

Dirección de Laboratorios y Control Técnico

CONTROL DE RESIDUOS EN PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL

Disposición 125/2006

Confirmaciones de residuos de sustancias prohibidas. Incorpóranse "parámetros de validación".

Martínez, 17/4/2006

VISTO el Expediente S01:0313853/2005 del Registro del MINISTERIO DE ECONOMIA Y PRODUCCION, la Resolución N° 138 del 25 de enero de 2002 del SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA, las Disposición N° 01 del 26 de julio de 2002 y N° 06 del 18 de noviembre de 2004 ambas de la Dirección de Laboratorios y Control Técnico del SENASA, Y

CONSIDERANDO:

Que la resolución citada en el Visto prescribe los requisitos que deben cumplir los laboratorios que solicitan ingresar o mantenerse en la Red de Laboratorios del Organismo, en rubros vinculados al control de residuos en productos de origen animal.

Que el análisis de dichos residuos en las muestras oficiales será efectuado exclusivamente por la Dirección de Laboratorios y Control Técnico y los laboratorios autorizados por la citada Dirección.

Que es necesario garantizar la calidad y comparabilidad de los resultados analíticos informados por los laboratorios autorizados para el control oficial de residuos, para lo cual deben utilizarse sistemas de aseguramiento de la calidad y específicamente, métodos validados de acuerdo con procedimientos y criterios de funcionamiento comunes, y garantizarse la trazabilidad.

Que los avances realizados en química analítica imponen el reemplazo de los criterios de funcionamiento y procedimientos de validación de los métodos de cribado y confirmación.

Que la Dirección de Laboratorios y Control Técnico se encuentra facultada para dictar normas complementarias y/ o modificatorias de la Resolución SENASA N° 138/02.

Que por la Norma ISO/ IEC 17025:1999 - IRAM 301:2000 entre otros parámetros de validación de métodos analíticos, exige Recuperación, Precisión, Repetibilidad, Reproducibilidad intralaboratorio, Selectividad, Robustez, Alcance, Concentración límite, Matrices, Condiciones de matrices, Especies y Analitos.

Que anualmente se reciben auditorías de los Organismos Oficiales de los países compradores de productos agroalimentarios para evaluar la equivalencia de los métodos, diagnóstico de enfermedades y sistemas de control de biológicos y alimentos.

Que los Laboratorios de Referencia de los países compradores como los pertenecientes a la Unión Europea, Estados Unidos de América, Canadá, Australia, etc. están acreditados por dicha Norma y exigen que este Laboratorio también lo esté para poder aceptar como válidos los resultados analíticos que emite.

Que los desafíos externos en materia de exigencias analíticas, han obligado a la Dirección de Laboratorios y Control Técnico a replantear su planificación estratégica a fin de lograr un cambio y el fortalecimiento en su función como Laboratorio de Referencia Nacional e Internacional.

Que los laboratorios de la Red son considerados como laboratorios de campo por las auditorías externas y deben cumplir con las exigencias internacionales.

Que la Decisión de la Comunidad Europea (CE) 657/2002 además de lo prescripto por la Norma ISO/IEC 17025:1999 - IRAM 301:2000 requiere incluir la Capacidad de decisión y la Capacidad de detección como parámetros de los métodos analíticos.

Que la suscripta se encuentra facultada para el dictado del presente acto conforme lo establecido por el artículo 12° de la Resolución N° 138 de fecha 25 de enero de 2002 del registro del SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA.

Por ello,

LA DIRECCION DE LABORATORIOS Y CONTROL TECNICO DEL SERVICIO NACIONAL DE SANIDAD Y CALIDAD AGROALIMENTARIA

DISPONE:

Artículo 1° — Incorporanse los "parámetros de validación" que como Anexo, forma parte integrante de la presente.

Art. 2° — Las confirmaciones de residuos de sustancias prohibidas como Cloranfenicol, Clorpromacina, Fenilbutazona, Tirostáticos, Estradiol y Testosterona, deberán realizarse mediante las técnicas instrumentales con Detector Espectrométrico de Masas, en el término de doce meses contados a partir de la publicación de esta Norma.

