



RESIDUOS DE MEDICAMENTOS VETERINARIOS

4 DE JUNIO

JORNADAS DE REFERENCIA CNA
4 y 5 JUNIO 2024

PROGRAMA

- Novedades en el análisis de residuos de medicamentos veterinarios. Validaciones según REC 2021/808. Actividades de referencia.
Patricia Muñoz y Rocío Jiménez. CNA.
- Análisis de β -agonistas en orina: estudio comparativo de hidrólisis enzimática
Javier Arteaga. CNA.
- Análisis de florfenicol y sus metabolitos en músculo por LC-MS/MS.
Rosario Velarte. LSP de Aragón.





Novedades en el análisis de residuos de medicamentos veterinarios, REC 2021/808 y actividades de referencia

Patricia Muñoz y Rocío Jiménez

Servicio de Zoosanitarios

Laboratorio Nacional de Referencia de RMV



MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030



agencia
española de
seguridad
alimentaria y
nutrición



50 ANIVERSARIO
CENTRO NACIONAL
DE ALIMENTACIÓN

Reglamento Ejecución 2021/808 de la Comisión

L 180/84

ES

Diario Oficial de la Unión Europea

21.5.2021

REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) 2021/808 DE LA COMISIÓN

de 22 de marzo de 2021

relativo al funcionamiento de los métodos analíticos para los residuos de sustancias farmacológicamente activas utilizadas en animales productores de alimentos y a la interpretación de resultados, así como a los métodos que deben utilizarse para el muestreo, y por el que se derogan las Decisiones 2002/657/CE y 98/179/CE

- Entrada en vigor el **10 de junio de 2021**
- Hasta el **10 de junio de 2026**, los requisitos establecidos en los puntos 2 y 3 del anexo I de la **DC 2002/657** seguirán aplicándose a los métodos que hayan sido validados antes del 10 de junio de 2021.
 - Punto 2: criterios de funcionamiento
 - Punto 3: validación



MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030



50 ANIVERSARIO
CENTRO NACIONAL
DE ALIMENTACIÓN

Transición DC 2002/657/CE a REC 2021/808

ALCANCE validado según DC 2002/657

10/06/2021

Transición



ALCANCE validado según REC 2021/808

10/06/2026

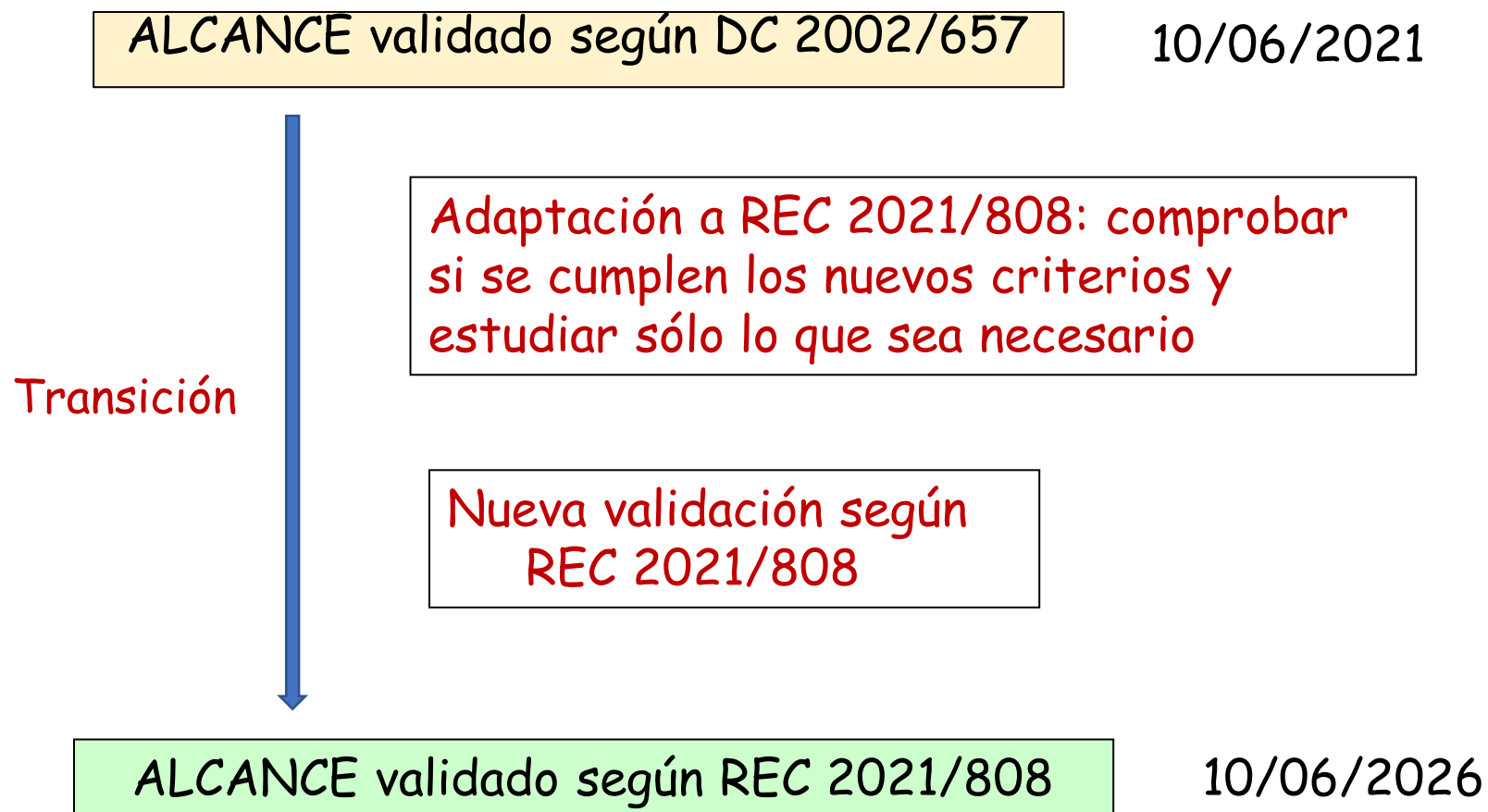


MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030

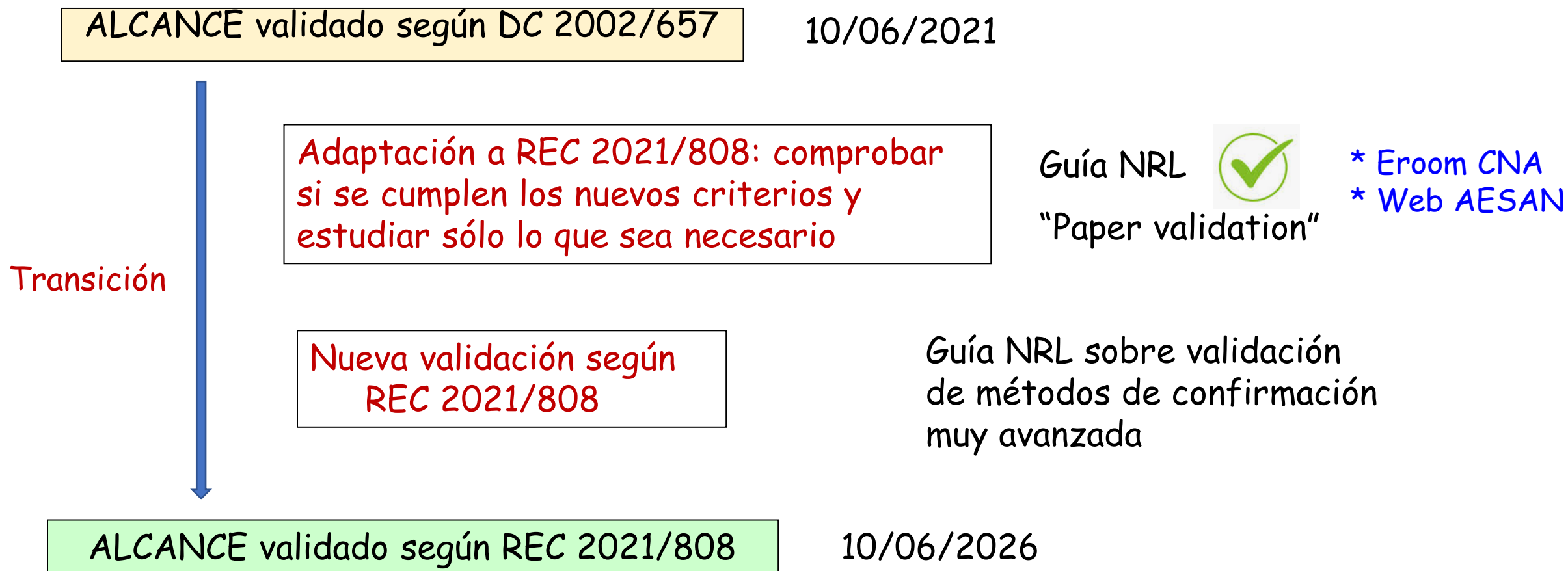


50 ANIVERSARIO
CENTRO NACIONAL
DE ALIMENTACIÓN

Transición DC 2002/657/CE a REC 2021/808

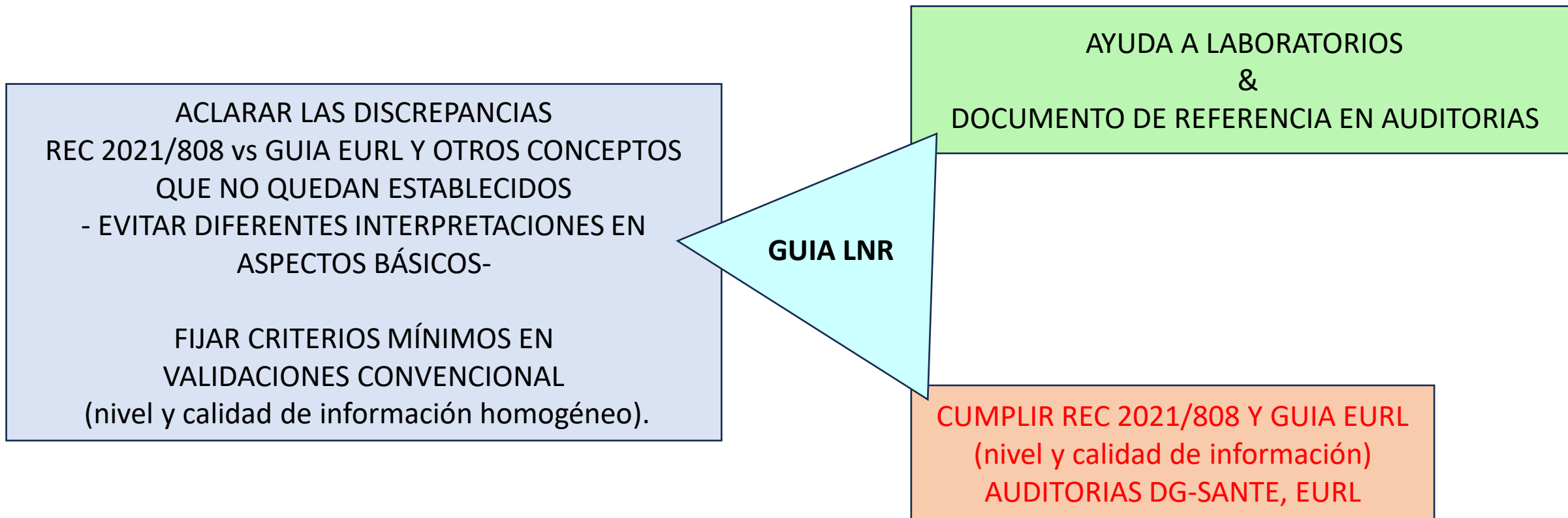


Transición DC 2002/657/CE a REC 2021/808



GUIA LNR: Validación de métodos de confirmación según REC 2021/808 (borrador)

OBJETIVOS



GUIA LNR: Validación de métodos de confirmación según REC 2021/808 (borrador)



MAPA
DIVISIÓN DE LABORATORIOS DE SANIDAD DE LA
PRODUCCIÓN AGRARIA
LABORATORIO CENTRAL DE SANIDAD ANIMAL SANTA FE

Laboratorios Nacionales de Referencia para residuos de medicamentos veterinarios

GUÍA LNR: VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE CONFIRMACIÓN SEGÚN REC 2021/808

Borrador 24/04/2024

1. OBJETO

Transcurrido un tiempo desde la publicación del REC 2021/808 y de la Guía EURL de validación de métodos de confirmación cuantitativos, y su consiguiente aplicación, se ha visto que algunos aspectos no quedan suficientemente claros dando lugar a diferentes interpretaciones. Se requiere por tanto el establecimiento de unos criterios comunes para homogeneizar las formas de trabajo.

El objetivo principal de este documento es establecer unos criterios mínimos comunes que complementen los recogidos en el Reglamento de Ejecución 2021/808 de la Comisión y en las Guías EURL asociadas al mismo, en cuanto a la validación de métodos de análisis de sustancias farmacológicamente activas por el procedimiento convencional (el método alternativo no es objeto de esta guía LNR).

El REC 2021/808 dice en repetidas ocasiones en relación a la validación de métodos:
"Pueden utilizarse otros enfoques para demostrar que el método cumple los criterios de funcionamiento, a condición de que alcancen la misma cantidad y calidad de información".

Así mismo, la GUÍA EURL de validación de métodos de confirmación cuantitativos dice: "This document serves as a guidance to support official control laboratories in the planning of method validation studies and shall contribute to the harmonisation of official control methods. Laboratories operating under Commission Implementing Regulation (EU) 2021/808 are not obliged to follow this guidance minutely; different approaches are acceptable if they provide the same level and quality of information".

- Enero 2024: se elabora un documento de partida, sobre el que se va trabajando en reuniones periódicas de los 2 LNR cada 2/3 semanas.
- 24/04/24: envío del borrador a todos los laboratorios de la red PNIR junto con una encuesta (desde los 2 LNR)
- 10/05/24: finaliza el plazo para contestar la encuesta.
- 14 laboratorios enviaron respuesta

¡GRACIAS!

GUIA LNR: Validación de métodos de confirmación según REC 2021/808 (borrador)



MAPA
DIVISIÓN DE LABORATORIOS DE SANIDAD DE LA
PRODUCCIÓN AGRARIA
LABORATORIO CENTRAL DE SANIDAD ANIMAL SANTA FE

Laboratorios Nacionales de Referencia para residuos de medicamentos veterinarios

GUÍA LNR: VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE CONFIRMACIÓN SEGÚN REC 2021/808

Borrador 24/04/2024

1. OBJETO

Transcurrido un tiempo desde la publicación del REC 2021/808 y de la Guía EURL de validación de métodos de confirmación cuantitativos, y su consiguiente aplicación, se ha visto que algunos aspectos no quedan suficientemente claros dando lugar a diferentes interpretaciones. Se requiere por tanto el establecimiento de unos criterios comunes para homogeneizar las formas de trabajo.

El objetivo principal de este documento es establecer unos criterios mínimos comunes que complementen los recogidos en el Reglamento de Ejecución 2021/808 de la Comisión y en las Guías EURL asociadas al mismo, en cuanto a la validación de métodos de análisis de sustancias farmacológicamente activas por el procedimiento convencional (el método alternativo no es objeto de esta guía LNR).

El REC 2021/808 dice en repetidas ocasiones en relación a la validación de métodos:
"Pueden utilizarse otros enfoques para demostrar que el método cumple los criterios de funcionamiento, a condición de que alcancen la misma cantidad y calidad de información".

Así mismo, la GUIA EURL de validación de métodos de confirmación cuantitativos dice: "This document serves as a guidance to support official control laboratories in the planning of method validation studies and shall contribute to the harmonisation of official control methods. Laboratories operating under Commission Implementing Regulation (EU) 2021/808 are not obliged to follow this guidance minutely; different approaches are acceptable if they provide the same level and quality of information".

