
Glosario de términos	
Abreviaciones	

## Antecedentes

1. La Comisión del Codex *Alimentarius* (CAC) adoptó en el 2008 las Directrices para el diseño y la implementación de programas nacionales reglamentarios de aseguramiento de inocuidad alimentaria relacionados con el uso de medicamentos veterinarios en los animales destinados a la producción de alimentos (CAC/GL 71-2009). Estas directrices se diseñaron para incluir una orientación general sobre la validación de métodos de análisis a utilizarse con analitos individuales bajo condiciones de una validación realizada por un solo laboratorio (tal como se describe en el documento CAC/GL 71-2009) y para ser actualizadas según fuera necesario para permitir su extensión para abarcar otras áreas pertinentes.
2. El CCRVDF, en su 18ª reunión, reconoció que las prácticas actuales en los laboratorios de análisis que realizan estos análisis consistían en utilizar métodos para residuos múltiples siempre que fuera posible para aumentar la eficacia de los laboratorios manteniendo al mismo tiempo los costos de análisis a un mínimo. No obstante, en la misma reunión también se reconoció que existía una orientación muy limitada sobre las características funcionales de los métodos de análisis para residuos múltiples. El objetivo de este documento de orientación es abordar esta necesidad.
3. Se reconoce que los países en desarrollo podrían necesitar un período de transición y/o asistencia técnica al intentar utilizar estas directrices.

## Introducción

4. Los métodos de análisis para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos deberán ser capaces de detectar fiablemente la presencia de un medicamento veterinario de interés o preocupación (métodos de selección), cuantificar qué cantidad está presente (métodos cuantitativos) e identificar sin duda alguna al medicamento (métodos de confirmación). Cuando se ha utilizado un método de análisis para determinar que se ha superado el límite máximo de residuos (LMR) definido para un medicamento veterinario aprobado, es imperativo que los resultados de las pruebas sean confirmados antes de que se tomen medidas reglamentarias. Las medidas reglamentarias podrían incluir negar la entrada del producto al mercado, destruir el producto y/o la imposición de sanciones pecuniarias. En los casos donde el medicamento veterinario detectado no esté permitido o se prohíba su uso en ese producto porque no se ha definido una ingesta diaria admisible (IDA) ni LMR por motivos toxicológicos, la detección de dicho medicamento en cualquier concentración debería ser confirmada, ya que esta conclusión podría resultar automáticamente en medidas reglamentarias.
5. En los documentos de directrices técnicas publicadas por la CAC para ayudar a los países que participan en el control de las importaciones y exportaciones de alimentos en la aplicación de requisitos para el comercio de productos alimentarios, a fin de proteger al consumidor y facilitar el comercio, se recomienda que los laboratorios que participen en análisis reglamentarios “cumplan con la guía ISO/IEC 17025:2005 - Requisitos generales de competencia para laboratorios de calibración y ensayo”. Los laboratorios también deberían participar en planes adecuados de pruebas de competencia para el análisis de alimentos, que se ajusten a los requisitos establecidos en el “Protocolo internacional armonizado de pruebas de competencia para laboratorios de análisis (químicos)” y, siempre que se disponga de ellos, usar métodos de análisis que hayan sido validados con arreglo a los principios establecidos por la CAC (véase el documento CAC/GL 27-1997). Además, los laboratorios deberán usar procedimientos de control interno de la calidad que se ajusten a procedimientos tales como los descritos en “The Harmonized Guidelines for Internal Quality Control in Applied Chemistry Laboratories”. La sección 5.4.5 ISO/IEC 17025:2005 presenta una orientación general para el uso de métodos de validación.
6. Los métodos de análisis validados son métodos con parámetros operativos característicos definidos que han sido determinados (sometidos a una evaluación independiente) a ser “idóneos para la finalidad prevista” en un ambiente reglamentario. En este documento de orientación se examinan los atributos de los métodos de análisis utilizados para una gama de sustancias en el mismo análisis, así como los requisitos que deberán satisfacer antes de que puedan considerarse idóneos para usarse en programas de control reglamentario para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos.



## Ámbito de aplicación

7. Si bien algunos programas para el control de residuos pudieran incluir grupos de analitos adicionales tales como plaguicidas y contaminantes ambientales, esta orientación se ha preparado específicamente para tratar solamente el tema de los residuos de medicamentos veterinarios.

8. El CCRVDF preparó una orientación sobre la validación realizada por un solo laboratorio de métodos para analitos individuales (CAC/GL 71-2009). Sin embargo, para aumentar la eficacia y el rendimiento en cuanto al procesamiento de muestras, muchos laboratorios están recurriendo al uso de métodos de análisis para residuos múltiples. Los métodos de análisis para residuos múltiples son métodos que pueden utilizarse para la detección de múltiples analitos de la misma o diferente clase. Para los efectos del presente documento, un método de análisis para residuos múltiples se considera un método cuyo ámbito de aplicación incluye tres o más analitos en la misma clase o en más de una clase de medicamentos veterinarios. Los laboratorios utilizan estos métodos más comúnmente para seleccionar muestras para la detección de la posible presencia de medicamentos veterinarios en las muestras, pero también pueden usarse tanto para análisis cuantitativos como de confirmación. Por lo tanto, esta orientación abarcará los tres tipos de análisis.

9. Los principios descritos en esta sección se consideran prácticos y adecuados para la determinación de las características funcionales de los métodos de análisis para residuos múltiples para el uso en programas de control reglamentario, y están basados en las recomendaciones elaboradas por una consulta de AOAC/FAO/OIEA celebrada en Miskolc, Hungría, en 1999 ([http://www.iaea.org/programmes/rifa/trc/pest-qa\\_val\\_guide.pdf](http://www.iaea.org/programmes/rifa/trc/pest-qa_val_guide.pdf), y en A. Fajgelj & A. Ambrus Principles and Practices of Method Validation, Royal Society of Chemistry, 2000). Todas, o un subgrupo de estas mismas características funcionales, pueden usarse para evaluar, durante la validación de un método, si el método es o no adecuado (“idóneo para la finalidad prevista”) para usarse en un ambiente reglamentario. Por las razones anteriores, la información que se presenta posteriormente en la Tabla 5 (que fue un producto de la consulta de Miskolc celebrada en 1999 [http://www.iaea.org/trc/pest-qa\\_val\\_annex2.pdf](http://www.iaea.org/trc/pest-qa_val_annex2.pdf)) ha sido retenida intacta puesto que es la orientación más reciente y exhaustiva pertinente al trabajo de este grupo sobre residuos de medicamentos veterinarios, que es importante tanto para la validación de métodos de análisis como para la derivación de las características funcionales.

10. La UE publicó recientemente una orientación para la validación y el control de calidad (Documento N°. SANCO/10684/2009) para los análisis de residuos de plaguicidas. El documento de la UE abarca los métodos de análisis para residuos múltiples principalmente para los análisis de confirmación pero también aborda los métodos de análisis de selección para residuos múltiples usando la espectrometría de masas. Algunos aspectos del documento SANCO/10684/2009 fueron incorporados en este documento, donde fue apropiado.

## Características funcionales de los métodos de análisis

### Características funcionales de los métodos de selección

*[NOTA: aunque las siguientes secciones describen las características funcionales para los métodos de selección, cuantitativos y de confirmación en general, debe quedar claro que estas características funcionales deberán definirse y medirse para cada analito enumerado en el ámbito de aplicación del método para residuos múltiples completamente optimizado. El mejor momento para hacer esto es después de que se haya determinado que la elaboración y/o la modificación del método han sido terminadas y que el método no va a ser sometido a ningún cambio ni modificación adicional. En este respecto, los conceptos implicados son muy similares a aquellos descritos en documentos de orientación para la determinación de las características funcionales de un analito en un método para un solo analito].*

11. Los métodos de selección son habitualmente de carácter cualitativo o semicuantitativo y a menudo abarcan una gama de analitos; su objetivo es distinguir las muestras que no contienen residuos detectables por debajo de cierta sensibilidad o concentración de detección (“muestras negativas”) de aquellas que pudieran contener residuos que sobrepasen ese valor (“muestras positivas”). La estrategia de validación, por lo tanto, se enfoca en el establecimiento de una concentración de detección arriba de la cual los resultados son “positivos”, la determinación de un índice estadísticamente fundamentado para resultados tanto “positivos falsos” como “negativos falsos”, la evaluación de interferencias y el establecimiento de las condiciones de uso adecuadas.

12. La concentración de detección para la prueba de un compuesto específico se establece al realizar experimentos de concentración y respuesta, utilizando típicamente 30 duplicados (de por lo menos seis fuentes) enriquecidos en cada una de una serie de concentraciones cada vez mayores. Una vez que se han establecido las concentraciones donde los 30 duplicados dan una respuesta negativa y los 30 duplicados dan una respuesta positiva, el experimento se repite utilizando los materiales de matriz testigo enriquecidos en cuatro concentraciones separadas a intervalos uniformes entre las concentraciones que dieron “todas las respuestas negativas” y “todas las respuestas positivas”. Un grupo adicional se analiza a una concentración 20 por ciento superior a la concentración que dio “todas las respuestas positivas”. El análisis estadístico de los resultados permite al usuario establecer una concentración de detección fiable en el límite de confianza requerido (usualmente del 95 por ciento).<sup>1</sup>

13. En el caso de las pruebas de selección, particularmente en aquellas en las que se utilizan tecnologías de equipo de ensayo, el término “*concentración de detección o sensibilidad de detección*” se refiere a la concentración más baja en la que se puede detectar con fiabilidad un analito elegido como objetivo dentro de límites estadísticos definidos. Por ejemplo, en el *AOAC Performance Tested Program*™ para equipos de ensayos, se requiere que, a fin de cumplir con el mínimo requisito para la sensibilidad de un índice del 90% con un nivel de confianza del 95%, un mínimo de 30 materiales de muestra exentos de residuos (de preferencia tomados de por lo menos 6 fuentes distintas) enriquecidos con el analito o analitos de interés en la concentración elegida como objetivo, deberían todos producir un resultado positivo. 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 repetirse, y dos resultados negativos constituirían entonces una falla. Se debería repetir el experimento con material conocido dosificado en la concentración elegida como objetivo, si dicho material se encontrara disponible. También pueden utilizarse otros enfoques, tal como la orientación publicada por la UE sobre pruebas de selección ([http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/Guideline\\_Validation\\_Screening\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/Guideline_Validation_Screening_en.pdf)).

14. La “*selectividad*” de un método de selección se refiere a la capacidad de la prueba para determinar que las muestras que resultan en una respuesta negativa son, de hecho, negativas. La prueba también debe tener la capacidad de distinguir la presencia del compuesto o grupo de compuestos elegido como objetivo, de otras sustancias que pudieran estar presentes en el material de muestra. Ésta no es normalmente tan grande como aquella de un método cuantitativo, porque los métodos de selección con frecuencia aprovechan alguna característica estructural que es común a un grupo o clase de compuestos. Estos métodos, que generalmente corresponden a la categoría de métodos de selección, están frecuentemente fundamentados en la inhibición del crecimiento microbiológico, inmunoensayos o respuestas cromógenas que quizás no identificarían claramente a un compuesto. La selectividad de un método de selección podría incrementarse cuando se utiliza como un sistema de detección después de aplicar una técnica cromatográfica o alguna otra técnica de separación. Para demostrar una tasa de selectividad de por lo menos el 95 por ciento con un nivel de confianza del 95 por ciento (lo cual se recomienda para las pruebas de selección), se realizan 60 análisis repetidos en materiales representativos de matriz de muestra testigo de un mínimo de seis fuentes distintas. Todos los resultados deberían ser negativos. Entonces se podrían realizar pruebas adicionales para detectar posibles interferencias y reactividad cruzada al evaluar material de matriz testigo enriquecido con sustancias que tienen posibilidades de causar interferencia, tales como otros medicamentos que pudieran utilizarse en el tratamiento de animales, posibles contaminantes ambientales, metabolitos de medicamentos o compuestos químicos afines. Nuevamente, estas respuestas deberían ser negativas cuando estos compuestos estén presentes en concentraciones que pudieran ser razonablemente previstas en una muestra.

#### Características funcionales de los métodos cuantitativos

15. La *selectividad*, es la capacidad de un método de análisis de detectar y distinguir 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 funcionales de los métodos utilizados en los programas de control reglamentario para los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. Hay dos aspectos que deben tomarse en consideración, la capacidad del método de proporcionar una respuesta de 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 duda la respuesta de

---

<sup>1</sup> Finney, D.J. 1978. *Statistical method in biological assay*. 3rd edition. New York, EE.UU., MacMillan Publishing Co.

una señal como una respuesta exclusivamente relacionada con un compuesto específico. Para un método cuantitativo, el requisito es que la señal utilizada para la cuantificación debería estar relacionada solamente con el analito elegido como objetivo y no contener contribuciones para los materiales coextraídos. Los análisis cromatográficos basados en picos que no tienen una buena resolución proporcionan resultados cuantitativos menos fiables. El uso de detectores para elementos específicos, longitudes de onda de detección o detectores selectivos de masas que son más específicos a un compuesto o estructura particular, junto con la separación cromatográfica, mejoran la selectividad de los métodos cuantitativos para el análisis de los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos.