Art. 3° — La presente Disposición entrará en vigencia a partir de su publicación en el Boletín Oficial.

Art. 4° — Comuníquese, publíquese, dése a la Dirección Nacional del Registro Oficial y archívese. — Verónica Torres Leedham.

ANEXO

PARAMETROS DE VALIDACION

METODOS DE SCREENING (cuantitativos) se debe determinar:

, Recuperación, Precisión, Repetibilidad, β , CC α CC Reproducibilidad intralaboratorio, Selectividad, Robustez, Alcance, Concentración límite, Matrices/ condiciones de matrices/ especies, Analitos.

METODOS CONFIRMATORIOS se debe determinar:

, Recuperación, Precisión, Repetibilidad, β , CC α CC Reproducibilidad intralaboratorio, Selectividad, Robustez, Alcance, Concentración límite, Matrices/ condiciones de matrices/ especies, Analitos.

A-Precisión, Sensibilidad y Linealidad con Patrones.

Se deben analizar todos los patrones convenientemente agrupados.

A.1-Para estudiar la linealidad y sensibilidad de respuesta de los respectivos detectores se trabajará con Patrones de la siguiente forma, donde CT es la concentración de trabajo:

A1.1-Cromatografía Gaseosa (GC), Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), Espectrofotometría de Absorción Atómica (AA), Cromatografía Gaseosa con Detector Selectivo de Masas (GC-MS y GC-MS-MS), Cromatografía Líquida de Alta Resolución con Detector Selectivo de Masas (HPLC-MS y HPLC-MS-MS):

Cinco (5) Niveles de concentración: 0.25CT; 0.5CT; CT; 1.5CT; 2CT. Donde CT es igual a la Concentración de Trabajo que corresponde a la Concentración Nominal de Referencia (CNR) en los fortificados. Efectuar las inyecciones por triplicado a cada nivel de concentración. Procesar un Blanco de Reactivos.

Se grafica Respuesta (Area) en función de Masa Inyectada o Concentración del Patrón. En los casos en que se trabaja con Standard Interno (SI), se grafica Respuesta (Relación de Areas STD/ SI) en función de Masa Inyectada o Concentración del Patrón. Se efectúa el tratamiento estadístico de los datos, determinado ordenada al origen, pendiente (Sensibilidad), coeficiente de regresión y coeficiente de variación porcentual para cada nivel de concentración. El Coeficiente de regresión debe ser mayor que 0.995.

A.1.2-Cromatografía Gaseosa con Detector Selectivo de Masas (GC-MS y GC-MS-MS), Cromatografía Líquida de Alta Resolución con Detector Selectivo de Masas (HPLC-MS y HPLC-MS-MS), para el análisis de Sustancias Prohibidas:

Cinco (5) Niveles de concentración separados a intervalos regulares a partir de una concentración CT equivalente a CNR; por ejemplo: CT; 1.5CT; 2CT; 4CT; 6CT. CT = CNR, efectuar las inyecciones por triplicado a cada nivel de concentración. Procesar un Blanco de Reactivos.

Se grafica Respuesta (Relación de Areas STD/ SI); en función de Masa Inyectada o Concentración del Patrón. Se efectúa el tratamiento estadístico de los datos, determinado ordenada al origen, pendiente (Sensibilidad), coeficiente de regresión y coeficiente de variación porcentual para cada nivel de concentración. El Coeficiente de regresión debe ser mayor que 0.995.

A.1.3-Inmunoanálisis (IA); RIA o ELISA:

RIA: Blanco y 6 niveles de concentración: entre TREINTA (30) y UN MIL (1000) pg para todas las sustancias (excepto Estradiol), por duplicado. Estradiol: entre SIETE (7) y DOSCIENTOS (200) pg, por duplicado.

ELISA: Blanco y SEIS (6) niveles de concentración: entre CUATRO (1) y CUATROCIENTOS (400) pg para todas las sustancias, por duplicado.

Se grafica Respuesta en función de la masa de analito y se efectúa el tratamiento estadístico de los datos, determinado ordenada al origen, pendiente (sensibilidad), coeficiente de regresión y coeficiente de variación porcentual para cada nivel de concentración. El coeficiente de regresión debe ser mayor que 0.980.