Tareas pendientes:

- Análisis de los comentarios recibidos y puesta en común de los 2 LNR
- Valorar la organización de una Jornada online con los laboratorios.
- Publicación de la GUIA LNR



MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030



50 ANIVERSARIO
CENTRO NACIONAL
DE ALIMENTACIÓN

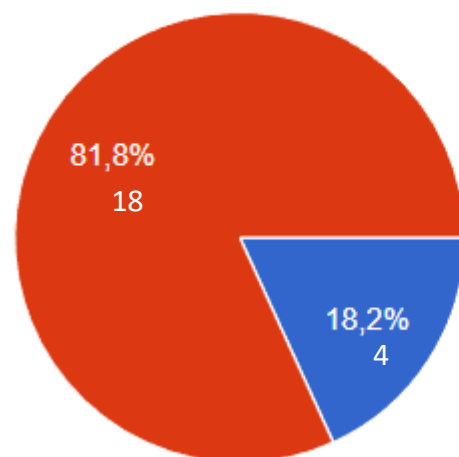
ENCUESTA transición de la DC 2002/657 al REC 2021/808



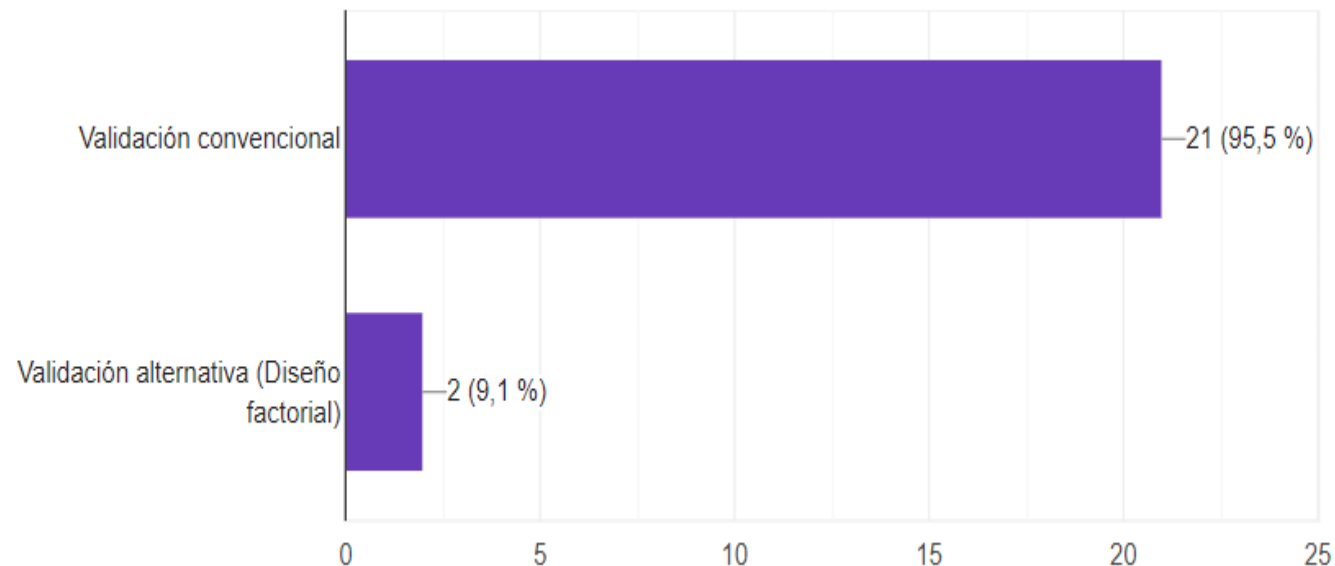
Participantes en la encuesta

Laboratorios encuestados:

Alcance flexible



● Si
● No



n=22

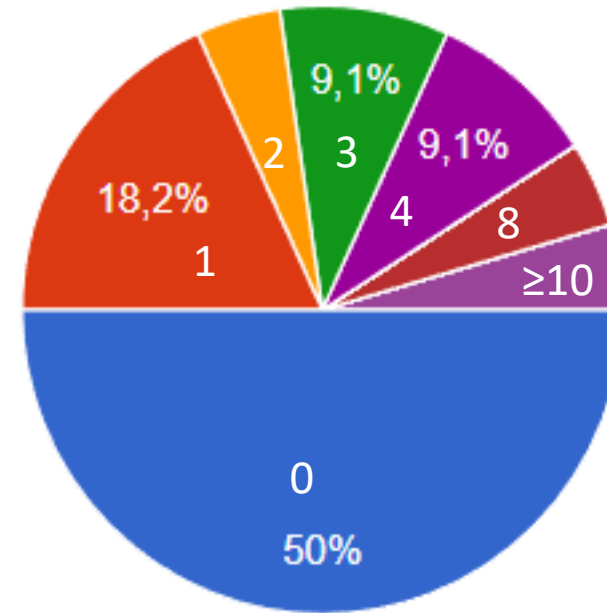
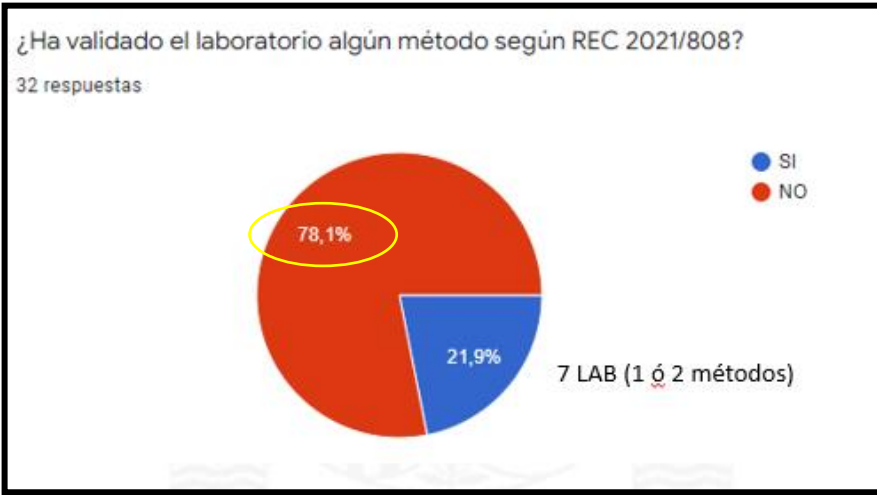


MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030



50 ANIVERSARIO
CENTRO NACIONAL
DE ALIMENTACIÓN

Métodos validados según 2021/808



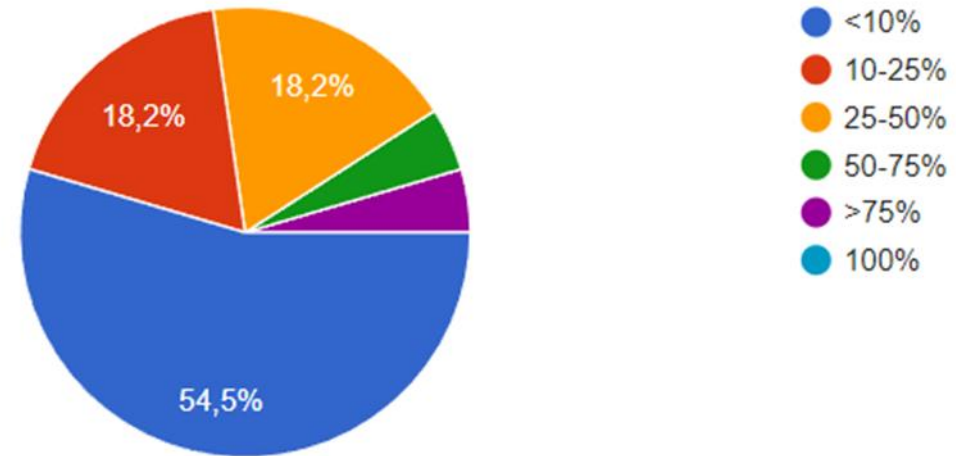
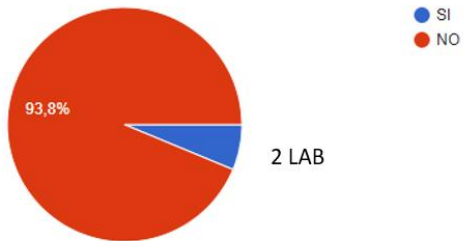
50% sin experiencia



Porcentaje de métodos validados según REC 2021/808 y acreditados

¿Tiene el laboratorio en su alcance de acreditación algún método ya validado según REC 2021/808?