[NOTA: debería pedirse que se recaben y examinen datos para determinar si el 5 % (criterios para positivos falsos / negativos falsos) que se aplica a los métodos para analitos individuales puede extenderse sin riesgo a los métodos para residuos múltiples].

16. Además de la selectividad de un método, también se debe demostrar la capacidad del método para proporcionar un resultado cuantitativo que es fiable. Esto consiste en dos factores:

- el grado de coincidencia entre el resultado y el valor verdadero de la concentración del analito presente en el material de muestra, expresado como *exactitud*, *veracidad* o *sesgo*; y
- la capacidad del método para proporcionar resultados con alto grado de coincidencia en determinaciones independientes (o valor aceptado en el caso de un material de referencia), expresada como *precisión* (*repetibilidad* y *reproducibilidad*). Los datos de precisión pueden utilizarse para calcular la propagación del error experimental (es decir, la incertidumbre de la medición, IM) para el método.

17. Se recomienda que los métodos utilizados para respaldar los LMR del Codex cumplan con los valores normalizados especificados para la veracidad y la precisión enumerados en la Tabla 1 [*sujetos a verificar, después de recopilar y examinar una base de datos actuales grande, que los límites todavía son útiles*], donde  $CV_A$  se refiere al coeficiente de variación determinado por las porciones de ensayo de matriz testigo enriquecida antes de la extracción y  $CV_L$  es la variabilidad del laboratorio en general que incluye una estimación del 10 por ciento para la variabilidad del procesamiento de la muestra.<sup>2</sup>

18. La *exactitud* de un método podría determinarse mediante el análisis de un material de referencia certificado, al comparar los resultados con aquellos obtenidos con otro método para el que los parámetros funcionales han sido rigurosamente establecidos con anterioridad (típicamente, un método estudiado en colaboración) o, a falta de materiales de referencia o de métodos validados por un estudio entre laboratorios, mediante la determinación de la *recuperación* de un analito con el que se enriqueció un material de muestra testigo conocido. La determinación de la exactitud como recuperación se utiliza frecuentemente en la validación de métodos para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos, debido a que tanto los materiales de referencia certificados como los métodos validados por un estudio entre laboratorios no están a menudo disponibles. La exactitud de una medición está estrechamente relacionada con el *error sistemático* (sesgo del método de análisis) y con la recuperación del analito (medida como un porcentaje de recuperación). Los requisitos de los métodos en materia de exactitud variarán según el uso reglamentario previsto de los resultados. La exactitud debería ser detenidamente caracterizada a concentraciones próximas al LMR o a la concentración elegida como objetivo para los efectos de las medidas reglamentarias (típicamente a concentraciones de 0.5 a 2.0 veces la concentración elegida como objetivo) para asegurar que la medida reglamentaria se aplique solamente a las muestras que contienen residuos que sobrepasan el límite impuesto por la medida reglamentaria cuando esto puede demostrarse con una confianza estadística definida.

19. La *recuperación* se expresa habitualmente como el porcentaje del analito determinado experimentalmente después de la fortificación del material de muestra a una concentración conocida, y debería evaluarse a lo largo de concentraciones que cubren la escala analítica del método. En la interpretación de recuperaciones, es necesario reconocer que es posible que el analito añadido a una muestra no se comporte de la misma manera que el mismo analito acumulado biológicamente (residuo de medicamento veterinario). En muchas situaciones, la cantidad de un residuo dosificado o acumulado que es

---

<sup>2</sup> Alder, L., Holland, P.T., Lantos, J., Lee, M., MacNeil, J.D., O'Rangers, J., van Zoonen, P. & Ambrus, A. 2000. *Guidelines for single-laboratory validation of analytical methods for trace-level concentrations of organic chemicals* (disponible en [http://www.iaea.org/trc/pest-qa\\_val2.htm](http://www.iaea.org/trc/pest-qa_val2.htm)).

extraído (el producto o la fracción recuperada) es menor que la cantidad total de residuos dosificados o acumulados que se encuentra presente. Esto podría ser el resultado de pérdidas que ocurren durante la extracción, la unión intracelular de los residuos, la presencia de conjugados u otros factores que no son totalmente representados por los experimentos de recuperación realizados con los tejidos testigo enriquecidos con el analito. A concentraciones relativamente altas, se prevé que las recuperaciones analíticas se aproximen a un cien por ciento. A concentraciones menores, particularmente con métodos que incluyan extracción, aislamiento y pasos de concentración considerables, las recuperaciones podrían ser menores. Independientemente de cuál sea el promedio de recuperación observado, se desea la recuperación con una variabilidad baja, de manera que se pueda hacer una corrección fiable correspondiente a la recuperación para el resultado final, cuando sea necesario. Las correcciones de recuperación deberían aplicarse de conformidad con los criterios establecidos en la orientación proporcionada por la Comisión del Codex Alimentarius (CAC/GL 37-2001).

20. La *precisión*, que cuantifica la variación entre las mediciones duplicadas de las porciones de ensayo del mismo material de muestra, es también una consideración importante para determinar cuándo se considera que el residuo en una muestra sobrepasa un LMR o algún otro límite impuesto por las medidas reglamentarias. La precisión de un método suele expresarse en función de la variación intra-laboratorio (*repetibilidad*) y la variabilidad entre laboratorios (*reproducibilidad*) cuando el método ha sido sometido a un estudio realizado por varios laboratorios. Para la validación de un método realizada por un solo laboratorio, se debería determinar la precisión a partir de experimentos realizados en días diferentes, utilizando un mínimo de seis grupos de tejidos diferentes, lotes de reactivos diferentes, de preferencia con diferente equipo, etc., y, de preferencia, por analistas diferentes. La precisión de un método suele expresarse como la desviación estándar. Otro término útil es la desviación estándar relativa, o el coeficiente de variación (la desviación estándar, dividida entre el valor absoluto de la media aritmética). Puede ser expresada como un porcentaje al multiplicar la magnitud por cien.

*[NOTA: deberían pedirse, recabarse e interpretarse datos para determinar si las escalas actuales de recuperación, así como también las escalas para la aceptabilidad de la veracidad representadas en la Tabla 1 son todavía aceptables o si necesitan revisarse considerablemente].*

21. Por lo general, los métodos cuantitativos están fundamentados en una comparación de la respuesta de un analito en una muestra frente a la respuesta de patrones del analito en solución a concentraciones conocidas. En la elaboración y la validación del método, primero se debería determinar la curva de calibración para evaluar la respuesta del detector a patrones a lo largo de una escala de concentraciones. Estas concentraciones (un mínimo de cinco, más el testigo) deberían abarcar la escala de interés analítico completa, y la curva resultante debería expresarse estadísticamente. Sin embargo, aunque la inclusión de un testigo adecuado con las muestras de calibración es una práctica recomendada, esto no implica que sea aceptable aplicar extrapolaciones en la región de la curva inferior al patrón más bajo, para obtener un resultado cuantitativo. La función analítica relaciona la respuesta para el analito recuperado del material de muestra en varias concentraciones a lo largo de la escala de interés analítico. Para los analitos para los que se ha establecido un LMR o un límite de medidas reglamentarias en un material de muestra particular (matriz), la respuesta es típicamente determinada para un material de muestra testigo conocido y para un material de muestra testigo conocido enriquecido en una escala de concentraciones superiores e inferiores al LMR (se recomienda el uso de 6 distintas fuentes de materiales testigo).

22. Los datos del experimento de la función analítica también pueden ser utilizados para calcular la recuperación analítica en cada concentración, y son de particular importancia cuando la presencia de coextractantes de la matriz modifica la respuesta del analito en comparación con los patrones analíticos. La *linealidad* se determina a partir de los experimentos de la función analítica y es la expresión estadística de la curva obtenida para el análisis de los materiales de muestra enriquecidos en las concentraciones elegidas como objetivo. Se determina típicamente de un análisis de regresión lineal de los datos, siempre que una evaluación de los datos determina que éstos satisfacen los requisitos para una regresión lineal. Es cada vez más común en los métodos de análisis para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos, el basar la determinación cuantitativa en una curva estándar preparada mediante la adición de un patrón a un testigo conocido del material representativo de la matriz antes de la extracción del analito, en una escala de concentraciones adecuadas que abarcan el valor elegido como objetivo (la función analítica). El uso de una

“curva estándar de tejidos” de tal índole para la calibración, incorpora una corrección de la recuperación en los resultados analíticos obtenidos.

23. También es necesario establecer los límites inferiores en los que la detección, cuantificación o confirmación fiable de la presencia de un analito pueda realizarse utilizando un método de análisis en particular. El *límite de detección (LD)* puede describirse en términos prácticos como la concentración más baja donde el analito puede detectarse (pero es posible que no pueda identificarse o confirmarse) en una muestra. Puede estimarse utilizando la desviación estándar ( $s_{y/x}$ ) del análisis de regresión lineal de la curva estándar generada en el experimento de la función analítica descrito anteriormente.<sup>3</sup> Con el uso de este enfoque, el límite de detección se calcula utilizando la ordenada en el origen (suponiendo un valor positivo) de la curva más tres veces el valor de  $s_{y/x}$ . Este enfoque proporciona una estimación moderada del límite de detección. El límite de detección también puede estimarse mediante mediciones en materiales de ensayo representativos como la respuesta relevante más débil del analito en el testigo más tres veces su desviación estándar. Con frecuencia, es necesario enriquecer los materiales de ensayo a una concentración que resulta en una respuesta apenas detectable para obtener una aproximación de la desviación estándar del testigo cuando se utiliza este enfoque.

24. El *límite de cuantificación (LC)* puede establecerse a partir de los mismos experimentos utilizando la ordenada en el origen de la curva más diez veces el valor de  $s_{y/x}$ . En el caso de los métodos utilizados para respaldar los LMR establecidos por la Comisión del Codex Alimentarius, el LC debería cumplir con los criterios de precisión y exactitud (recuperación) en la Tabla 1 (sujetos a revisión) y debería ser igual o menor que la mitad del valor del LMR. Sin embargo, cuando el LC de un método es menor que las concentraciones reales vigiladas para determinar el cumplimiento con un LMR, la validación y la aplicación ulterior del método deberían basarse en el *nivel calibrado más bajo (NCMB)*, que es típicamente 0.5 veces el valor del LMR. Para los efectos de un programa reglamentario, los límites de detección y de cuantificación son parámetros importantes cuando el método será aplicado para estimar exposiciones a residuos, donde pudiera haber un interés en la vigilancia de residuos a concentraciones inferiores al LMR, o cuando se aplican análisis de residuos para sustancias para las que no hay IDA ni LMR establecidos. Para la vigilancia del cumplimiento con un LMR, es importante que se incluya en el análisis un NCMB, que demuestre adecuadamente que la concentración del LMR puede ser fiablemente determinada. El NCMB de un método utilizado para respaldar un LMR no debería ser menor al LC. En el *Manual de Procedimiento del Codex* se recomienda el término *límite de determinación* en la sección de “Términos que han de utilizarse en el enfoque por criterios”.

25. La consulta de Miskolc en 1999 reconoció que podrían aplicarse otros enfoques a la validación de métodos, e incluyó los términos "límite de adopción de decisiones" ( $CC\alpha$ ) y "capacidad de detección" ( $CC\beta$ ) en su examen. Estos términos se definen en el glosario incluido al final de presente documento, y han sido adoptados para su uso en algunas jurisdicciones, p. ej., en la Unión Europea bajo la Decisión 2002/657/EC de la Comisión Europea, y deberían aceptarse como una alternativa al uso de los términos LD y LC.

#### Características funcionales de los métodos de confirmación

26. Cuando se llevan a cabo análisis con fines de vigilancia o aplicación reglamentaria, es especialmente importante que se generen datos de confirmación antes de dar un informe sobre muestras que contienen residuos de medicamentos veterinarios que normalmente no están asociados con ese producto, o cuando parece que se han superado los LMR. Las muestras pueden contener sustancias químicas que interfieren en el análisis, y que pudieran ser identificadas erróneamente como medicamentos veterinarios. Como primer paso, debería repetirse el análisis usando el mismo método, si sólo se analizó una porción inicialmente. Esto proporcionará una prueba de la repetibilidad del resultado, si el residuo es confirmado. Debería tomarse nota de que la única prueba que respalda la ausencia de residuos detectables es proporcionada por los datos de la idoneidad del funcionamiento del sistema que se ejecutan simultáneamente con la muestra de interés.

27. Las pruebas de confirmación pueden ser cuantitativas y/o cualitativas pero, en la mayoría de los casos, se necesitarán ambos tipos de información. Se plantean problemas específicos cuando se deben confirmar los

---

<sup>3</sup> Miller, J.C. & Miller, J.N. 1993. *Statistics for analytical chemistry*. 3rd Edition. Chichester, Reino Unido, Ellis Horwood Ltd.

residuos en el límite de cuantificación o próximos al mismo, pero aunque es difícil cuantificar residuos en esta concentración, es esencial que se confirme adecuadamente tanto la concentración como la identidad.