Cuando en los duplicados exista una dispersión mayor del DIEZ (10) %, puede ser eliminado un máximo de DOS (2) puntos siempre que no pertenezcan al mismo nivel de concentración.

CRITERIOS DE ACEPTACION cuando se trabaja con patrones para A.1.1 y A.1.2:

CV% < 5%, para inyección manual.

CV% < 2%, para GC con inyección automática.

$CV\% < 4\%$, para otras técnicas con inyección automática.

B-Precisión. Repetibilidad, Reproducibilidad y Selectividad con Muestras Fortificadas.

B.1-Se deberán analizar muestras fortificadas para todos los analitos en diferentes niveles de concentración según el método analítico que se aplique, donde CNR es la Concentración Nominal de Referencia y está relacionada con el Límite Máximo de Residuos (LMR) o el Límite Mínimo de Performance Requerido (MRPL).

Se deberá trabajar en condiciones de Reproducibilidad Interna: los fortificados deberán ser procesados por analistas distintos en por lo menos 2 tandas diferentes (preferiblemente de 4 a 6 tandas), distribuidas en 2 semanas consecutivas o un lapso mayor. Cada tanda debe ser cuantificada con una curva de patrones completa que deberá ser procesada junto con las muestras. En cada tanda deberán procesarse un Blanco de Reactivos, fortificados a todos los niveles de concentración y la matriz utilizada para la fortificación de las muestras; la muestra utilizada como Blanco de matriz debe ser diferente en cada tanda.

B.1.1-Cromatografía. Gaseosa (GC), Espectrofotometría de Absorción Atómica (AA), Cromatografía Líquida, de Alta Resolución (HPLC), Cromatografía Gaseosa con Detector Selectivo de Masas (GCMS y GC-MS-MS), Cromatografía Líquida de Alta Resolución con Detector Selectivo de Masas (HPLCMS y HPLC-MS-MS):

Procesar Blanco de matriz y muestras fortificadas a CINCO (5) niveles de concentración: 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 CNR (LMR) por sextuplicado.

Determinar la Recuperación Porcentual (R %) para cada fortificado. En los casos en que se trabaja con Standard interno (SI), determinar además la R % para el SI en cada fortificado (excepto para técnicas con Detector Selectivo de Masas).

Determinar CV% de Repetibilidad para cada nivel de concentración, en base a los valores de Concentración Hallada correspondientes a un mismo analista.

Determinar CV% de Reproducibilidad interna para cada nivel de concentración, en base a todos los valores de Concentración Hallada obtenidos en la validación.

Graficar Concentración Hallada en función de Concentración Nominal. Se efectúa el tratamiento estadístico de los datos, determinando ordenada al origen, pendiente (Recuperación porcentual promedio) y coeficiente de regresión. El coeficiente de regresión debe ser mayor que 0.980.

B.1.2-Cromatografía con Detector Selectivo de Masas (MS), Cromatografía Gaseosa, (GC-MS y GC-MS-MS), Cromatografía Líquida de Alta Resolución con Detector Selectivo de Masas (HPLC-MS y HPLC-MS-MS), para el análisis de Sustancias Prohibidas:

Procesar Blanco de matriz y muestras fortificadas a CINCO (5) niveles de concentración separados a intervalos regulares a partir de una concentración igual o inferior al MRPL; por ejemplo: CNR; 1.5CNR; 2CNR; 4CNR; 6CNR. CNR = MRPL (o inferior) por sextuplicado.

Determinar Recuperación Porcentual (R %) para cada fortificado.

Determinar CV% de Repetibilidad para cada nivel de concentración, en base a los valores de Concentración Hallada correspondientes a un mismo analista.

Determinar CV% de Reproducibilidad interna para cada nivel de concentración, en base a todos los valores de Concentración Hallada obtenidos en la validación.

Graficar Concentración Hallada en función de Concentración Nominal. Se efectúa el tratamiento estadístico de los datos, determinando ordenada al origen, pendiente (Recuperación porcentual promedio) y coeficiente de regresión. El coeficiente de regresión debe ser mayor que 0.980.