32 respuestas



MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030

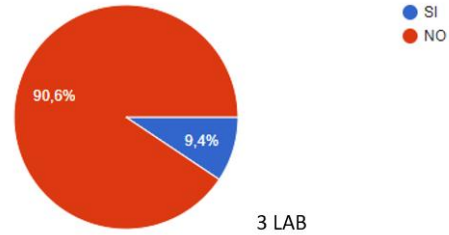


50 ANIVERSARIO
CENTRO NACIONAL
DE ALIMENTACIÓN

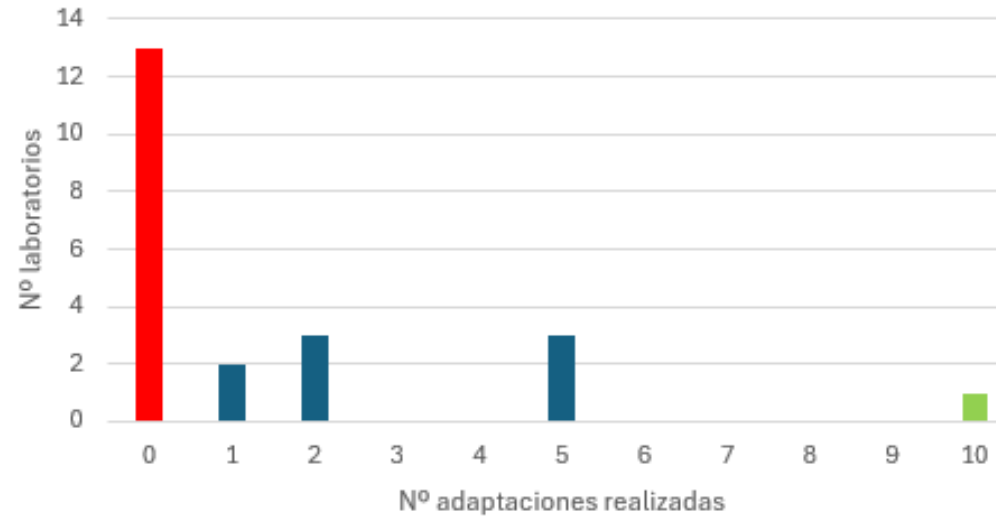
Adaptaciones de validación

¿Ha realizado el laboratorio alguna adaptación de validación según Decisión a validación según REC 2021/808?

32 respuestas



Adaptaciones de validación



9 Lab. con experiencia

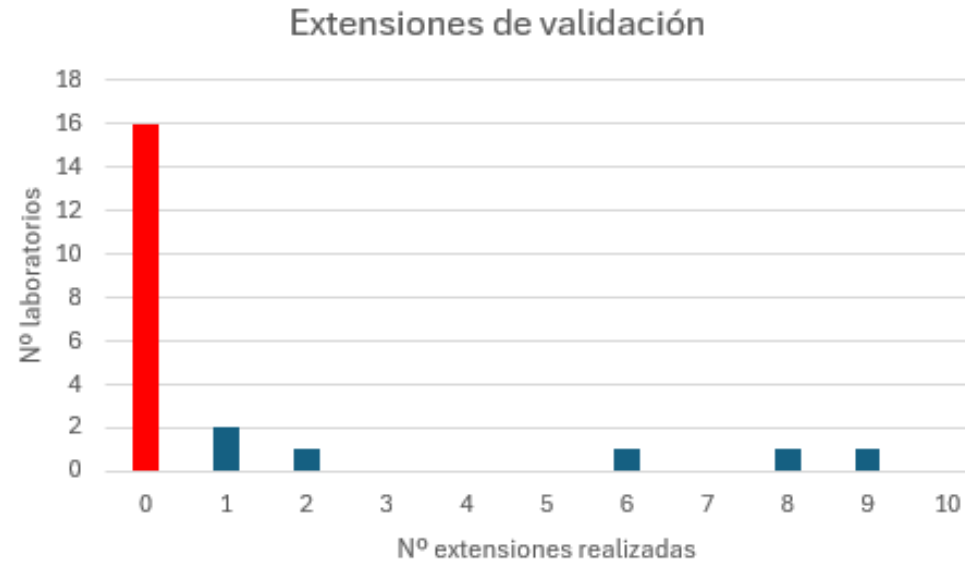


MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030



50 ANIVERSARIO
CENTRO NACIONAL
DE ALIMENTACIÓN

Extensiones de validación



6 Lab. con experiencia



MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030

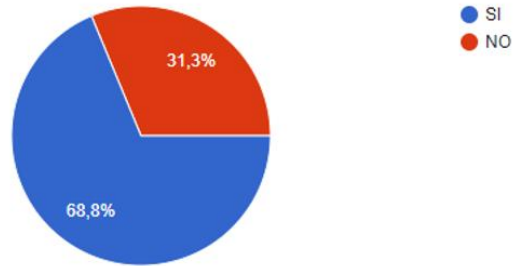


50 ANIVERSARIO
CENTRO NACIONAL
DE ALIMENTACIÓN

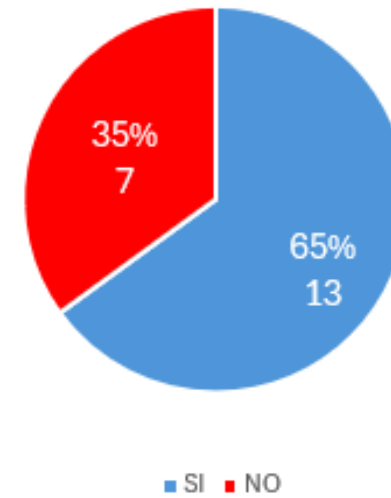
¿Plazo 10/06/2026 factible?

¿Ve factible cumplir con el plazo límite del 10 de junio de 2026 para tener todo el alcance de acreditación de su laboratorio según REC 2021/808?

32 respuestas



Cumplir con el plazo



MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030



50 ANIVERSARIO
CENTRO NACIONAL
DE ALIMENTACIÓN

Conclusiones

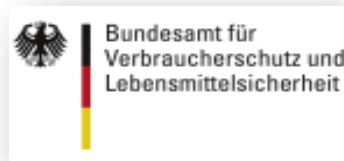
- Se ha producido un avance en estos 2 años
- Se han realizado varias adaptaciones de validación: la guía LNR ha sido de utilidad.
- Ha aumentado –ligeramente- el número de laboratorios que realizan validación alternativa (de 1 a 2)
- 50 % de laboratorios no ha hecho todavía ninguna validación según REC 2021/808



PARTICIPACIÓN EN WORKSHOPS LR-UE

➤ JOINT WORKSHOP: 21 al 23 de mayo de 2024, Berlín

Organizado por los 3 EURL de RMV



GUIAS EURL

GUÍAS PUBLICADAS:

- Control de calidad en rutina (“ongoing quality control”) -oct 2020- ✓
- Extensión de métodos de confirmación cuantitativos -julio 2021- ✓
- Validación métodos de confirmación -nov 2021- ✓
- Guía MMPRs (versión 2.0 –jun. 2022-) ✓
- Guía sobre Standard Addition Method -nov 2022- ✓ ➡ Cada vez más usado
- Guía sobre validación métodos de cribado (versión 1.1 –sept 2023) ✓

Disponibles en:

- * Eroom CNA
- * EURL portal

<https://eurl-residues.eu/>

GUÍAS EN ELABORACIÓN:

- Guía específica sobre validación de métodos HRMS.
- Guía/Lista de sustancias incluidas en los grupos del ANEXO I CDR 2022/1644.

} Joint Workshop
May 2024, Berlin

Guía sobre validación métodos de cribado (versión 1.1 –sept 2023):

4 General considerations for validation

For confirmatory methods used as screening methods, the same performance characteristics as other screening methods have to be determined and especially detection capability $CC\beta$ which is not determined for confirmatory methods. A strategic planning of the validation experiments required for the confirmation method validation usually allows to validate the method in terms of screening simultaneously without the need for additional experiments.