28. La necesidad de pruebas de confirmación podría depender del tipo de muestra o de historial conocido. En algunos productos se encuentran con frecuencia determinados residuos. Tratándose de una serie de muestras de origen similar, que contenga residuos del mismo medicamento veterinario, quizás baste con confirmar la identidad de los residuos en una pequeña porción de las muestras, tomada al azar. En los casos donde se disponga de muestras “testigo”, éstas deberían usarse para comprobar la presencia de posibles sustancias que interfieran en el análisis con la especie y matriz de interés.

29. Dependiendo de la técnica de determinación inicial, otro procedimiento que pudiera ser una técnica de detección distinta, podría ser necesario para comprobar la cantidad. Para una confirmación cualitativa (identidad), es conveniente el uso de datos de espectrometría de masas, o una combinación de técnicas basadas en distintas propiedades fisicoquímicas (véase la Tabla 3).

30. Los pasos necesarios para lograr una identificación positiva dependen del criterio del analista, debiendo prestarse atención particular a la elección de un método que reduzca al mínimo los efectos de compuestos que interfieren en el análisis. Las técnicas que se elijan dependerán de la disponibilidad de experiencia e instrumentos adecuados con los que se cuente en el laboratorio de ensayo. En la Tabla 3 se presentan procedimientos alternativos para la confirmación.

31. La *selectividad*, la capacidad del método de identificar inequívocamente una señal de respuesta como exclusivamente relacionada con un compuesto específico, es la consideración primaria en los métodos de confirmación. Ciertas técnicas instrumentales, tales como la espectroscopia por rayos infrarrojos de Fourier o la espectrometría de masas, pueden ser lo suficientemente selectivas como para ofrecer una identificación inequívoca. Éstas son frecuentemente las técnicas en las que se basan los métodos de confirmación.

32. Por lo general, se requiere un mínimo de cuatro puntos de identificación para cumplir con los criterios funcionales aceptados para los métodos reglamentarios. No obstante, la confianza en la identificación aumentará con un número mayor de puntos de identificación, y algunos laboratorios podrían elegir usar un número mayor al mínimo de cuatro. Las Tablas 1a y 1b presentan el plan de puntos de identificación publicado en la Decisión 2002/657/EC de la Comisión Europea. Se considera que los métodos fundamentados en la espectrometría de masas de alta resolución dan una fiabilidad mayor por medio de mediciones de masa más precisas que la que puede obtenerse utilizando técnicas de espectrometría de masas de baja resolución. Los requisitos funcionales del método para los métodos de confirmación fundamentados en cromatografía de gases / espectrometría de masas (CG/EM) de baja resolución y en cromatografía de líquidos / espectrometría de masas (CL/EM) de baja resolución, según su publicación en la Decisión 2002/657/EC de la Comisión Europea y por un órgano internacional de expertos,<sup>4</sup> se presentan en la Tabla 2 [sujetos a revisión].

*[Podrían pedirse, recopilarse y examinarse datos para determinar si los límites definidos en la Tabla 3 todavía son aceptables y adecuados].*

33. Se considera que se debería asignar un punto de identificación a cada fragmento iónico estructuralmente importante detectado por medio de un método de espectrometría de masas de baja resolución. Cuando se utiliza un instrumento en serie de baja resolución, tal como un espectrómetro de masas de “triple cuadrípolo”, los fragmentos secundarios se detectan a partir de un fragmento primario aislado en la primera fase del instrumento. El hecho de que estos fragmentos estructuralmente importantes se produzcan a partir de la fragmentación de un fragmento principal (ión precursor) relacionado con la molécula, proporciona un nivel de confianza mayor, y a cada ión secundario de transición se le asigna un valor de 1.5 puntos de identificación. El conjunto de un ión precursor y de dos iones secundarios de transición proporciona los 4 puntos de identificación necesarios cuando se utilizan instrumentos de EM/EM de baja resolución en un método de confirmación.

34. Se proporciona un nivel de confianza adicional cuando se utilizan los espectrómetros de masas de alta resolución en un método de confirmación, puesto que la alta resolución proporciona una identificación más

---

<sup>4</sup> Bethem, R., Boison, J.O., Gale, J., Heller, D., Lehotay, S., Loo, J., Musser, S., Price, P. & Stein, S. 2003. Establishing the fitness for purpose of mass spectrometric methods. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 14(5): 528–541.

precisa de la masa y puede utilizarse para predecir la composición elemental de cada fragmento. En el caso de un solo espectrómetro de masas de alta resolución, a cada fragmento estructuralmente importante detectado se le asigna un valor de dos puntos de identificación, mientras que a los iones secundarios de transición que se generan en los experimentos de EM/EM de alta resolución se les asigna un punto de identificación con un valor de 2.5 cada uno. Además, se debe medir por lo menos un índice iónico para eliminar la posibilidad de fragmentos de la misma masa que surjan de compuestos isobáricos con una estructura análoga. Los tiempos de retención, o mejor aún, los tiempos relativos de retención también deberían determinarse para evitar la posibilidad de identificaciones falsas cuando se utilizan los espectrómetros de masas de alta resolución.

35. Otras técnicas, utilizadas conjuntamente, pueden ser capaces de lograr un grado de selectividad análogo al de las técnicas de confirmación. Por ejemplo, la identificación podría verificarse mediante el uso de una combinación de los siguientes métodos:

- la cromatografía en capa fina;
- la cromatografía gas-líquido y específica para un elemento y sistemas de detección que la acompañan;
- la formación de derivados característicos seguida de una cromatografía adicional; o
- la determinación de los tiempos relativos de retención específicos del compuesto utilizando diversos sistemas cromatográficos de diferente polaridad.

Tales procedimientos deben ser aplicables al LMR designado para el analito.

36. Cuando no se dispone de un método de confirmación tal como la espectrometría de masas, la información sobre la selectividad relacionada con el análisis de un residuo específico de medicamentos veterinarios en una muestra puede obtenerse de varias fuentes.<sup>5</sup> Esta información puede capturarse en un documento de registro estructurado de toda la información que conduce a la conclusión de que un método ha detectado un compuesto específico 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 se desea, 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 con otra información disponible. En la Tabla 3 se resumen algunos ejemplos de técnicas de análisis que pudieran ser adecuadas para satisfacer los criterios para los métodos de análisis de confirmación.

37. La derivación también puede utilizarse para la confirmación de residuos de medicamentos veterinarios y puede considerarse bajo tres encabezamientos generales.

*(a) Reacciones químicas*

Se han utilizado frecuentemente reacciones químicas en pequeña escala que originan productos de degradación, adición o condensación de medicamentos veterinarios, seguidas de un reexamen de los productos por técnicas cromatográficas. Las reacciones dan origen a productos que tienen tiempos de retención y/o respuesta al detector distintos de los del compuesto de origen. Hay que tratar una muestra de medicamento veterinario estándar juntamente con el residuo sospechado, a fin de poder comparar directamente los respectivos resultados. También debería incluirse un extracto enriquecido para probar que la reacción ha tenido lugar en la presencia del material de muestra. Cuando los derivados se detectan gracias a las propiedades del reactivo del que se derivan, pueden producirse interferencias. Las reacciones químicas ofrecen la ventaja de ser rápidas y fáciles de realizar, pero podría ser necesario comprar y/o purificar los reactivos especializados.

*(b) Reacciones físicas*

Una técnica útil para un número limitado de medicamentos veterinarios es la alteración fotoquímica de un residuo para obtener uno o más productos con un patrón cromatográfico reproducible. Hay que tratar siempre de igual manera una muestra del medicamento veterinario estándar y el extracto

---

<sup>5</sup> Stephany, R.W. 2003. *SPECLOG – the specificity log*. CRD-9, Comité del Codex sobre Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos, 14ª reunión, Arlington, EE.UU., del 4 al 7 de marzo.

enriquecido. Las muestras que contienen más de un residuo de medicamentos veterinarios podrían plantear problemas en la interpretación de los resultados. En tales casos, antes de la reacción puede efectuarse una separación previa de residuos específicos mediante cromatografía en capa fina (CCF), cromatografía líquida de alto rendimiento (CLAR) o fraccionamiento en columna.

(c) *Otros métodos*

Muchos medicamentos veterinarios pueden degradarse o transformarse por la acción de enzimas. En contraposición a las reacciones químicas normales, estos procesos son muy específicos y generalmente consisten en conjugación, oxidación, hidrólisis o desalquilación. Los productos de la conversión poseen características cromatográficas distintas de las del medicamento veterinario de origen, y pueden utilizarse a efectos de confirmación si se comparan con los productos de reacción utilizando medicamentos veterinarios estándar.

### **Características funcionales generales para los métodos a utilizarse en un programa de control reglamentario**

38. Hay algunas consideraciones adicionales para la selección de métodos adecuados a utilizarse en un programa de control reglamentario para los residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos. Los métodos deberían ser resistentes (robustos), eficaces en función de los costos, relativamente sencillos, transportables y capaces de manejar simultáneamente un conjunto de muestras de modo eficaz en función del tiempo. También se debe determinar la estabilidad de los analitos.

39. La prueba de *rigurosidad (robustez)* debería realizarse utilizando el enfoque del diseño factorial estándar para determinar cualquier punto crítico de control.<sup>6</sup> Los factores típicos a incluirse en un diseño incluyen variaciones en los volúmenes o concentraciones de los reactivos, pH, tiempo y temperatura de incubación o de reacción, calidad de los reactivos y distintos lotes o fuentes de un reactivo o material cromatográfico. Podría ser necesario aplicar la prueba de rigurosidad a un método de confirmación si el método difiere considerablemente del método cuantitativo previamente validado (si el método utiliza distintos procedimientos de extracción o de derivación de aquellos que se utilizan en el método cuantitativo).

40. La *eficacia en función del costo* se refiere al uso de reactivos e insumos que pueden conseguirse fácilmente de los proveedores locales en la pureza requerida, y al equipo cuyas partes y servicio también pueden conseguirse fácilmente. La *eficacia del método* aumenta cuando se pueden analizar varias muestras al mismo tiempo. Esta característica reduce el tiempo necesario para el análisis de una muestra y habitualmente reduce el costo por muestra, debido a que hay ciertos costos fijos relacionados con el análisis de muestras, independientemente de si se trata de una o varias muestras. La capacidad de un método de abarcar múltiples muestras en un lote es importante cuando se deben analizar grandes números de muestras en marcos cortos o fijos de tiempo. La *transportabilidad* es la característica del método de análisis que le permite ser trasladado de un lugar a otro sin perder las características analíticas funcionales establecidas.

41. La *estabilidad del analito* durante el análisis debe establecerse tanto para los patrones como para el analito en la presencia del material de muestra, durante el procesamiento a lo largo del análisis total para todos los métodos utilizados en un programa de control reglamentario y para las condiciones típicas de almacenamiento mientras una muestra está en espera de análisis. El período elegido de estabilidad durante el almacenamiento debería cubrir el tiempo previsto para el almacenamiento del material de muestra relativo a todos los análisis necesarios, que incluyen el uso de los métodos de selección, los métodos cuantitativos y los métodos de confirmación. Es prudente realizar el estudio de almacenamiento para un período que se extienda por lo menos 90 días más allá del tiempo previsto para la conclusión de todos los análisis de selección, cuantitativos y de confirmación y para el informe de los resultados en caso de que éstos se cuestionen y se solicite un reanálisis. También es prudente evaluar el efecto que el ciclo de congelación y descongelación tendría en la estabilidad de los analitos bajo condiciones de congelación. Esto permitirá que se tome una decisión con respecto a si una muestra, una vez descongelada para análisis puede o no puede ser devuelta a almacenamiento y analizada nuevamente en una fecha posterior sin tener un cambio significativo frente al resultado del análisis anterior.

---

<sup>6</sup> Youden, W.J. & Steiner, E.H. 1975. *Statistical Manual of the Association of Official Analytical Chemists*. Gaithersburg, EE.UU., AOAC International.



## Otras consideraciones

42. De preferencia, debería elaborarse un método de análisis para residuos de medicamentos veterinarios, y caracterizarse para el análisis de los cuatro principales tejidos que generalmente se clasifican como “tejidos comestibles”, los cuales son grasa, hígado, riñón y músculo. Además, la leche, los huevos y la miel son objeto del comercio internacional, y también podrían necesitarse métodos de análisis para estas matrices. Las preferencias alimentarias locales podrían plantear la necesidad de métodos para otros tejidos que normalmente se consumen en un país o región. Además, podría haber algún requisito reglamentario para análisis de orina u otros líquidos corporales para la determinación de residuos, especialmente si los ensayos con animales vivos forman parte de un programa reglamentario. Desde un enfoque práctico, el mínimo requisito habitual es que debería elaborarse un método de análisis para lo que normalmente se conoce como “tejido elegido como objetivo”, que es el tejido de un animal tratado en el que se espera encontrar las concentraciones más altas y más persistentes del residuo del medicamento. Éste sería normalmente el tejido obtenido para un programa nacional de vigilancia de residuos. Además, hay un requisito para evaluar el “tejido objeto del comercio” cuando los productos se envían de un país a otro. Éste es más comúnmente el tejido muscular, pero se pueden incluir otros tejidos. En la Tabla 4 se presenta una orientación general en cuanto a la selección de tejidos elegidos como objetivo adecuados y los “tejidos objetos del comercio” previstos, así como también en los informes del Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios. De preferencia, deberían obtenerse conocimientos del metabolismo y de la distribución y eliminación en los tejidos para cada residuo de medicamentos antes de que se haga una selección final de los tejidos apropiados para la validación.