B.1.3-Inmunoanálisis: Procesar Blanco de reactivos, Blanco de matriz y muestras fortificadas por sextuplicado a CINCO (5) niveles de concentración separados a intervalos regulares a partir de una concentración igual o inferior al MRPL; por ejemplo: CNR; 1.5CNR; 2CNR; 3CNR y 4CNR. CNR es igual o inferior al MRPL.

Los valores hallados no deben ser corregidos por recuperación, excepto para técnicas de Inmunoanálisis en tejidos donde deben corregirse por recuperación extractiva de cada muestra, calculada por el agregado de hormona marcada.

B.2-CRITERIOS DE ACEPTACION:

B.2.1-REPETIBILIDAD: El CV% debe ser menor o igual a:

DOCE POR CIENTO (12%) para analitos en concentraciones mayores g/l , $\mu g/kg$ o μ que CIEN (100)

DIECISIETE POR CIENTO (17%) para analitos en concentraciones g/l , $\mu g/kg$ o μ entre DIEZ (10) y CIEN (100)

VEINTIUNO POR CIENTO (21%) para analitos en concentraciones g/l , $\mu g/kg$ o μ menores que DIEZ (10)

CATORCE POR CIENTO (14%) para analitos en concentraciones mayores que UNO (1) y menores g/l en técnicas de $\mu g/kg$ o μ que TRES (3); Inmunoanálisis.

VEINTE POR CIENTO (20%) para analitos en concentraciones mayores y/ o iguales ($>$) que CINCO DECIMAS (0.5) y menores y/ o iguales ($<g/l$; mayores y/ o iguales ($\mu g/kg$ o μ) que UNO (1); $>$) que TRES (3) y menores y/ o iguales ($<g/l$ en técnicas de $\mu g/kg$ o μ) que CINCO (5) Inmunoanálisis.

B.2.2-REPRODUCIBILIDAD: El CV% debe ser menor o igual a:

QUINCE POR CIENTO (15%) para analitos en concentraciones g/l , $\mu g/kg$ o μ mayores que CIEN (100)

VEINTE POR CIENTO (20%) para analitos en concentraciones entre g/l , $\mu g/kg$ o μ DIEZ (10) y CIEN (100)

VEINTICINCO POR CIENTO (25%) para analitos en concentraciones g/l , $\mu g/kg$ o μ menores que DIEZ (10)

DIECISIETE POR CIENTO (17%) para analitos en concentraciones g/l en técnicas de $\mu g/kg$ o μ mayores que UNO (1) y menores que TRES (3) Inmunoanálisis.

VEINTITRES POR CIENTO (23%) para analitos en concentraciones mayores y/ o iguales ($>$) que CINCO DECIMAS (0.5) y menores y/ o iguales ($<g/l$; mayores y/ o iguales ($\mu g/kg$ o μ) que UNO (1)

>) que TRES (3) y menores y/ o iguales (<g/l en técnicas de $\mu\text{g/kg}$ o μ) que CINCO (5); Inmunoanálisis.

B.2.3-RECUPERACION

70-110%: Plaguicidas Organoclorados, PCB's, Elementos Químicos.

60-110%: Plaguicidas Organofosforados y Medicamentos Veterinarios.

80-120%: Analitos que son cuantificados con Standard Interno.

60-110%: Standard Interno, excepto en técnicas con Detector Selectivo de Masas.

50-100%: Recuperación extractiva en Inmunoanálisis.

80-120%: Recuperación global en Inmunoanálisis.

B.2.4-DIFERENCIA entre CONCENTRACION HALLADA y CONCENTRACION NOMINAL:

B.2.4.1-MUESTRAS FORTIFICADAS INTRALABORATORIO:

g/l , $\mu\text{g/kg}$ o μ + 15%, para concentraciones mayores que 100

g/kg o μ + 20%, para concentraciones menores o iguales que 100 g/l , $\mu\text{g/kg}$ o $\mu\text{g/l}$ y mayores que 10 μ

g/kg o μ + 25%, para concentraciones menores o iguales que 10 g/l , $\mu\text{g/kg}$ o $\mu\text{g/l}$ y mayores que 1 μ

g/kg o μ + 30%, para concentraciones menores o iguales que 1 g/l , μ

+ 25%, para concentraciones mayores que UNO (1); y menores que g/l en técnicas de Inmunoanálisis. $\mu\text{g/kg}$ o μ TRES (3)