A partir de los experimentos realizados para una validación de confirmación



$CC\beta$

Métodos de confirmación utilizados como métodos criba



2) Screening and Confirmation method for Florfenicol residues in muscle by LC-MSMS



Florfenicol : authorised substance (B1a - antibiotic)
marker residue : Σ FF + metabolites measured as florfenicol amine

MRL_{poultry} : 100 $\mu\text{g/kg}$

Joint Workshop
May 2024, Berlin



Conventional Validation : Experimental design

Matrices	MRLs	Level 1: LCL	Level 2	Level 3	Level 4	Level 5
Poultry OFPS	100 $\mu\text{g/kg}$	10 $\mu\text{g/kg}$	20 $\mu\text{g/kg}$	50 $\mu\text{g/kg}$	100 $\mu\text{g/kg}$	150 $\mu\text{g/kg}$
		0,1 MRL			MRL	1,5 MRL

15



MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030



50 ANIVERSARIO
CENTRO NACIONAL
DE ALIMENTACIÓN

Métodos de confirmación utilizados como métodos criba

Joint Workshop
May 2024, Berlin



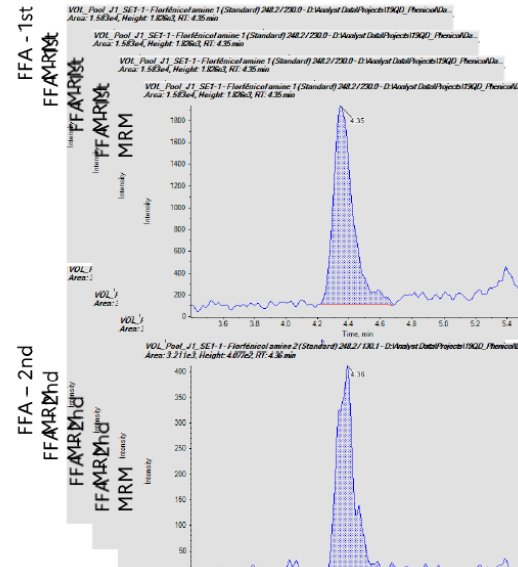
CC β for FFA in Poultry

Identification criteria in screening :

2 specific transition detected with S/N > 3 @ the relative retention time $\pm$ 1%

Spiked sample @ Level 1 (0.1 MRL)

Poultry muscle : MRL = 100 μ g/kg



Method 2

Investigation of fortified blank material at concentration levels at and above the STC. For each concentration level 20 fortified blanks shall be analysed in order to ensure a reliable basis for this determination. CC β = The concentration level, where only $\leq$ 5 % false compliant results remain.

For 21 / 21 spiked samples
@ Level 1 : LCL/STC =
0,1 x MRL => 10 μ g/kg

Detection with S/N > 3
for both transitions
And RRT < $\pm$ 1%

CC β = Level 1 = 10 μ g/kg

Quality control :

In each batch a QC (blk fortified
at CC β) is used

MÉTODO 2:

Cálculo de CC β sin
rectas de calibrado
(válido para cribado
cualitativo, semicuant. y
cuantitativo)



MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030



50 ANIVERSARIO
CENTRO NACIONAL
DE ALIMENTACIÓN

Métodos de confirmación utilizados como métodos criba

Ejemplo: Método de análisis de cloranfenicol en músculo –CNA-

CAP	NMC	0.5 RPA	RPA	2 RPA
Niveles validados (µg/kg)	0,05	0,075	0,15	0,30
n	36	36	36	36
Confirmaciones %	100	100	100	100

$CC\alpha = NMC + 2,33 \times \text{incertidumbre estándar (combinada) al NMC}$ $CC\alpha = 0,07 \mu\text{g/kg}$

Métodos de confirmación utilizados como métodos criba

Ejemplo: Método de análisis de cloranfenicol en músculo –CNA-

CAP	NMC	0.5 RPA	RPA	2 RPA
Niveles validados (µg/kg)	0,05	0,075	0,15	0,30
n	36	36	36	36
Confirmaciones %	100	100	100	100

$CC\alpha = NMC + 2,33 \times \text{incertidumbre estándar (combinada) al NMC}$ $CC\alpha = 0,07 \mu\text{g/kg}$

Si el laboratorio tiene que analizar muchas muestras y la mayoría suelen ser negativas, se puede realizar un cribado previo (series más sencillas –menos controles de calidad y posible sin calibración-)
En este caso, $NMC = STC = 0,05 \mu\text{g/kg}$ (*) $CC\beta = 0,05 \mu\text{g/kg}$

(*): nivel más bajo validado en el cual se detecta el analito al menos el 95 % de las veces (100 % realmente). Falsos positivos $\leq 5\%$

Métodos de confirmación utilizados como métodos criba

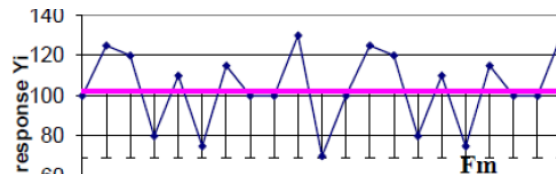
Ejemplo: Método de análisis de cloranfenicol en músculo –CNA-

CAP	NMC	0.5 RPA	RPA	2 RPA
Niveles validados (µg/kg)	0,05	0,075	0,15	0,30
n	36	36	36	36
Confirmaciones %	100	100	100	100

$CC\alpha = NMC + 2,33 \times \text{incertidumbre estándar (combinada) al NMC}$ $CC\alpha = 0,07 \mu\text{g/kg}$

Si el laboratorio tiene que analizar muchas muestras y la mayoría suelen ser negativas, se puede realizar un cribado previo:

$CC\beta = 0,05 \mu\text{g/kg}$



Media adiciones a (STC=NMC=CCβ)

Posible valor de corte = Media -2SD

Si la señal/concentración supera el valor de corte, se repite el análisis con el esquema de serie de confirmación

Métodos de confirmación utilizados como métodos criba

Situación actual:

- Algunos laboratorios aplican una estrategia similar, pero aplicando $CC\alpha$ (análisis cualitativo).
- Sería más correcto establecer un $CC\beta$ ya que es un cribado “encubierto” (comentario de los EURLs en evaluaciones).
- Cambio paulatino a métodos con $CC\beta$ y $CC\alpha$ (validados como cuantitativos de confirmación, pero que se pueden usar como cribado) **-SÓLO SI SE VAN A USAR COMO CRIBADO-**
 - El concepto va a estar incluido en la Guía LNR en elaboración (ya está en la GUIA EURL de cribado)
 - Adaptación de PNT/alcance de acreditación de cada laboratorio.
 - Adaptación configuración de la aplicación informática que recoge los datos de todos los laboratorios para permitir introducir 2 límites por determinación –y criba /confirmación/ambos .
 - Formato envío de resultados a EFSA/Comisión (hay Estados miembros que ya lo usan)

Grupo de trabajo EURL-NRL para la creación de BD estabilidad -soluciones patrón y muestras- (Joint Workshop)



Bundesamt für
Verbraucherschutz und
Lebensmittelsicherheit



VF

UNIVERZA V LJUBLJANI
Veterinarska fakulteta



WAGENINGEN
UNIVERSITY & RESEARCH



ILVO



MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030



50 ANIVERSARIO
CENTRO NACIONAL
DE ALIMENTACIÓN

ACTIVIDADES COMO LNR: Cursos para laboratorios de las CCAA



Curso de análisis de β -agonistas en orina por LC-MS/MS (30-ZO-24)

*Servicio de Zoonosarios
Laboratorio Nacional de Referencia de RMV*

- Celebrado el 9 de mayo de 2024
- 13 participantes de 10 CCAA
- Próximamente:
Jornada online sobre análisis de hormonas



MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030



50 ANIVERSARIO
CENTRO NACIONAL
DE ALIMENTACIÓN

ACTIVIDADES COMO LNR: ORGANIZACIÓN ENSAYOS DE APTITUD 2024

Antibióticos multifamilia en músculo (78-ZO-24)



- Incluirá diferentes familias de antibióticos (excepto aminoglucósidos). 2 muestras.
- Envío de Comunicación de Laboratorio con la convocatoria y formato de inscripción.
- Similar al que se organizó en 2021 (75-ZO-21)



Servicio de Zoosanitarios:

- Pilar Sierra Martín
- Eva Mateos del Olmo
- Javier Arteaga García
- Rocío Jiménez Mazo
- Javier Navarro Peláez

¡Muchas gracias equipo!



MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030



50 ANIVERSARIO
CENTRO NACIONAL
DE ALIMENTACIÓN



GRACIAS POR VUESTRA
ATENCIÓN



MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030



agencia
española de
seguridad
alimentaria y
nutrición

50

50 ANIVERSARIO
CENTRO NACIONAL
DE ALIMENTACIÓN

*Cuidando de ti
desde el laboratorio*



Centro
Nacional de
Alimentación



Análisis de β -agonistas en orina: estudio comparativo de hidrólisis enzimática.

F. Javier Arteaga

Servicio de Zoosanitarios

Laboratorio Nacional de Referencia de RMV



MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030



50 ANIVERSARIO
CENTRO NACIONAL
DE ALIMENTACIÓN

Objeto del estudio

El reactivo enzimático utilizado por la mayoría de los laboratorios está sufriendo problemas de stock importantes. Por ello, y tras varios correos con los laboratorios de control oficial y con los EURL, nos decidimos a realizar el siguiente experimento, en aras de buscar una alternativa aceptable a dicho reactivo

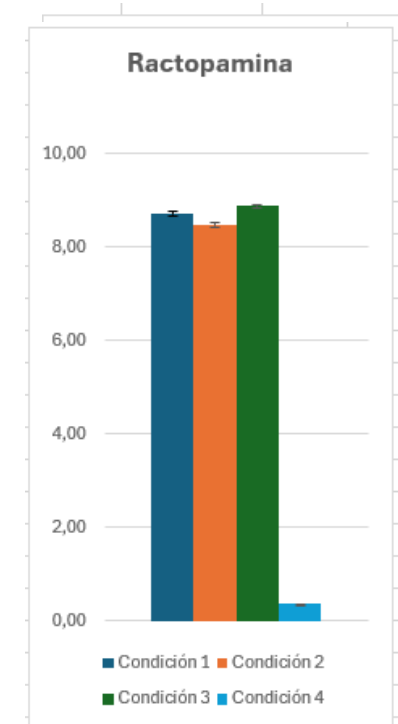
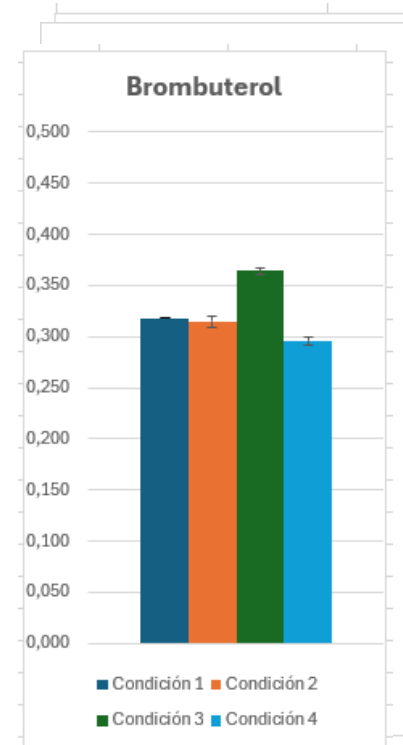
Codigo	RR_123	RR_466	RR_476
Enzimas	B-glucuronidase/arylsulfatase Merck 104114	B-glucuronidase E. coli 3707580001	B-glucuronidase/arylsulfatase Roche 10127698001
B-glucuronidasa	30 U/ml, pH 3.8, 38 °C	140 U/ml, pH 7?, 37 °C. T° optima 48°C, pH opt 6-6,5	5,5 U/ml, pH?, 38 °C. pH opt 4,5-5
Arilsulfatasa	60 U/ml, pH 6,2, 38 °C	-	2,6 U/ml, pH?, 38 °C. pH opt 4,5-5
Volumen trabajo	30 ul	30 ul	100 ul
Condiciones de trabajo	PNT	PNT pero incubando a pH6	PNT

La serie contiene una **curva de calibrado** y **dos tubos** en cada una de las **3 condiciones con enzima**, más **dos tubos extra sin añadir ninguna enzima**. La muestra utilizada fue una **muestra incurrid** del PT BETA0622 del BVL, en concreto la 211105 (P210230 (U_114)), **positiva para ZIL, CLB, ISOX, RCT, BRB**.

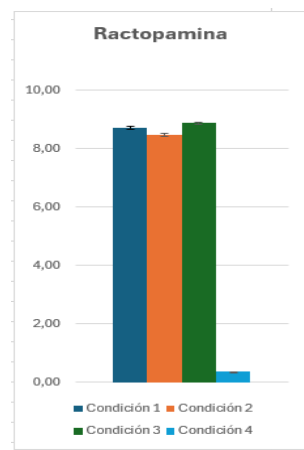
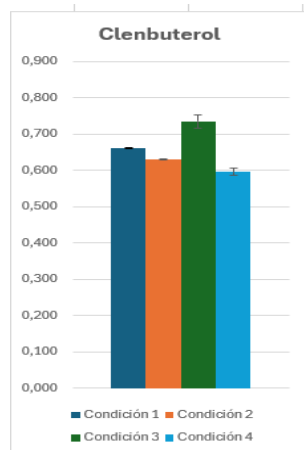
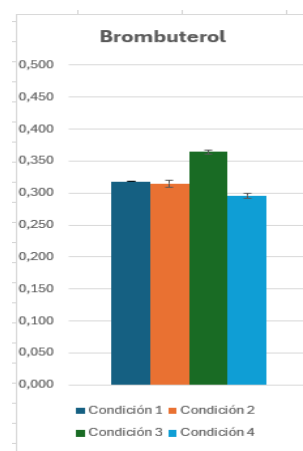
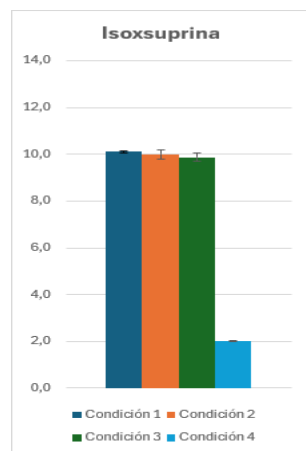
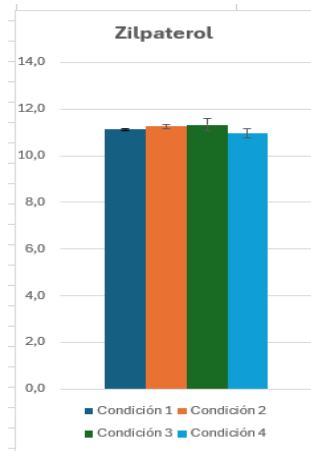
Primer experimento

Condición 1	B-glucuronidase/arylsulfatase (<i>H. pomatia</i>) Merck ref. 104114, 30 ul, pH=5, 40°C
Condición 2	B-glucuronidase (<i>E. coli</i>) ref. 3707580001, 30 ul, pH=6, 40°C
Condición 3	B-glucuronidase/arylsulfatase (<i>H. pomatia</i>) Roche ref. 10127698001, 100 ul, pH=5, 40°C
Condición 4	Sin enzima, PH=5, 40°C

Concentración/analito	Original (10/01/2023)	Condición 1	Condición 2	Condición 3	Condición 4	Observaciones/conclusión



Primer experimento



Sample:	P210230	Assigned value:	10.7 µg/L
Measurand:	zilpaterol	Reproducibility std. dev.:	24.4 %
No. of laboratories:	32	Range of tolerance:	5.49-16.0 µg/L

Sample:	P210230	Assigned value:	5.17 µg/L
Measurand:	ractopamine	Reproducibility std. dev.:	67.2 %
No. of laboratories:	36	Range of tolerance:	-1.78-12.12 µg/L

Sample:	P210230	Assigned value:	0.302 µg/L
Measurand:	brombuterol	Reproducibility std. dev.:	28.7 %
No. of laboratories:	36	Range of tolerance:	0.129-0.475 µg/L

Sample:	P210230	Assigned value:	0.536 µg/L
Measurand:	clenbuterol	Reproducibility std. dev.:	23.4 %
No. of laboratories:	36	Range of tolerance:	0.285-0.786 µg/L