43. La concentración de los analitos utilizados para caracterizar un método debería ser seleccionada de manera que comprenda los límites aceptados (LA) de todos los analitos que se prevé buscar en todos los productos.

44. Una vez que los siguientes parámetros que se resumen a continuación se determinen experimentalmente para todos los analitos incluidos en el ámbito de aplicación de un método para residuos múltiples, entonces se podrá considerar que el método está listo para continuar siendo evaluado a través de un proceso de validación para determinar si el método es adecuado (es decir, “idóneo para la finalidad prevista”) para utilizarse en un programa de control reglamentario para medicamentos veterinarios en la producción de animales destinados a la alimentación humana.

45. En la Tabla 5 se presenta más orientación sobre la relevancia de los parámetros que se presentan a continuación y sobre cómo pueden ser evaluados.

- (a) Selectividad
  - (i) Efectos de la matriz - efectos de interferencia directa (tasa de muestras con resultados negativos falsos), efectos de ocultamiento o aumento, efectos de reactividad cruzada
- (b) Sensibilidad
  - (i) Escala de calibración
  - (ii) Función de calibración, LD, LC, precisión, exactitud (sesgo), incertidumbre de la medición (IM), recuperación
  - (iii) Parámetros de retención de la separación cromatográfica
  - (iv) Parámetros cualitativos, cuantitativos y/o de confirmación de la respuesta al detector
- (c) Rigurosidad (robustez)
  - (i) Identificación de puntos críticos de control
  - (ii) Identificación de posibles puntos de interrupción
- (d) Estudios de estabilidad
  - (i) Estabilidad del analito en extractos de la muestra y soluciones estándar; estabilidad del analito en el procesamiento y el análisis de la muestra
  - (ii) Condiciones; estabilidad del analito bajo condiciones de almacenamiento en congelador y ciclos de congelación y descongelación

## (e) Estudios de residuos no añadidos

Expresión de los resultados

46. A efectos reglamentarios, sólo deberían comunicarse los datos confirmados, que se expresarán tal como se definen en los LMR. Se considerarán valores nulos los inferiores al valor calibrado más bajo, y no los inferiores a una concentración calculada por extrapolación. En el caso de los análisis de residuos de medicamentos veterinarios, los resultados se corrigen generalmente en función de la recuperación. Si los resultados se notifican corregidos en función de la recuperación, entonces deberían proporcionarse las concentraciones medidas o corregidas junto con el factor de corrección. También debería notificarse la base adoptada para la corrección. En caso de que se obtengan resultados positivos mediante determinaciones repetidas (p. ej., en distintas columnas de CG, con diferentes detectores o sobre la base de iones diferentes de los espectros de masas) de una sola porción de ensayo (submuestra), se debería notificar la concentración válida más baja que se haya obtenido. Si los resultados positivos derivan del análisis de varias porciones de ensayo, se debería notificar la media aritmética de las concentraciones válidas más bajas que se hayan obtenido en cada porción de ensayo. Considerando, en general, una precisión relativa de 20-30%, los resultados deberían expresarse únicamente con dos cifras significativas (p. ej., 0.11, 1.1, 11 y  $1.1 \times 10^2$ ). Debido a que la precisión disminuye más rápidamente a concentraciones más bajas, los valores de los residuos inferiores a 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  deberían expresarse solamente con una cifra significativa.

**Tabla 1** Criterios funcionales a los que deberían ajustarse los métodos considerados adecuados para utilizarse como métodos de análisis cuantitativos para respaldar a los LMR para residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos<sup>7</sup> [*sujetos a examen y revisión si fuera necesario*]

Concentración	Coeficiente de variación (CV)				Veracidad
	Repetibilidad (dentro del laboratorio, CV <sub>A</sub> )	Repetibilidad (dentro del laboratorio, CV <sub>L</sub> )	Reproducibilidad (entre laboratorios, CV <sub>A</sub> )	Reproducibilidad (entre laboratorios, CV <sub>L</sub> )	Escala de porcentajes medios de recuperación *
( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
≤ 1	35	36	53	54	50–120
1 a 10	30	32	45	46	60–120
10 a 100	20	22	32	34	70–110
100 a 1 000	15	18	23	25	70–110
≥ 1 000	10	14	16	19	70–110

\* Si a un laboratorio se le exige informar de los resultados analíticos corregidos en función de la recuperación analítica, la precisión para la recuperación es más importante que la recuperación absoluta. Sin embargo, si se informa de los resultados analíticos sin ser corregidos en función de la recuperación analítica, la recuperación absoluta es de importancia fundamental.

<sup>7</sup> *Directrices armonizadas de la UIQPA para el empleo de la información de recuperación en la medición analítica (CAC/GL 37-2001)*; véase también Thompson, M., Ellison, S.L.R., Fajgelj, A., Willetts, P. & Wood, R. 1999. Harmonized guidelines for the use of recovery information in analytical measurement. *Pure Applied Chemistry*, 71(2): 337–348.

**Tabla 1a: Relación entre una gama de clases de fragmentos de masas y los puntos de identificación obtenidos**

Técnica de EM	Puntos de identificación obtenidos por ión
Espectrometría de masas de baja resolución (EMBR)	1.0
EMBR <sup>n</sup> ión precursor	1.0
EMBR <sup>n</sup> ión secundario de transición	1.5
Espectrometría de masas de alta resolución (EMAR)	2.0
EMAR <sup>n</sup> ión precursor	2.0
EMAR <sup>n</sup> ión secundario de transición	2.5

Notas:

- Cada ión puede contarse solamente una vez.
- La CG-EM con uso de la ionización electrónica (IE) se considera una técnica distinta de la CG-EM con uso de la ionización química (IQ).
- Pueden usarse distintos analitos para aumentar el número de puntos de identificación sólo si los derivados emplean distintas químicas de reacción.
- Los productos de transición incluyen tanto iones secundarios como iones secundarios de 1<sup>a</sup> generación.

**Tabla 1b: Ejemplos del número de puntos de identificación ganados para una gama de técnicas y combinaciones de las mismas (n = un entero)**

<b>Técnica</b>	<b>Fuente de identificación</b>	<b>Número de puntos de identificación</b>
CG-EM (IE o IQ)	N	n
CG-EM (IE +IQ)	2 (IE) + 2 (IQ)	4
CG-IEEM o CG-IQEM (2 derivados)	2 (Derivado A) + 2 (Derivado B)	4
CL-EM	N	n
CG-EM/EM	1 ión precursor + 2 iones secundarios	4
CL-EM/EM	1 ión precursor + 2 iones secundarios	4
CG-EM/EM	2 iones precursores, cada uno con 1 ión secundario	5
CL-EM/EM	2 iones precursores, cada uno con 1 ión secundario	5
CL-EM/EM/EM	1 ión precursor, 1 ión secundario y 2 iones secundarios de 1 <sup>a</sup> generación	5.5
Espectrometría de masas de alta resolución (EMAR)	N	2n
CG-EM y CL-EM	2 + 2	4
CG-EM y EMAR	2 + 1	4

**Tabla 2** Requisitos funcionales para fuerzas iónicas relativas (muestra comparada contra un patrón) utilizando varias técnicas de análisis de espectrometría de masas<sup>4</sup>

Fuerza iónica relativa (% del pico base)	CG-EM (IE) (relativa)	CG-EM (IQ), CG-EM/EM, CL-EM, CL-EM/EM (relativa)
(%)	(%)	(%)
> 50	≤ 10	≤ 20
20–50	≤ 15	≤ 25
10–20	≤ 20	≤ 30
≤10	≤ 50	≤ 50

**Tabla 3.** Ejemplos de métodos de detección adecuados para el análisis de sustancias para efectos de confirmación, según fueron recomendados por la Consulta de Miskolc ([http://www.iaea.org/programmes/rifa/trc/pest-qa\\_val\\_guide.pdf](http://www.iaea.org/programmes/rifa/trc/pest-qa_val_guide.pdf))

Método de detección	Criterio
CL o CG y espectrometría de masas	Si se controla un número suficiente de fragmentos iónicos
CL-DAD	Si el espectro ultravioleta es característico
CL– fluorescencia	Junto con otras técnicas
2-D Cromatografía en capa fina – (espectrometría)	Junto con otras técnicas
Cromatografía de gases con detección por captura de electrones, Detector de nitrógeno y fósforo, Detector fotométrico de flama	Sólo cuando se combina con dos o más técnicas de separación <sup>a</sup>
Derivación	En caso de que no haya sido el primer método elegido
CL-inmunograma	Junto con otras técnicas
CL-UV/VIS (longitud de onda única)	Junto con otras técnicas

<sup>a</sup> Otros sistemas cromatográficos (en los que se apliquen fases estacionarias y/o móviles de selectividad diferente) u otras técnicas.

**Tabla 4. Orientación práctica sobre la selección de la matriz de ensayo adecuada para el examen de residuos de medicamentos veterinarios en los alimentos.**

Especie / producto	Tejido seleccionado como objetivo o matriz habitual para la elaboración del método	
	Hidrosoluble	Liposoluble
Rumiantes (p. ej., vacunos / vacas, ovejas)*	Hígado o riñón, músculo**	Grasa, músculo
No rumiantes (p. ej., cerdos)*	Hígado o riñón, músculo**	Grasa, músculo
Aves de corral (p. ej., pollos / gallinas, pavos)*	Hígado, músculo	Grasa, o músculo con piel adherida en proporciones normales**
Pescado	Músculo con piel adherida en proporciones normales	Músculo con piel adherida en proporciones normales
Mariscos / crustáceos (p. ej., camarón)	Músculo	Músculo
Leche (por lo general, leche de vaca)	Leche entera	Leche entera
Miel	Miel	Miel
Huevo	Entero	Entero

\* La elaboración del método y la caracterización de los parámetros de análisis deberían llevarse a cabo para todas las especies principales de las que se obtendrán muestras para las pruebas de rutina. Para aplicaciones de uso secundario, podría ser aceptable demostrar la aplicabilidad del método en la nueva especie si la aplicabilidad del método ha sido demostrada anteriormente en otra especie del grupo (p. ej., rumiantes).

\*\* Los residuos de compuestos hidrosolubles por lo general se encuentran en las concentraciones más altas ya sea en el hígado o el riñón, y la elección del tejido se hace basándose en estudios de distribución proporcionados por el patrocinador del medicamento al momento del registro por una autoridad nacional o regional. Los compuestos liposolubles por lo general están presentes como residuos con concentraciones más altas en la grasa, así que en tales casos la selección de las matrices de ensayo consiste típicamente en grasa y músculo. No obstante, en el caso de las aves de corral y el pescado, donde la preparación y el consumo de alimentos incluyen frecuentemente tanto el músculo como la piel con grasa, una directriz adecuada podría ser “músculo con piel adherida en proporciones normales”, correspondiendo al tejido mixto de músculo, grasa y piel que puede consumirse. Tales requisitos deberían establecerse claramente con el cliente (el comprador o el usuario de los resultados) antes de comenzar con la elaboración del método. Las autoridades nacionales o regionales, o la finalidad de la prueba, podrían requerir la aplicabilidad del método en matrices distintas o adicionales.