+ 30%, para concentraciones mayores y/ o iguales (>) que CINCO DECIMAS (0.5) y menores y/ o iguales (< g/l ; $\mu\text{g/kg}$ o μ) que UNO (1) mayores y/ o iguales (>) que TRES (3) y menores y/ o iguales (<) que CINCO g/l en técnicas de Inmunoanálisis. $\mu\text{g/kg}$ o μ (5)

B.2.4.2-MUESTRAS INCURRIDAS INTRALABORATORIO

g/kg o μ - 20% a + 10%, para concentraciones mayores que 100 g/l , μ

- 25% a + 10%, para concentraciones menores o iguales que 100 g/l , $\mu\text{g/kg}$ o $\mu\text{g/l}$ y mayores que 10 $\mu\text{g/kg}$ o μ

- 30% a + 10%, para concentraciones menores o iguales que 10 g/l , $\mu\text{g/kg}$ o $\mu\text{g/l}$ y mayores que 1 $\mu\text{g/kg}$ o μ

- 50% a + 20%, para concentraciones menores o iguales que 1 g/l , $\mu\text{g/kg}$ o μ

- 30% a + 20%, para concentraciones mayores que UNO (1) y g/l en técnicas de Inmunoanálisis. $\mu\text{g/kg}$ o μ menores que TRES (3)

- 35% a + 20%, para concentraciones mayores y/ o iguales ($\geq$) que CINCO DECIMAS (0.5) y menores y/ o iguales ($\leq$) que UNO (1) mayores y/ o iguales ($\geq$) que TRES (3) y menores y/ o iguales ($\leq$) que CINCO g/l en técnicas de Inmunoanálisis. $\mu\text{g/kg}$ o $\mu\text{g/l}$

B.2.4.3-MUESTRAS FORTIFICADAS INTERLABORATORIO:

+ 20%, para concentraciones mayores que 100 mg/kg o mg/l.

+ 25%, para concentraciones menores o iguales que 100 mg/kg o mg/l y mayores que 10 mg/kg o mg/l. + 30%, para concentraciones menores o iguales que 10 mg/kg o mg/l y mayores que 1 mg/kg o mg/l.

+ 35%, para concentraciones menores o iguales que 1 mg/kg o mg/l.

+ 30%, para concentraciones mayores que UNO (1) y menores que g/l en técnicas de Inmunoanálisis. $\mu\text{g/kg}$ o μTRES (3)

+ 35% para concentraciones mayores y/ o iguales ($\geq$) que CINCO DECIMAS (0.5) y menores y/ o iguales ($\leq$) que UNO (1) mayores y/ o iguales ($\geq$) que TRES (3) y menores y/ o iguales ($\leq$) que CINCO g/l en técnicas de Inmunoanálisis. $\mu\text{g/kg}$ o $\mu\text{g/l}$

B.3-CRITERIOS DE CONFIRMACION:

B.3.1-TIEMPOS DE RETENCION (con respecto a los patrones):

$\pm 1\%$ (GC).

$\pm 5\%$ (HPLC).

Para HPLC, si se verifica una influencia importante de la matriz, se podrá comparar el Tiempo de retención del pico en la muestra con respecto al Tiempo de retención promedio en los fortificados.

B.3.2-TIEMPOS DE RETENCION RELATIVO AL SI: (con respecto a los patrones):

$\pm 0.5\%$ (GC).

$\pm 2.5\%$ (HPLC).

B.3.3-INSTRUMENTAL:

GC: utilizar 2 columnas de polaridad diferente.

HPLC: comparación de espectros de absorción UV-VIS (DAD). Comparación de espectros de excitación y de emisión (FLD). Alternativamente, se podrá considerar el cambio de la Fase Móvil y/o la modificación de las condiciones cromatográficas.