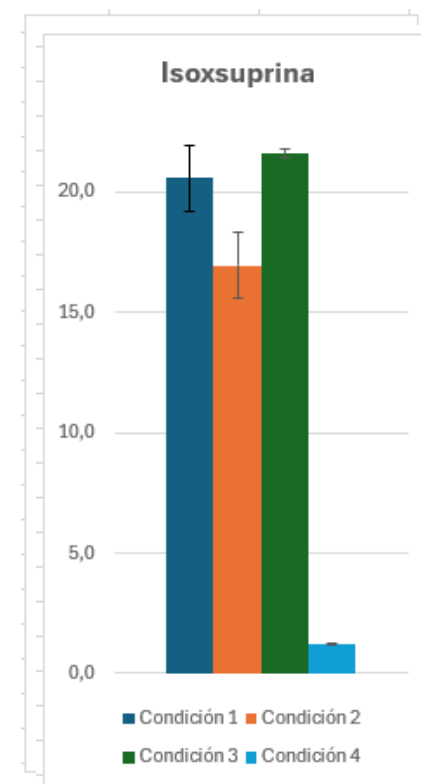
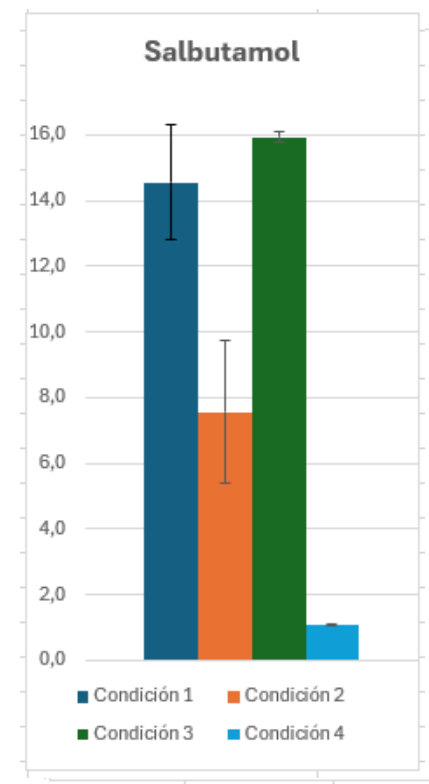
Sample:	P210230	Assigned value:	7.77 µg/L
Measurand:	isoxsuprine	Reproducibility std. dev.:	49.4 %
No. of laboratories:	34	Range of tolerance:	0.099-15.4 µg/L



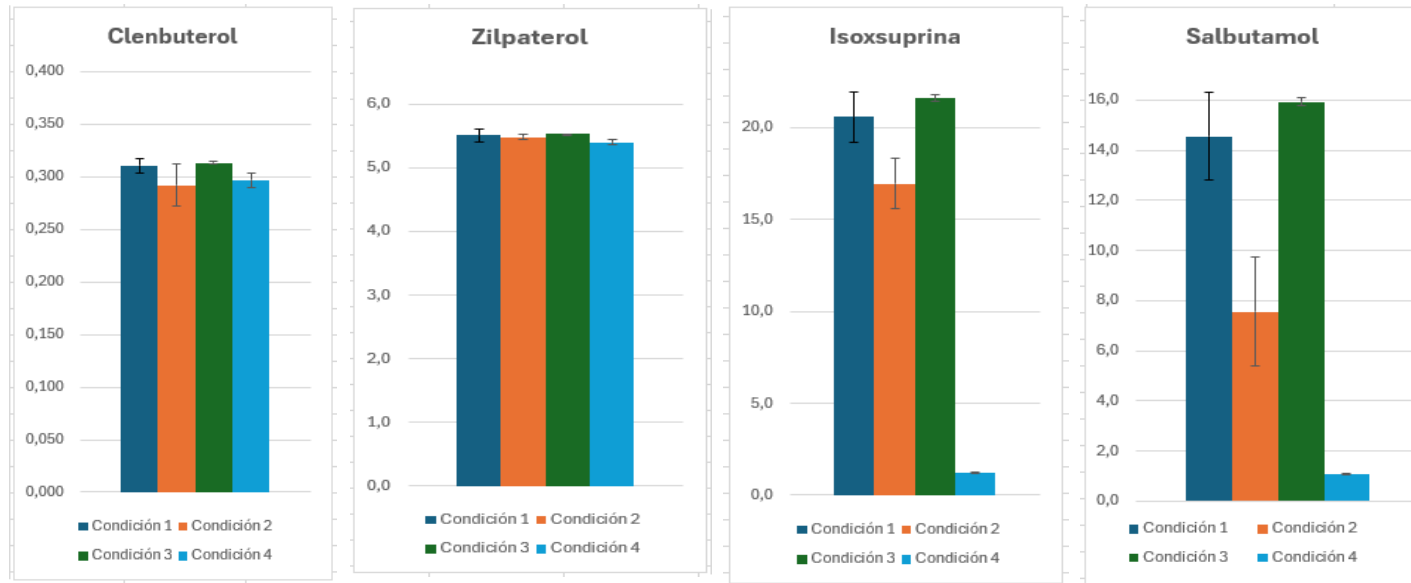
Segundo experimento

Mismo planteamiento que antes. La muestra utilizada fue una **muestra incurrida** del **PT BETA0622** del BVL, en concreto la 211104 (P210231 (U_33)), **positiva para ZIL, CLB, ISOX y SLB**.

Condición 1	B-glucuronidase/arylsulfatase (<i>H. pomatia</i>) Merck ref. 104114, 30 ul, pH=5, 40°C
Condición 2	B-glucuronidase (<i>E. coli</i>) ref. 3707580001, 30 ul, pH=6, 40°C
Condición 3	B-glucuronidase/arylsulfatase (<i>H. pomatia</i>) Roche ref. 10127698001, 100 ul, pH=5, 40°C
Condición 4	Sin enzima, PH=5, 40°C

[illegible]

Segundo experimento



Sample:	P210231	Assigned value:	0.256 µg/L
Measurand:	clenbuterol	Reproducibility std. dev.:	24.2 %
No. of laboratories:	36	Range of tolerance:	0.132-0.380 µg/L

Sample:	P210231	Assigned value:	-
Measurand:	isoxsuprine	Reproducibility std. dev.:	-
No. of laboratories:	34	Range of tolerance:	-

Sample:	P210231	Assigned value:	-
Measurand:	salbutamol	Reproducibility std. dev.:	-
No. of laboratories:	30	Range of tolerance:	-

Sample:	P210231	Assigned value:	5.19 µg/L
Measurand:	zilpaterol	Reproducibility std. dev.:	25.7 %
No. of laboratories:	33	Range of tolerance:	2.52-7.85 µg/L

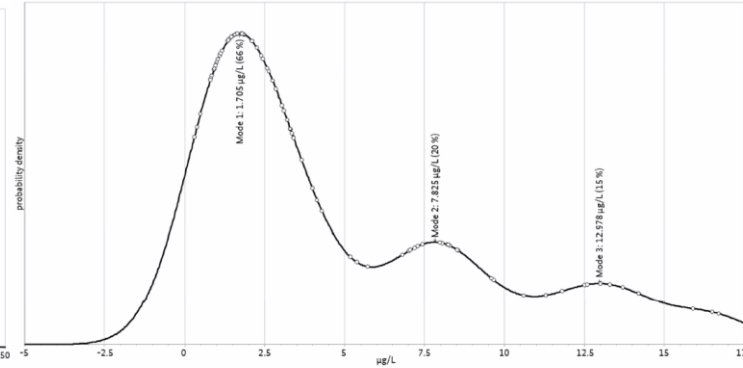
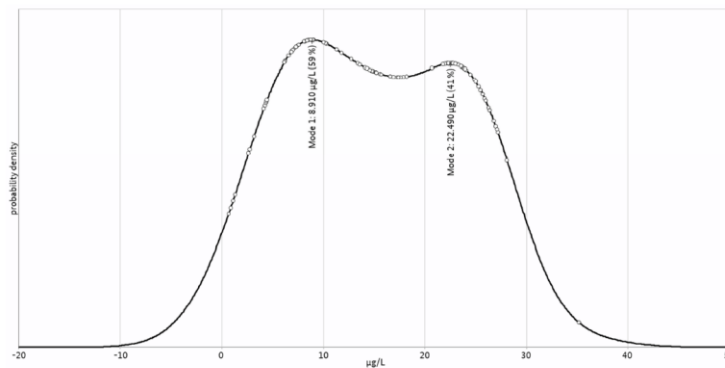


Figure 19: Kernel density estimation of the submitted quantitative results for **isoxsuprine** in P210231 (bandwidth 0.91*/p*0.2).