**Tabla 5. Resumen de los parámetros y criterios para la elaboración, adaptación y validación de procedimientos de análisis para un solo analito, grupos específicos y residuos múltiples para residuos de medicamentos veterinarios, tal como se preparó en la consulta de Miskolc ([http://www.iaea.org/trc/pest-qa\\_val\\_annex2.pdf](http://www.iaea.org/trc/pest-qa_val_annex2.pdf))**

Parámetro	Concentración	N°. de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios			Observaciones
			Método de nivel I del Codex (de confirmación / cuantitativo)	Método de nivel II del Codex (cuantitativo)	Método de nivel III del Codex (de selección – cualitativo o semicuantitativo)	
<b>1. Funcionamiento en el laboratorio del método optimizado</b>						
1.1 Estabilidad del analito durante el almacenamiento o de la muestra	En el límite aceptado (LA) o en torno a éste	Analizar muestras representativas (tiempo 0) y muestras almacenadas con arreglo a los procedimientos habituales del laboratorio (p. ej., a $\leq -18^{\circ}\text{C}$ ). El tiempo de almacenamiento debería ser $\geq$ que el intervalo más largo previsto entre el muestreo y la eliminación de las muestras. Repetir a $-70^{\circ}\text{C}$ si la estabilidad del analito no satisface los criterios a $\leq -18^{\circ}\text{C}$ . Efectuar $\geq 5$ repeticiones en cada momento elegido.	No hay pérdidas significativas de analito durante el almacenamiento (P = 0.05)	No hay pérdidas significativas de analito durante el almacenamiento (P = 0.05)	No hay negativos falsos en [el LA] después del almacenamiento.	La estabilidad en el almacenamiento debería evaluarse usando tejidos con presencia de residuos no añadidos, si los hubiera. Si no se dispone de ellos, se deberán preparar materiales de ensayo enriquecidos usando distintos grupos de tejido testigo para tener correspondencia con la variabilidad prevista de las muestras en las que se aplicará el método. El almacenamiento se validará para su uso con cualquier procedimiento subsiguiente. La validación podría ser específica para el analito. Sin embargo, en general, los datos sobre la estabilidad durante el almacenamiento obtenidos con matrices de muestras representativas podrán considerarse válidos para matrices similares. Las matrices se seleccionarán tomando en cuenta la estabilidad química del analito. Se puede encontrar información útil sobre la estabilidad durante el almacenamiento en las evaluaciones del JECFA o en la documentación presentada para el registro de los compuestos.
1.2 Estabilidad del analito durante el procesamiento de la muestra	En el LA o en torno a éste	Tratar las matrices de tejido representativas con una cantidad conocida de analito(s). Analizar $\geq 5$ porciones idénticas de cada producto representativo, después del procesamiento.	No hay pérdidas significativas de analito durante el procesamiento (P = 0.05)	No hay pérdidas significativas de analito durante el procesamiento (P = 0.05)	No hay negativos falsos en el LA después del procesamiento.	Factores tales como la exposición a la luz, la temperatura de la muestra durante el procesamiento y el grado de procesamiento de la muestra (p. ej., tiempo de homogeneización) podrían ser críticos. El procesamiento se validará para su uso con cualquier procedimiento subsiguiente. La validación puede ser específica para el analito y/o la matriz de la muestra. Para comprobar la estabilidad, se determinará la recuperación mediana y el CV de compuestos marcadores representativos. Utilizar estos compuestos en las pruebas internas de garantía de calidad (véase la sección 5). El CV de cada compuesto indicará también la repetibilidad dentro del laboratorio.

Parámetro	Concentración	Nº. de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios			Observaciones
			Método de nivel I del Codex (de confirmación / cuantitativo)	Método de nivel II del Codex (cuantitativo)	Método de nivel III del Codex (de selección – cualitativo o semicuantitativo)	
1.3 Estabilidad del analito en extractos y soluciones estándar	En el LA, con residuos claramente detectables	Efectuar $\geq 5$ repeticiones a intervalos temporales apropiados (tiempo cero inclusive) y para cada analito/matriz representativo. Enriquecer los extractos de la muestra testigo para comprobar la estabilidad de los residuos. Comparar la concentración del analito en soluciones estándar almacenadas y recién preparadas.	Al final del período de almacenamiento, las recuperaciones deberían encontrarse dentro de la escala especificada en la Tabla 1. Ningún cambio significativo en la concentración del analito en soluciones analíticas estándar almacenadas ( $P = 0.05$ )	Al final del período de almacenamiento, las recuperaciones deberían encontrarse dentro de la escala especificada en la Tabla 1. Ningún cambio significativo en la concentración del analito en soluciones analíticas estándar almacenadas ( $P = 0.05$ )	Al final del período de almacenamiento, todas las recuperaciones detectables en el LA.	Será necesario comprobar la estabilidad en los extractos si es probable que el material semiprocesado se almacene durante un periodo más prolongado que el necesario para determinar la precisión, o si se obtuvieron recuperaciones bajas durante la optimización del método. El tiempo de almacenamiento debería comprender el periodo más prolongado que ha de requerirse probablemente para completar el análisis, incluida cualquier confirmación subsiguiente usando el extracto.
1.4 Eficiencia de la extracción	En el LA o en torno a éste	Analizar $\geq 5$ porciones idénticas de muestras o material de referencia con presencia de residuos no añadidos. Comparar el procedimiento de referencia (o uno diferente) con el que es objeto del ensayo.	Para las muestras con presencia de residuos no añadidos, la media de los resultados obtenidos con el procedimiento de referencia y el procedimiento que es objeto del ensayo no debería presentar diferencias significativas en el nivel $P=0.05$ , aplicando el $CV_L$ en el cálculo. Si se usa un material de referencia, la concentración media del residuo y el valor de consenso del residuo en el material de referencia no deberían presentar diferencias significativas en el nivel de $P=0.05$ , si el cálculo se efectúa con el $CV_A$ del método que es objeto del ensayo. En caso de que el $CV_A$ del método sea mayor del 10%, será necesario incrementar el número de repeticiones del análisis para mantener el error estándar relativo de la media $< 5\%$ .  De lo contrario se deberá cuantificar y notificar la eficiencia de la extracción (excluyendo la recuperación de la fase analítica).	Para las muestras, la media de los resultados obtenidos con el procedimiento de referencia y el procedimiento que es objeto del ensayo no debería presentar diferencias significativas en el nivel $P=0.01$ aplicando el $CV_L$ en el cálculo. O bien, el valor de consenso del material de referencia y la media de los residuos, calculados con el $CV_A$ del método que es objeto del ensayo, no deberían presentar diferencias significativas en el nivel de $P=0.01$ . De lo contrario se deberá cuantificar y notificar la eficiencia de la extracción (valor promedio de la recuperación de la extracción excluyendo la recuperación de la fase analítica).	No hay negativos falsos en el LA.	Algunos residuos podrían conjugarse o unirse de otro modo a la matriz del tejido, y podría requerirse el pretratamiento de la muestra (p. ej., con glucuronidasa) para liberar dichos residuos y mejorar así la recuperación del analito. La temperatura del extracto, la velocidad y la duración del proceso de mezcla u homogenización, el tiempo de la extracción y los volúmenes y proporciones de los solventes de extracción pueden influir considerablemente en la eficiencia de la extracción. Es posible medir el efecto de estos parámetros mediante una prueba de rigurosidad. Las condiciones optimizadas deberían mantenerse tan constantes como sea posible y en general pueden ser aplicables a matrices similares y a analitos con propiedades físicas y químicas similares.



Parámetro	Concentración	Nº. de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios			Observaciones
			Método de nivel I del Codex (de confirmación / cuantitativo)	Método de nivel II del Codex (cuantitativo)	Método de nivel III del Codex (de selección – cualitativo o semicuantitativo)	
1.5 Selectividad de la separación	En el LA o en torno a éste	Determinar los valores de tiempo de retención relativa (tRR) de todos los analitos que deben analizarse con el método (no sólo los compuestos de referencia). Cuando se utilizan técnicas cromatográficas sin detección espectrométrica, aplicar principios de separación diferentes y/o determinar los tRR en columnas de polaridad diferente. Determinar y notificar la resolución (Rs) y los factores de cola (fC) de los picos críticos.	Los picos deberían tener una buena resolución de base o estar lo suficientemente bien separados como para permitir una identificación y cuantificación exactas. El pico máximo más cercano debería estar separado del valor máximo designado del analito por lo menos por un ancho entero en el 10% de la altura del pico, o bien se requiere una detección más selectiva de todos los analitos.	Los picos deberían tener una buena resolución de base o estar lo suficientemente bien separados como para permitir una cuantificación exacta. El pico máximo más cercano debería estar separado del valor máximo designado del analito por lo menos por un ancho entero en el 10% de la altura del pico, o bien se requiere una detección más selectiva de todos los analitos.	Para los métodos cromatográficos, los picos deberían tener una resolución suficientemente buena como para permitir la identificación tentativa de todos los analitos analizados en el LA. Otros tipos de métodos de selección, tales como ELISA, deberían detectar los analitos en el LA.	Usar la información obtenida de estos experimentos para establecer los criterios de idoneidad del sistema para el análisis. La idoneidad del sistema implica la inyección de analitos para demostrar el funcionamiento adecuado del sistema cromatográfico (es decir, la resolución de los picos según las especificaciones del método o los requisitos del cliente).
1.6 Especificidad y selectividad de la detección del analito	En el LA o en torno a éste	Identificar mediante espectrometría de masas o la combinación apropiada de las técnicas de separación y detección disponibles. Analizar $\geq 5$ muestras testigo de cada producto representativo, obtenidas preferiblemente de fuentes diferentes. Notificar el equivalente del analito en la respuesta del ensayo testigo. Determinar y notificar la selectividad ( $\delta$ ) del detector y los factores relativos de respuesta (fRR) de los analitos representativos con los detectores específicos empleados.	El analito puede ser identificado y, de ser necesario, cuantificado, mediante espectrometría de masas u otra técnica adecuada. Analizar $\geq 5$ muestras testigo de cada producto representativo, obtenidas preferiblemente de fuentes diferentes. Notificar el equivalente del analito en la respuesta del ensayo testigo. Determinar y notificar la selectividad ( $\delta$ ) del detector y los relativos factores de respuesta (fRR) de analitos representativos con los detectores específicos empleados.	El pico del analito debería tener una resolución lo suficientemente buena frente a otros picos en el cromatograma para lograr una determinación cuantitativa. Deberían proporcionarse pruebas de que no hay una co-elución de compuestos.	Negativos falsos (error $\beta$ ) $\leq 5\%$ ; positivos falsos (error $\alpha$ ) $\leq 10\%$ (véase el documento CAC/GL 40-1993, rev. 1-2003).	Se aplica únicamente a una combinación específica de técnicas de separación y detección. En lugar de muestras sin tratar podrán emplearse muestras con un historial de tratamiento conocido. La madurez de las matrices de la muestra podría afectar considerablemente la respuesta de la muestra testigo y, por consiguiente, la selectividad de la detección. Los valores testigo también deberán comprobarse regularmente durante la validación del funcionamiento. Notificar los picos presentes habitualmente en los extractos de las muestras testigo. Es preferible que el NCMB sea $\leq 0.5$ LA. Alterar las condiciones cromatográficas si la respuesta de la muestra testigo interfiere con el analito. Los porcentajes estipulados para las tasas de muestras con resultados positivos falsos y resultados negativos falsos para las pruebas de selección están basados en CAC/GL 71-2009.

Parámetro	Concentración	Nº. de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios			Observaciones
			Método de nivel I del Codex (de confirmación / cuantitativo)	Método de nivel II del Codex (cuantitativo)	Método de nivel III del Codex (de selección – cualitativo o semicuantitativo)	
1.7 Función de calibración Efecto de la matriz	En el LA o en torno a éste	Comprobar las funciones de respuesta de todos los analitos incluidos en el método en un mínimo de 2 ocasiones con $\geq 2$ repeticiones en $\geq 3$ concentraciones del analito más la muestra testigo.	Para la calibración lineal: coeficiente de regresión de soluciones analíticas estándar $(r) \geq 0.99$ . DE de las residuales $(S_y/x) \leq 0.1$	Para la calibración lineal: coeficiente de regresión $(r) \geq 0.99$ . DE de las residuales $(S_y/x) \leq 0.1$	No corresponde.	Establecer los parámetros de la calibración durante la optimización del procedimiento, en la determinación de la precisión o la capacidad de detección. Preparar soluciones de calibración en diferentes concentraciones independientemente de la solución concentrada. Para los MRM, realizar la calibración con mezclas de analitos (“mezcla estándar”), que pueda separar adecuadamente el sistema cromatográfico para tomar en cuenta el "efecto de componentes múltiples”.
1.8 Escala analítica, exactitud, precisión, límite de detección (LD), límite de cuantificación (LC).	En el LA o en torno a éste	Analizar $\geq 5$ muestras testigo y porciones analíticas enriquecidas en el NCMB, más $\geq 3$ porciones analíticas enriquecidas en las concentraciones de $\geq 0.5$ , 1 y 2 veces el LA. Cuando sea factible, las pruebas de funcionamiento del método deberían dividirse entre los analistas, quienes usarán el método y los instrumentos que se emplearán en el análisis.	El método deberá confirmar positivamente la presencia del analito en el LA y, cuando se use cuantitativamente, deberá cumplir con los criterios funcionales estipulados en la Tabla 1. El LC deberá ser idóneo para la finalidad prevista.	El método deberá cumplir con los criterios funcionales estipulados en la Tabla 1.	Negativos falsos (error $\beta$ ) $\leq 5\%$ ; positivos falsos (error $\alpha$ ) $\leq 10\%$ (véase el documento CAC/GL 40-1993, rev. 1-2003).	Los analistas deberían demostrar que el método es idóneo para determinar la presencia del analito en el LA apropiado, con los errores máximos especificados. El intervalo de confianza que concierne a la media calculada depende del número de datos utilizados en el cálculo. El límite de adopción de decisiones y la capacidad de detección para combinaciones específicas de analito/matriz pueden determinarse al analizar $\geq 5$ muestras testigo y porciones analíticas enriquecidas en el LA y en 0.5 y 2 veces el LA, o al aplicar la norma ISO 11843. Estimaciones de la exactitud, precisión y recuperación del método deberían estar a la disposición de los usuarios de los datos generados con el método.
<b>2. Extensión del método a un nuevo analito y matrices que tengan propiedades similares a aquellas de los analitos y matrices representativos</b>						
2.1 Estabilidad del analito durante el almacenamiento o de la muestra, en el procesamiento y en extractos y soluciones estándar	Véanse las secciones 1.1, 1.2 y 1.3	Véanse las secciones 1.1, 1.2, 1.3	Véanse las secciones 1.1, 1.2, 1.3	Véanse las secciones 1.1, 1.2, 1.3	Véanse las secciones 1.1, 1.2, 1.3	Véanse las secciones 1.1, 1.2, 1.3
2.2 Eficiencia de la extracción	En el LA o en torno a éste	Véase la sección 1.4	Véase la sección 1.4	Véase la sección 1.4	Véase la sección 1.4	Véase la sección 1.4