GC-MS, HPLC-MS: Cuatro (4) iones para sustancias prohibidas. Tres (3) iones para sustancias con LMR.

GC-MS-MS, HPLC-MS-MS: un ion precursor y 2 iones hijos.

B.3.3.1-RELACION DE ABUNDANCIAS (R) entre IONES: Intervalo de aceptación definido a partir de los patrones.

Relación de Abundancias	GC-MS	GC-MS-MS/HPLC-MS/HPLC-MS-MS
$R > 50\%$	$\pm 10\%$	$\pm 20\%$
$20\% < R < 50\%$	$\pm 15\%$	$\pm 25\%$
$10\% < R < 20\%$	$\pm 20\%$	$\pm 30\%$
$R < 10\%$	$\pm 50\%$	$\pm 50\%$

B.4-LIMITES ANALITICOS

B.4.1-MINIMO NIVEL DETECTABLE (MND): Concentración Nominal determinada a partir de la ordenada al origen de la hipérbola superior de confianza para un nivel de significación de 0.05 (95% de confianza) en el gráfico de Concentración Hallada en función de Concentración Nominal.

Cuando el valor obtenido por interpolación en el gráfico sea muy bajo y no corresponda a una concentración que realmente pueda ser detectada, el MND deberá ser confirmado experimentalmente fortificando muestras de la misma matriz al nivel de concentración más bajo que pueda detectarse, procesando el mismo número de replicados que en la validación correspondiente.

Para Inmunoanálisis se determina como el Promedio + 3 Desvíos Standard del análisis de VEINTE (20) muestras blanco.

B.4.2-MINIMO NIVEL CUANTIFICABLE (MNC): se define como la Concentración Nominal correspondiente a 3 veces el MND.

Para Inmunoanálisis se determina como el Promedio + 6 Desvíos Standard del análisis de VEINTE (20) muestras blanco.

(para sustancias prohibidas) para métodos de α B.4.3-CC confirmación:

Se determina en base al gráfico de Respuesta en función de Concentración Nominal obtenido en condiciones de reproducibilidad interna.

Se calcula como la intersección al eje y (ordenada al origen: a_0) + 2.33 DS (desvío standard de la ordenada al origen).

(para sustancias con LMR): α B.4.4-CC

Se determina en base al gráfico de Respuesta en función de Concentración Nominal obtenido en condiciones de reproducibilidad interna.

Se calcula como el LMR + 1.64 DS (desvío standard de la Reproducibilidad intralaboratorio).

(para métodos de screening cuantitativos): α B.4.5-CC

Se determina como el Valor Promedio + 3 Desvíos Standard del análisis de VEINTE (20) muestras blanco.

(para sustancias prohibidas) para métodos de β B.4.6-CC confirmación:

+ 1.64 DS (desvío standard de la α Se calcula como el CC). α Reproducibilidad Intralaboratorio al nivel del CC

(para sustancias con LMR): β B.4.7-CC

+ 1.64 DS (desvío standard de la α Se calcula como CC). α Reproducibilidad intralaboratorio al nivel del CC

(para métodos de screening cuantitativos): β B.4.8-CC

+ 1.64 DS (desvío standard de la α Se calcula como el CC). α Reproducibilidad Intralaboratorio al nivel del CC

B.4.9-INCERTIDUMBRE

Deberá determinarse para cada sustancia en base a las R % para todos los niveles de concentración en condiciones de Reproducibilidad interna de acuerdo a los lineamientos establecidos en la Disposición 06/04.

B.5-ROBUSTEZ: de acuerdo a la Disposición 06/04.

Se debe realizar para todos los métodos autorizados. Uno de los parámetros a evaluar es la influencia de las diferentes matrices incluidas en el Alcance del método (Hígado, Músculo, etc.). Si la influencia es significativa, deberán procesarse fortificados con la misma matriz que las muestras analizadas para la determinación de la Recuperación porcentual de la tanda.

B.6-SELECTIVIDAD

Analizar, para verificar que no haya interferencias con el analito de interés por la presencia de otros componentes, un número MAYOR O IGUAL A (>) VEINTE (20) muestras blanco de diferentes orígenes (diferentes animales, condiciones de cría, etc.).