Parámetro	Concentración	Nº. de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios			Observaciones
			Método de nivel I del Codex (de confirmación / cuantitativo)	Método de nivel II del Codex (cuantitativo)	Método de nivel III del Codex (de selección – cualitativo o semicuantitativo)	
2.3 Selectividad de la separación	En el LA o en torno a éste	Véase la sección 1.5	Véase la sección 1.5	Véase la sección 1.5	Véase la sección 1.5	Véase la sección 1.5
2.4 Especificidad y selectividad de la detección del analito	En el LA o en torno a éste	Medir la respuesta de $\geq 3$ muestras testigo diferentes (si las hubiera).	Véase la sección 1.6	Véase la sección 1.6	Véase la sección 1.6	Algunas autoridades recomiendan que se usen 6 o más muestras testigo representativas para cada nueva matriz. Si la selectividad de la detección no elimina la respuesta de la matriz, usar una combinación apropiada de columnas cromatográficas para permitir la separación de los analitos de los valores máximos (picos) de la matriz. Notificar los picos presentes habitualmente en los extractos de las muestras testigo. Véase la sección 1.6
2.5 Función de calibración, efecto de la matriz	En el LA o en torno a éste	Véase la sección 1.7	Véase la sección 1.7	Véase la sección 1.7	Véase la sección 1.7	Véase la sección 1.7
2.6 Escala analítica, exactitud, precisión, límite de detección (LD), límite de cuantificación (LC).	En el LA o en torno a éste	Enriquecer porciones analíticas testigo con analitos representativos pertinentes en 3 concentraciones, en duplicado. Véase la sección 1.8	El método deberá confirmar positivamente la presencia del analito en el LA y, cuando se use cuantitativamente, deberá cumplir con los criterios funcionales estipulados en la Tabla 1. Véase la sección 1.8	Cumple con las especificaciones funcionales estipuladas en la Tabla 1. Véase la sección 1.8	Los analitos añadidos a las muestras testigo en el LA deberían ser detectables en todos los ensayos. Véase la sección 1.8	Analito representativo pertinente: analito que pudiera estar presente en una muestra concreta. Véase la sección 1.8
2.7 Homogeneidad del analito	Véase la sección 1.3	Véase la sección 1.3	Véase la sección 1.3	Véase la sección 1.3	Véase la sección 1.3	Podría haber diferencias en la homogeneidad del analito que resulten de la variabilidad biológica en, por ejemplo, hígado de distintas especies.
2.8 Efecto de la matriz	En el LA o en torno a éste	Comprobar el efecto de la matriz usando muestras testigo en combinación con la sección 3.4.	El método deberá confirmar positivamente la presencia del analito en el LA y, cuando se use cuantitativamente, deberá cumplir con los criterios funcionales estipulados en la Tabla 1.	Cumple con las especificaciones funcionales estipuladas en la Tabla 1. No se observó ningún efecto de la matriz.	Los analitos añadidos a las muestras testigo en el LA deberían ser detectables en todos los ensayos.	Si no se cumple con los criterios funcionales del método debido a los efectos de la matriz, será necesario modificar el método para que pueda aplicarse a la nueva matriz.
<b>3. Adaptación del método validado en otro laboratorio</b>						
3.1 Pureza e idoneidad de las sustancias químicas,		Comprobar la solución testigo y la aplicabilidad de los ad(ab)-sorbentes y reactivos. Efectuar la	Ninguna respuesta de interferencia.	Ninguna respuesta de interferencia.	Comprobar que el funcionamiento de la prueba de selección coincida con las especificaciones del fabricante.	

Parámetro	Concentración	Nº. de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios			Observaciones
			Método de nivel I del Codex (de confirmación / cuantitativo)	Método de nivel II del Codex (cuantitativo)	Método de nivel III del Codex (de selección – cualitativo o semicuantitativo)	
reactivos y ad(ab)-sorbentes		derivación con y sin la muestra.				
3.2 “Homogeneidad” del analito						No se requiere una comprobación, a menos que se encuentren pruebas de heterogeneidad a través de procedimientos de control de calidad durante la aplicación del método.
3.3 Selectividad de la separación	En el LA o en torno a éste	Comprobar la idoneidad del sistema.	Separación especificada lograda.	Separación especificada lograda.	Los analitos añadidos a las muestras testigo en el LA deberían ser detectables en todos los ensayos.	Las muestras para la prueba de idoneidad del sistema normalmente se preparan al disolver el analito o analitos en el disolvente usado en el extracto final del método. Éstas se inyectan antes de analizar las muestras para garantizar que la separación cromatográfica lograda coincida con los requisitos del método.
3.4 Función de calibración, efecto de la matriz	En el LA o en torno a éste	Comprobar las funciones de respuesta de todos los analitos representativos incluidos en el método en un mínimo de 2 ocasiones en $\geq 3$ niveles del analito más la muestra testigo, en duplicado en cada ocasión. Comprobar el efecto de la matriz con analitos y matrices representativos.	El método deberá confirmar positivamente la presencia del analito en el LA y, cuando se use cuantitativamente, deberá cumplir con los criterios funcionales estipulados en la Tabla 1. No se observaron efectos de la matriz.	Cumplen con los requisitos de la Tabla 1. No se observaron efectos de la matriz.	Los analitos añadidos a las muestras testigo en el LA deberían ser detectables en todos los ensayos.	Los parámetros de la calibración pueden establecerse durante la optimización del procedimiento, en la determinación de la precisión o la capacidad de detección. Preparar soluciones de calibración independientemente de la solución concentrada. Para los MRM, realizar la calibración con mezclas de analitos (“mezcla estándar”), que pueda separar adecuadamente el sistema cromatográfico para tomar en cuenta el "efecto de componentes múltiples”. Usar soluciones analíticas estándar ajustadas a la matriz para pruebas cuantitativas si el efecto de la matriz es significativo.

Parámetro	Concentración	Nº. de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios			Observaciones
			Método de nivel I del Codex (de confirmación / cuantitativo)	Método de nivel II del Codex (cuantitativo)	Método de nivel III del Codex (de selección – cualitativo o semicuantitativo)	
3.5 Especificidad de la detección del analito	En el LA o en torno a éste	Comprobar las características funcionales de los detectores utilizados y compararlas con las especificadas en el método. Comprobar la respuesta de un testigo de cada producto representativo, o bien realizar la prueba como se describe en la sección 1.6.	La respuesta que se mide se debe únicamente al analito. El funcionamiento del detector (sensibilidad y selectividad) debería ser igual o mejor que el especificado en el método. La respuesta de la muestra testigo no debería interferir con las de los analitos.	Negativos falsos (error $\beta$ ) $\leq 5\%$ ; positivos falsos (error $\alpha$ ) $\leq 10\%$ (véase el documento CAC/GL 40-1993, rev. 1-2003).	La respuesta relativa de los detectores específicos puede variar considerablemente de un modelo a otro. Una comprobación apropiada de la especificidad de la detección es fundamental para obtener resultados fiables. Comparar la respuesta testigo observada con los picos típicos notificados en extractos testigo. Véanse otras observaciones en la sección 1.6.	
3.6 Escala analítica, exactitud, precisión, límite de adopción de decisiones, capacidad de detección	En el LA o en torno a éste	Véase la sección 1.8	Véase la sección 1.8	Véase la sección 1.8	Establecer que se cumplen o exceden las características funcionales originales del método, o documentar el funcionamiento logrado. Si el método es idóneo para la finalidad prevista, establecer criterios de control de calidad basados en el funcionamiento logrado en el laboratorio durante la validación.	Véanse las observaciones en la sección 1.8.
3.7 Estabilidad del analito en extractos y soluciones estándar		No se requiere un ensayo, a menos que surjan problemas durante la evaluación del funcionamiento.				Véase la sección 1.9 si surgen problemas
<b>4. Control de calidad (validación del funcionamiento)</b>						
<b>4.1 Métodos empleados con regularidad</b>						
4.1.1 Idoneidad de las sustancias		Para cada nuevo lote: comprobación de la solución testigo,	Ninguna respuesta de interferencia $\geq$ NCMB.	Ninguna respuesta de interferencia $\geq$ NCMB.	Ninguna respuesta de interferencia en la mínima concentración especificada.	

Parámetro	Concentración	Nº. de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios			Observaciones
			Método de nivel I del Codex (de confirmación / cuantitativo)	Método de nivel II del Codex (cuantitativo)	Método de nivel III del Codex (de selección – cualitativo o semicuantitativo)	
químicas, adsorbentes y reactivos		aplicabilidad de los ad(ab)-sorbentes y reactivos. Efectuar la derivación sin muestra.				
4.1.2 Estabilidad del analito durante el procesamiento y análisis de la muestra	En el LA o en torno a éste	Enriquecer matrices de muestras testigo de origen conocido con compuestos adecuados sometidos al ensayo (véase la sección 1.2) y analizarlas junto con otras muestras en el lote analítico.	Las recuperaciones de los compuestos sometidos al ensayo deben hallarse dentro de los límites de adopción de medidas del gráfico de control, si el método se usa para cuantificación; de lo contrario, el analito debe confirmarse en la concentración más baja especificada por el requisito.	Las recuperaciones de los compuestos sometidos al ensayo deben hallarse dentro de los límites especificados (por lo general, 2σ) del gráfico de control.	El analito añadido en la concentración más baja especificada por el requisito sigue siendo detectable después del almacenamiento.	Comprobar la estabilidad durante el período cuando los cambios estacionales pueden dar lugar a fluctuaciones en el ambiente del laboratorio (temperatura, humedad, etc.).
4.1.3 Homogeneidad del analito en la muestra procesada	En el LA o en torno a éste	Seleccionar al azar una muestra positiva. Repetir el análisis en una o más porciones analíticas.	Las repeticiones deberían encontrarse dentro de los límites de reproducibilidad de la Tabla 1, si el método incluye cuantificación. A efectos de confirmación solamente, los resultados deberían coincidir con los criterios del método (p. ej., las proporciones iónicas).	Las repeticiones deberían encontrarse dentro de los límites de reproducibilidad de la Tabla 1.	Todos los resultados deberían ser positivos en o arriba de los requisitos especificados de detección mínima.	Efectuar el ensayo en forma alternada para cubrir todos los productos analizados. Comprobar la homogeneidad al comenzar el análisis del tipo de muestra considerado. Los resultados aceptables de la prueba también confirman que la reproducibilidad de los análisis (CV <sub>A</sub> ) era apropiada.
4.1.4 Eficiencia de la extracción						La eficiencia de la extracción no puede controlarse durante el análisis. Para asegurar una eficiencia apropiada, la extracción debería llevarse a cabo sin cambios.
4.1.5 Selectividad de la separación, funcionamiento de los detectores	En el LA o en torno a éste	Incluir en cada lote de cromatografía una mezcla apropiada para la prueba de detección (idoneidad del sistema).	Idoneidad del sistema demostrada.	Idoneidad del sistema demostrada.	No corresponde a la mayoría de las pruebas de selección (equipos de ensayos).	Preparar la mezcla de la prueba de detección para cada método de detección. Seleccionar los componentes de la mezcla a efectos de indicar los parámetros característicos de la separación cromatográfica y la detección. Ajustar las condiciones cromatográficas para obtener la separación requerida, si fuera necesario.

Parámetro	Concentración	Nº. de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios			Observaciones
			Método de nivel I del Codex (de confirmación / cuantitativo)	Método de nivel II del Codex (cuantitativo)	Método de nivel III del Codex (de selección – cualitativo o semicuantitativo)	
4.1.6 Especificidad de la detección del analito	En el LA o en torno a éste	Incluir la matriz testigo en el lote analítico. Añadir solución estándar si no se dispone de muestras sin tratar (similares a las analizadas en el lote). Confirmar la identidad y cantidad de cada analito presente en el LA.	Los coextractos de la muestra que interfieren con el analito no deberían estar presentes.	Los coextractos de la muestra que interfieren con el analito no deberían estar presentes.	Negativos falsos (error $\beta$ ) $\leq 5\%$ ; positivos falsos (error $\alpha$ ) $\leq 10\%$ (véase el documento CAC/GL 40-1993, rev. 1-2003).	Incluir en cada lote de cromatografía una mezcla apropiada para la prueba de detección (idoneidad del sistema).  Efectuar el análisis cuantitativo con solución analítica estándar preparada en extracto de la matriz testigo si el efecto de la matriz es significativo.
4.1.7 Calibración y escala analítica	En el LA o en torno a éste	Normalmente se prepara a un mínimo de 0.5, 1 y 2 veces el LA en cada realización de análisis.	Las proporciones iónicas para los picos que se usan en la confirmación de los espectros de masas deberán hallarse dentro de los límites especificados en el método. Normalmente, $r = 0.98$ o mejor para cada curva de calibración usada en la cuantificación.	Normalmente, $r = 0.98$ o mejor para cada curva de calibración.	Por lo general, no corresponde. Incluir soluciones estándar apropiadas para comprobar el funcionamiento del ensayo en la concentración mínima especificada por el requisito.	
4.1.8 Exactitud y precisión	Dentro de la escala analítica	Incluir en cada lote analítico $\geq 1$ una muestra testigo: ya sea una muestra enriquecida con mezcla estándar, una porción idéntica de una muestra positiva o efectuar un nuevo análisis de una muestra positiva. También pueden usarse materiales de referencia certificados, si los hubiera.	El funcionamiento del detector y la columna cromatográfica deberá ser igual o mejor que el especificado en el método. En el caso de los métodos cuantitativos, es preferible que todas las recuperaciones se mantengan dentro del límite de advertencia del gráfico de control diseñado con el CVA específico o típico de los analitos. Durante una utilización prolongada, una de cada 20 ó 100 muestras podría exceder los límites especificados para el gráfico de control. Habrá que repetir el lote de análisis si cualquiera de las recuperaciones excede los límites de adopción de medidas, o si los resultados de los análisis repetidos de la muestra positiva exceden la gama de	El funcionamiento del detector y la columna cromatográfica deberá ser igual o mejor que el especificado en el método. En el caso de los métodos cuantitativos, es preferible que todas las recuperaciones se mantengan dentro del límite de advertencia del gráfico de control diseñado con el $CV_A$ específico o típico de los analitos. De vez en cuando, una muestra podría exceder los límites especificados para el gráfico de control. Habrá que repetir el lote de análisis si cualquiera de las recuperaciones excede los	Por lo general, no corresponde. Aplicar criterios para positivos falsos y negativos falsos.	Enriquecer la porción analítica con mezcla estándar dentro de la escala analítica de interés, particularmente en concentraciones próximas a un LA a ser detectado.

Parámetro	Concentración	Nº. de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios			Observaciones
			Método de nivel I del Codex (de confirmación / cuantitativo)	Método de nivel II del Codex (cuantitativo)	Método de nivel III del Codex (de selección – cualitativo o semicuantitativo)	
			valores críticos.	límites de adopción de medidas, o si los resultados de los análisis repetidos de la muestra positiva exceden la gama de valores críticos.		
4.1.9 Duración del análisis			Las muestras, extractos etc. no deberían almacenarse durante un período más prolongado que el adoptado durante la validación del método para comprobar la estabilidad en el almacenamiento. Se deberán controlar y registrar con regularidad las condiciones de almacenamiento.			
<b>4.2 Analito detectado ocasionalmente</b>						
Aplicar las pruebas descritas en la sección 4.1 con las siguientes excepciones						
4.2.1 Exactitud y precisión	En el LA o en torno a éste	Volver a analizar otra porción analítica; o recurrir a la adición de solución estándar en la concentración del analito medido.	Los análisis repetidos deben coincidir con los criterios de confirmación del método. A efectos cuantitativos, los análisis repetidos deben coincidir con las especificaciones estipuladas en la Tabla 1.	Los análisis repetidos deben coincidir con las especificaciones estipuladas en la Tabla 1.	Los análisis repetidos deben coincidir entre sí.	Comprobar la exactitud si se detectan residuos $\geq 0.5$ LA.
<b>4.3 Métodos empleados a intervalos irregulares</b>						
Aplicar las pruebas descritas en la sección 4.1 con las siguientes excepciones						
4.3.1 Exactitud y precisión (repetibilidad)	En el LA o en torno a éste	Incluir en cada lote analítico muestras enriquecidas en 0.5, 1 y 2 veces el LA. Añadir solución estándar si no se dispone de muestras sin tratar (similares a las analizadas en el lote). Efectuar el análisis en $\geq 2$ porciones analíticas.	Los análisis repetidos deben coincidir con los criterios de confirmación del método. A efectos cuantitativos, los análisis repetidos deben coincidir con las especificaciones estipuladas en la Tabla 1.	Los análisis repetidos deben coincidir con las especificaciones estipuladas en la Tabla 1.	Los análisis repetidos deben coincidir entre sí.	Los resultados aceptables prueban también la idoneidad de las sustancias químicas, adsorbentes y reactivos empleados. Si no se satisfacen los criterios de funcionamiento, el método se pondrá en práctica y sus características de funcionamiento volverán a establecerse durante su revalidación parcial.



Parámetro	Concentración	Nº. de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios			Observaciones
			Método de nivel I del Codex (de confirmación / cuantitativo)	Método de nivel II del Codex (cuantitativo)	Método de nivel III del Codex (de selección – cualitativo o semicuantitativo)	
<b>4.4 Cambios en la implementación del método</b>						
Cambio	Parámetros que deben comprobarse	Para métodos de ensayo y criterios de aceptabilidad, véanse las secciones correspondientes del Apéndice I				
4.4.1 Reactivo / nuevos materiales: proveedor o calidad diferente	Comprobar el valor del testigo y efectuar la derivación sin muestra. Comprobar las recuperaciones en dos repeticiones a 0.5, 1 y 2 veces el LA.					No deberían cambiarse las características de funcionamiento del método. Modificar el protocolo del método a fin de incluir el cambio aceptable en la calidad o el proveedor especificado.
4.4.2 Columna cromatográfica	Comprobar la selectividad de la separación, resolución, calidad de inerte, valores de TRR (idoneidad del sistema).					No deberían cambiarse considerablemente las características de funcionamiento del método. Podría necesitarse algún ajuste o modificación de las condiciones cromatográficas, y debería documentarse de manera correspondiente. Modificar el protocolo del método a fin de incluir el cambio aceptable en el artículo o el proveedor especificado.
4.4.3 Equipo para el procesamiento de las muestras	Homogeneidad de la muestra procesada; estabilidad de los analitos.					No deberían cambiarse las características de funcionamiento del método. Modificar el protocolo del método a fin de incluir el cambio aceptable en el artículo o el proveedor.
4.4.4 Equipo de extracción	Comparar los resultados usando muestras con presencia de residuos no añadidos o sustitutos adecuados (muestras de matriz testigo enriquecida cuando se ha mostrado anteriormente que éstas tienen correspondencia con la extracción en muestras con presencia de residuos no añadidos) que se detectan después de la extracción con el equipo viejo y con el nuevo en $\geq 5$ repeticiones.	La media de los residuos no debe presentar diferencias significativas en el nivel $p = 0.05$	No deberían cambiarse las características de funcionamiento del método. Modificar el protocolo del método a fin de incluir el cambio aceptable en el artículo o el proveedor.			
4.4.5 Detección	Comprobar la selectividad de la separación y la selectividad y sensibilidad de la detección.					Comprobar también por separado la detectabilidad con los nuevos reactivos empleados en la detección. No deberían cambiarse las características de funcionamiento del método. Modificar el protocolo del método a fin de incluir el cambio aceptable en el artículo o el proveedor.
4.4.6 Analista	$\geq 5$ pruebas de recuperación en cada concentración (NCMB, LA y 2 (3) LA), analizar nuevamente una muestra testigo y dos muestras positivas	Todos los resultados deben estar dentro de los límites de advertencia especificados para el método en el laboratorio. Los análisis de	Documentar la familiarización del analista con el método (es decir, el analista está "listo para			

Parámetro	Concentración	Nº. de análisis o tipo de ensayo requerido	Criterios			Observaciones
			Método de nivel I del Codex (de confirmación / cuantitativo)	Método de nivel II del Codex (cuantitativo)	Método de nivel III del Codex (de selección – cualitativo o semicuantitativo)	
	(desconocidas para el analista).		muestras repetidas deberán dar valores comprendidos en la escala crítica.	hacer” pruebas en las muestras). Se trata de un requisito mínimo. Algunos laboratorios que trabajan con residuos de medicamentos veterinarios emplean un protocolo más detallado, que incluye: 1) el trazado de una curva estándar dentro de los criterios de aceptabilidad; 2) la realización de dos análisis, como mínimo, para cada matriz, que contenga muestras representativas enriquecidas por el analista a tres concentraciones como mínimo, en duplicado; y 3) la realización de un análisis, como mínimo, con muestras enriquecidas o con residuos no añadidos, a tres concentraciones en duplicado, desconocidas para el analista. Todos los resultados deberán satisfacer los criterios de aceptabilidad en cada fase, o bien repetirse.		
4.4.7 Laboratorio	Exactitud y precisión $\geq 3$ pruebas de recuperación en cada concentración, 0.5, 1 y 2 veces el LA, preferiblemente a cargo de analistas (diferentes) en días distintos.		Todos los resultados deben estar dentro de los límites de advertencia especificados para el método en el laboratorio.			

## GLOSARIO DE TÉRMINOS

<b>Límite aceptado (LA)</b>	Valor de concentración de un analito que corresponde a un límite reglamentario o valor de referencia que constituye la finalidad del análisis, p. ej. LMR, norma comercial, límite de concentración objetivo (evaluación de la exposición alimentaria), nivel de aceptación (medio ambiente), etc. Para una sustancia que no tiene LMR o para una sustancia prohibida puede no existir un LA (por ser éste igual a 0 o porque no hay límite alguno), o el LA puede ser la concentración objetivo por encima de la cual es necesario confirmar los residuos detectados (límite de adopción de medidas o límite administrativo).
<b>Exactitud</b>	Grado de conformidad entre el resultado de una prueba y el valor de referencia aceptado.
<b>Error alfa (<math>\alpha</math>)</b>	La probabilidad de que la concentración efectiva del analito en la muestra de laboratorio sea inferior a un valor particular (p. ej., el LA) cuando las mediciones efectuadas en una o más porciones analíticas o de ensayo indican que la concentración supera ese valor (positivo falso). Por lo general, los valores aceptados de esta probabilidad son del orden del 1 al 5%.
<b>Analito</b>	La sustancia química buscada o determinada en una muestra.
<b>Homogeneidad del analito (en la muestra)</b>	Uniformidad o dispersión del analito en la matriz. La variabilidad de los resultados analíticos derivados del procesamiento de la muestra depende del tamaño de la porción analítica. La constante de muestreo describe la relación entre el tamaño de la porción analítica y la variación prevista en una muestra analítica adecuadamente mezclada: $K_s = w (CV_{Pm})^8$ , donde $w$ es la masa de la porción analítica y $CV_{Pm}$ es el coeficiente de variación de la concentración del analito en las porciones analíticas repetidas de $w$ [g] que se retiran de la muestra analítica.
<b>Porción analítica</b>	Una cantidad representativa de material extraído de la muestra analítica, de tamaño adecuado para medir la concentración del residuo.
<b>Muestra analítica</b>	El material preparado para el análisis a partir de la muestra de laboratorio, separando la parte del producto que ha de analizarse, y luego mezclándola, triturándola, picándola finamente, etc., para extraer porciones analíticas con un error de muestreo mínimo.
<b>Aplicabilidad</b>	Los analitos, matrices y concentraciones para los que se ha demostrado que un método de análisis es satisfactorio.
<b>Error beta (<math>\beta</math>)</b>	La probabilidad de que la concentración efectiva del analito en la muestra de laboratorio sea superior a un valor particular (p. ej., el LA) cuando las mediciones efectuadas en una o más porciones analíticas indican que la concentración no excede ese valor (negativo falso). Por lo general, los valores aceptados de esta probabilidad son del orden del 1 al 5%.
<b>Sesgo</b>	La diferencia entre el valor mediano de la medición para un analito y un valor de referencia aceptado para la muestra. El sesgo es el error sistemático total, en contraposición al error aleatorio. Puede haber uno o más componentes de errores sistemáticos que contribuyen al sesgo. Una diferencia sistemáticamente mayor con respecto al valor de referencia aceptado se traduce en un valor más elevado del sesgo.
<b>Grupo de productos</b>	Grupos de alimentos o piensos con suficientes características químicas comunes que los hacen similares a efectos de su análisis por un método. Las características pueden basarse en sus componentes principales (p. ej., el contenido de agua, grasa, azúcar y ácidos) o en relaciones biológicas, y pueden estar definidas por la reglamentación.
<b>Método de confirmación</b>	Métodos que proporcionan una información completa o complementaria que permite identificar el analito con un grado aceptable de certidumbre [en el límite aceptado o la concentración de interés]. En la medida de lo posible, los métodos de confirmación proporcionan información sobre el carácter químico del analito, utilizando preferiblemente técnicas espectrométricas. Si una técnica particular no posee suficiente especificidad, la confirmación podría efectuarse mediante procedimientos adicionales que consisten en combinaciones idóneas de purificación, separación cromatográfica y detección selectiva. Los bioensayos también pueden proporcionar algunos datos de confirmación. Además de la confirmación de la identidad de un analito, también se deberá confirmar su concentración. Esto podrá lograrse analizando una segunda porción de ensayo y/o volviendo a analizar la porción de ensayo inicial con un método alternativo apropiado (p. ej., columna y/o detector diferente). La confirmación cuantitativa y cualitativa también podrá efectuarse con el mismo método, cuando sea apropiado.

<b>Límite de adopción de decisiones (CC<math>\alpha</math>)</b>	Límite en el cual se podrá decidir que la concentración del analito presente en una muestra efectivamente excede ese límite con una probabilidad de error de $\alpha$ (positivo falso). En el caso de sustancias con LA igual a cero, el CC $\alpha$ es la concentración más baja en la que un método puede discriminar con una probabilidad estadística de $1 - \alpha$ la presencia del analito identificado. El CC $\alpha$ es equivalente al límite de detección (LD) de conformidad con algunas definiciones (habitualmente para $\alpha = 1\%$ ). En el caso de sustancias con LA establecido, el CC $\alpha$ es el valor de medición de la concentración por encima del cual se puede decidir, con una probabilidad estadística de $1 - \alpha$ , que el contenido del analito identificado efectivamente es superior al LA.
<b>Capacidad de detección (CC<math>\beta</math>)</b>	La concentración efectiva del analito más baja que se puede detectar, identificar y cuantificar en una muestra con un error beta (negativo falso). En el caso de sustancias prohibidas, la CC $\beta$ es la concentración más baja a la que un método está en condiciones de determinar el analito en muestras contaminadas con una probabilidad estadística de $1 - \beta$ . En el caso de sustancias con LMR establecido, la CC $\beta$ es la concentración a la que el método está en condiciones de detectar las muestras que exceden este LMR con una probabilidad estadística de $1 - \beta$ . Cuando se aplica al nivel de concentración más bajo que puede detectarse, la finalidad de este parámetro es proporcionar una información equivalente al límite de cuantificación (LC), pero la CC $\beta$ se asocia siempre con una probabilidad estadística especificada de detección y por ello se prefiere con respecto al LC.
<b>Mezcla de ensayo de detección</b>	Mezcla de soluciones analíticas estándar apropiada para comprobar las condiciones de separación y detección cromatográficas. La mezcla de ensayo de detección debería contener analitos que proporcionen información sobre la selectividad y los factores de respuesta de los detectores, la calidad de inerte (p. ej., caracterizada por el factor de cola, fC) y la capacidad de separación (p. ej., resolución, Rs) de la columna, así como sobre la reproducibilidad de los valores del tRR. La mezcla de ensayo de detección podría tener que ser específica para cada columna y detector.
<b>Resultado negativo falso</b>	Véase error beta.
<b>Resultado positivo falso</b>	Véase error alfa.
<b>Método específico para un grupo de compuestos</b>	Método destinado a detectar sustancias que tienen una fracción común o una estructura química similar.
<b>Residuo no añadido</b>	Residuos de un analito que han entrado en una matriz por la vía prevista habitualmente para las trazas de la sustancia, en contraposición al enriquecimiento de muestras en el laboratorio.
<b>Método individual</b>	Método idóneo para determinar uno o más compuestos especificados. Se podría necesitar un método individual separado, por ejemplo, para determinar algunos metabolitos incluidos en la definición del residuo de un plaguicida o medicamento veterinario individual.
<b>Muestra de laboratorio</b>	La muestra tal como se recibe en el laboratorio (sin incluir el envasado).
<b>Límite de detección (LD)</b>	La concentración más pequeña en la que puede identificarse el analito. Se define habitualmente como la concentración mínima del analito en la muestra objeto del ensayo que puede medirse con una probabilidad establecida de que el analito esté presente en una concentración superior a la de la muestra testigo. Véase también Límite de adopción de decisiones.
<b>Límite de cuantificación (LC)</b>	La concentración más pequeña del analito que es posible cuantificar. Se define habitualmente como la concentración mínima del analito en la muestra objeto del ensayo que puede determinarse con precisión (repetibilidad) y exactitud aceptables en las condiciones establecidas del ensayo. Véase también Capacidad de detección.
<b>Nivel calibrado más bajo (NCMB)</b>	La concentración más baja del analito detectada y medida en la calibración del sistema de detección. Puede expresarse como concentración de la solución en la muestra objeto del ensayo o como masa, y no debe incluir la contribución del testigo.
<b>Matriz</b>	Material o componente muestreado para estudios analíticos, excluido el analito.

<b>Matriz testigo</b>	Material de la muestra que no contiene concentraciones detectables de los analitos de interés.
<b>Calibración ajustada a la matriz</b>	Calibración que utiliza soluciones estándar preparadas en un extracto del producto analizado (o de un producto representativo). El objetivo es compensar los efectos de las sustancias coextractivas en el sistema de determinación. Éstos son a menudo imposibles de predecir, pero el ajuste a la matriz puede ser innecesario si se demuestra que los efectos de las sustancias coextractivas son insignificantes.
<b>Método</b>	La serie de procedimientos aplicados desde la recepción de una muestra para su análisis hasta la producción del resultado final.
<b>Validación del método</b>	Proceso mediante el cual se verifica que el método es idóneo para la finalidad prevista.
<b>Método para residuos múltiples, MRM</b>	Método idóneo para identificar y cuantificar una gama de analitos, por lo general en diversas matrices diferentes.
<b>Resultado negativo</b>	Un resultado que indica que el analito no está presente en la concentración calibrada más baja o en una concentración superior (véase también Límite de detección).
<b>Verificación del funcionamiento</b>	Series de datos de control de calidad generados durante el análisis de lotes de muestras para respaldar la validez de los análisis en curso. Los datos pueden emplearse para afinar los parámetros de funcionamiento del método.
<b>Resultado positivo</b>	Un resultado que indica la presencia del analito con una concentración igual o superior a la concentración calibrada más baja.
<b>Precisión</b>	Grado de conformidad entre resultados de ensayos independientes obtenidos en ciertas condiciones estipuladas.
<b>Método cuantitativo</b>	Un método capaz de producir resultados, expresados como valores numéricos en unidades apropiadas, con exactitud y precisión que son idóneas para la finalidad prevista. El grado de precisión y veracidad debe ajustarse a los criterios especificados en la Tabla 1.
<b>Recuperación</b>	Fracción o porcentaje de un analito que se recupera tras la extracción y el análisis de una muestra testigo a la que se ha añadido el analito en una concentración conocida (muestra enriquecida o material de referencia).
<b>Ensayo con solución testigo</b>	Análisis completo efectuado sin incluir materiales de la muestra para fines de control de calidad.
<b>Material de referencia</b>	Material o materiales en que las concentraciones del analito son suficientemente homogéneas y claras como para emplearse en la evaluación de un método de medición, o para asignar valores a otros materiales. En el contexto de este documento el término "material de referencia" no se refiere a los materiales empleados para calibrar los aparatos.
<b>Método de referencia</b>	Método analítico cuantitativo de fiabilidad probada que se caracteriza por tener veracidad, especificidad, precisión y capacidad de detección conocidas. Por lo general, estos métodos han sido objeto de estudios en colaboración, y suelen basarse en la espectrometría molecular. La condición de método de referencia es válida únicamente si el método se aplica dentro del régimen apropiado de garantía de la calidad.
<b>Procedimiento de referencia</b>	Procedimiento de eficacia establecida. Si no está disponible, podrá adoptarse como procedimiento de referencia un procedimiento que en teoría se considere sumamente eficaz y que sea fundamentalmente distinto del que es objeto del ensayo.
<b>Repetibilidad</b>	Precisión en condiciones de repetibilidad, es decir, condiciones en las que se obtienen resultados de ensayos independientes mediante la aplicación del mismo método en porciones analíticas repetidas, en el mismo laboratorio, a cargo del mismo analista y utilizando el mismo equipo a intervalos de tiempo breves. (ISO 3534-1)
<b>Analito representativo</b>	Analito elegido para representar un grupo de analitos que probablemente tendrán un comportamiento similar al aplicar un método de análisis para residuos múltiples, tal como se deduce por sus propiedades fisicoquímicas como, por ejemplo, estructura, hidrosolubilidad, $K_{ow}$ , polaridad, volatilidad, estabilidad hidrolítica, pKa, etc.
<b>Analito representado</b>	Analito con propiedades fisicoquímicas que forman parte de la gama de propiedades de los analitos representativos.
<b>Reproducibilidad</b>	Grado de conformidad entre los resultados obtenidos con el mismo método en porciones analíticas idénticas, por distintos analistas que utilizan diferentes equipos (reproducibilidad dentro del laboratorio). Análogamente, cuando los ensayos se efectúan en laboratorios

	diferentes, se obtiene la reproducibilidad entre laboratorios.
<b>Producto representativo</b>	Un solo alimento o pienso utilizado para representar un grupo de productos a los efectos de la validación del método. Un producto podría considerarse representativo sobre la base de la composición inmediata de la muestra, por ejemplo, contenido de agua, grasa/aceite, ácido, azúcar y clorofila o por analogías biológicas de los tejidos, etc.
<b>Rigurosidad</b>	Capacidad de un proceso de medición química de resistir a los cambios en los resultados del ensayo cuando se producen cambios menores en las variables ambientales y de procedimiento del método, los laboratorios, el personal, etc.
<b>Preparación de la muestra</b>	Procedimiento empleado, cuando es necesario, para convertir la muestra de laboratorio en una muestra analítica, eliminando aquellas partes (tierra, piedras, huesos, etc.) que no deben incluirse en el análisis.
<b>Procesamiento de la muestra</b>	El procedimiento o procedimientos (p. ej., cortar, triturar, mezclar) empleados para dar a la muestra analítica una homogeneidad aceptable con respecto a la distribución del analito antes de extraer la porción analítica. El componente de procesamiento en la preparación de la muestra deberá diseñarse de tal modo que se evite inducir cambios en la concentración del analito.
<b>Método de selección</b>	Método empleado para detectar la presencia de un analito o una clase de analitos en un nivel igual o superior a la concentración mínima de interés. Debe estar diseñado para evitar resultados negativos falsos en un nivel de probabilidad especificado (generalmente $\beta = 5\%$ ). Es posible que sea necesario confirmar los resultados cualitativos positivos mediante métodos de referencia o de confirmación. Véase Límite de adopción de decisiones y Capacidad de detección.
<b>Selectividad</b>	Medición del grado de probabilidad de que el analito se distinga de otros componentes de la muestra, ya sea por separación (p. ej., cromatografía) o por la respuesta relativa del sistema de detección.
<b>Especificidad</b>	Medida en la que un método proporciona respuestas del sistema de detección que se pueden considerar características exclusivas del analito.
<b>Adición de solución estándar</b>	Un procedimiento mediante el cual se añaden cantidades conocidas del analito a fracciones de un extracto de la muestra que contiene el analito (para una concentración $X$ medida inicialmente), a fin de producir nuevas concentraciones nominales (p. ej., $1.5X$ y $2X$ ). Se miden las respuestas del analito producidas por las fracciones enriquecidas y el extracto original, y se determina la concentración del analito en el extracto original (adición nula de analitos) a partir de la pendiente y la intersección de la curva de la respuesta. Si la curva de la respuesta obtenida no es lineal, se requerirá cautela para interpretar el valor de $X$ .
<b>Factor de cola</b>	Medida de la asimetría del pico de la cromatografía; en el 10% de la altura máxima del pico, proporción entre su ancho en los segmentos frontal y de cola separados por una línea vertical que se traza a través del pico máximo.
<b>Porción de ensayo</b>	Véase "Porción analítica".
<b>Muestra de ensayo</b>	Véase "Muestra analítica".
<b>Veracidad</b>	Grado de conformidad entre el valor promedio obtenido de una larga serie de resultados de ensayos y un valor de referencia aceptado.
<b>Incertidumbre de la medición</b>	Parámetro individual (habitualmente una desviación estándar o un intervalo de confianza) que expresa la posible gama de valores, en torno al resultado de la medición, dentro de la cual se prevé que se encuentre el valor efectivo con un grado establecido de probabilidad. Debería tomar en cuenta todos los efectos reconocidos que influyen en el resultado, a saber: precisión global a largo plazo (reproducibilidad dentro del laboratorio) del método completo; sesgo del método; submuestreo e incertidumbres de la calibración; y cualquier otra fuente conocida de variación en los resultados.

#### ABREVIACIONES

$C_{max}$	Residuo mayor detectado en porciones analíticas repetidas	<b>MRM</b>	Método para residuos múltiples
$C_{min}$	Residuo menor detectado en porciones analíticas repetidas	<b>fRR</b>	Factor de respuesta relativa

<b>CV<sub>Atíp</sub></b>	Coeficiente típico de variación de los residuos determinados en una porción analítica	<b>tRR</b>	Valor del tiempo de retención relativa de un pico
<b>CV<sub>Ltíp</sub></b>	Coeficiente típico de variación en análisis de porciones de una muestra de laboratorio	<b>Rs</b>	Resolución de dos picos cromatográficos
<b>CV<sub>Pm</sub></b>	Coeficiente de variación de residuos en porciones analíticas	<b>DE</b>	Desviación estándar
<b>BPL</b>	Buenas prácticas de laboratorio	<b>S<sub>y/x</sub></b>	Desviación estándar de las residuales calculada a partir de la función de calibración lineal
<b>MEG</b>	Método específico para un grupo	<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>LMR</b>	Límite máximo de residuos		