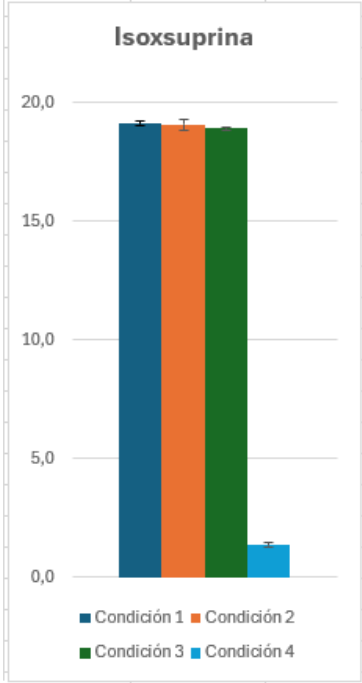
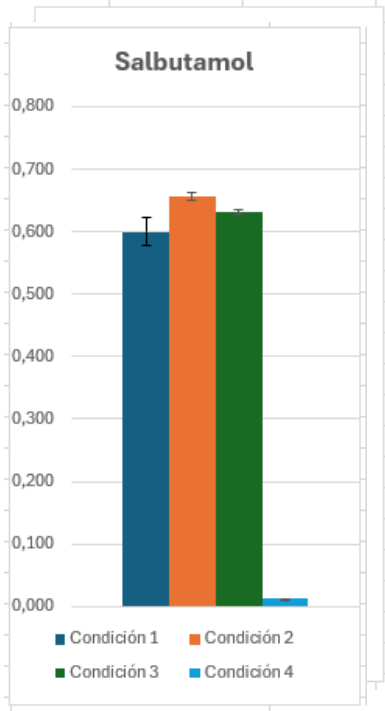
Figure 22: Kernel density estimation of the submitted quantitative results for **salbutamol** in P210231 (bandwidth 0.91*/p*0.2).

Cuarto experimento

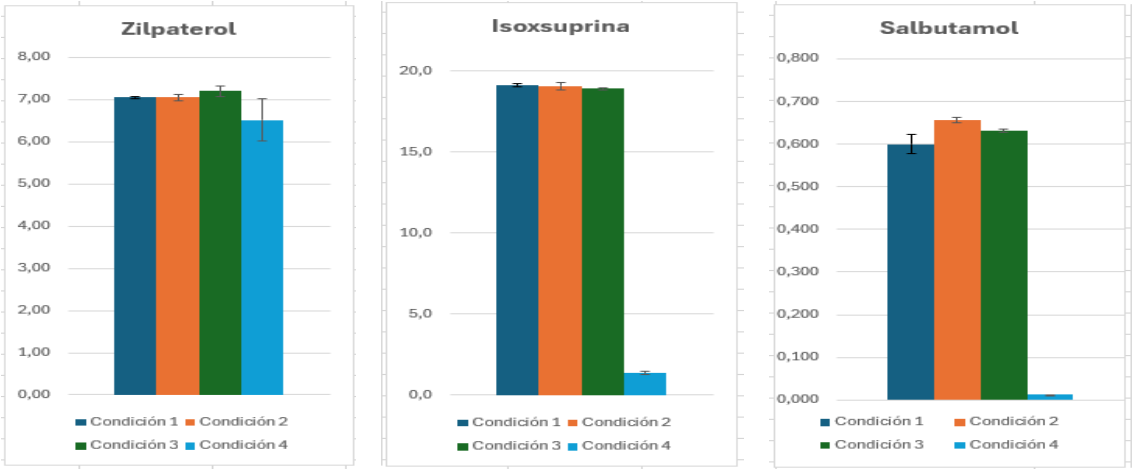
Repetición del experimento 1, utilizando 30 µl de enzima en las 3 condiciones. La muestra utilizada fue una muestra incurrid del PT BETA0622 del BVL, en concreto la 211107 (P210232 (U_132)), positiva para ZIL, ISOX y SLB.

Condición 1	B-glucuronidase/arylsulfatase (<i>H. pomatia</i>) Merck ref. 104114, 30 ul, pH=5, 40°C
Condición 2	B-glucuronidase (<i>E. coli</i>) ref. 3707580001, 30 ul, pH=6, 40°C
Condición 3	B-glucuronidase/arylsulfatase (<i>H. pomatia</i>) Roche ref. 10127698001, 30 ul, pH=5, 40°C
Condición 4	Sin enzima, PH=5, 40°C

Concentración/analito	Original (10/01/2023)	Condición 1	Condición 2	Condición 3	Condición 4	Observaciones/conclusión



Cuarto experimento



Sample:	P210232	Assigned value:	6.87 µg/L
Measurand:	zilpaterol	Reproducibility std. dev.:	22.1 %
No. of laboratories:	32	Range of tolerance:	3.83-9.90 µg/L
Sample:	P210232	Assigned value:	-
Measurand:	isoxsuprine	Reproducibility std. dev.:	-
No. of laboratories:	34	Range of tolerance:	-
Sample:	P210232	Assigned value:	0.283 µg/L
Measurand:	salbutamol	Reproducibility std. dev.:	75.9 %
No. of laboratories:	9	Range of tolerance:	0.043 - 0.862 µg/L

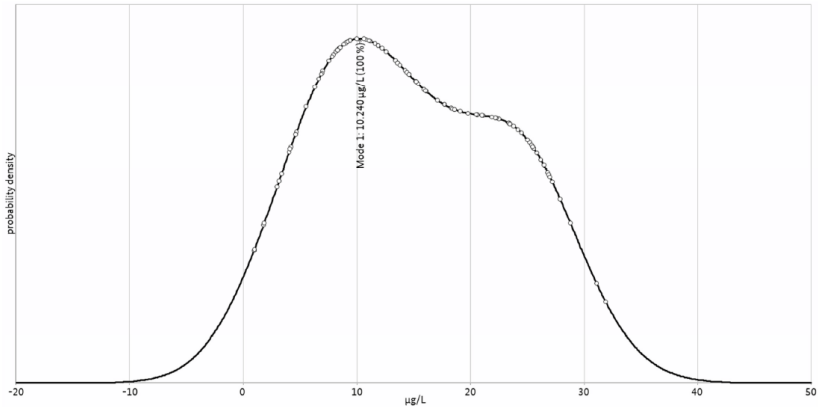


Figure 27: Kernel density estimation of the submitted quantitative results for isoxsuprine in P210232 (bandwidth $\sigma R/\sqrt{n} \approx 0.2$).

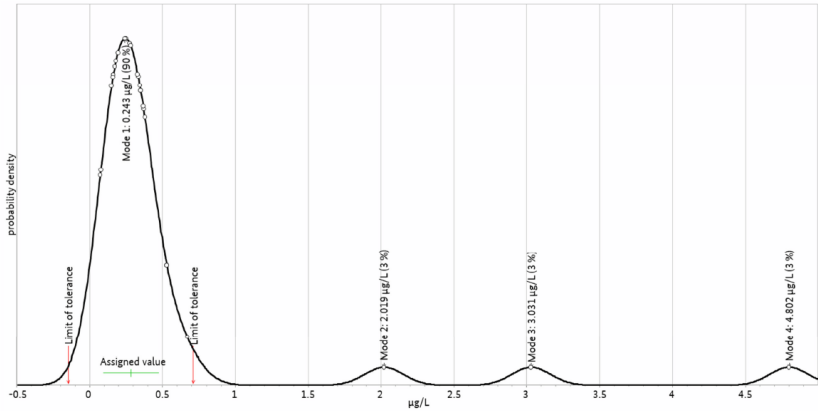


Figure 30: Kernel density estimation of the submitted quantitative results for salbutamol in P210232 (bandwidth $0.9\sigma/\sqrt{n} \approx 0.2$).





GRACIAS POR VUESTRA
ATENCIÓN



MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030



agencia
española de
seguridad
alimentaria y
nutrición



Centro
Nacional de
Alimentación

50

50 ANIVERSARIO
CENTRO NACIONAL
DE ALIMENTACIÓN

*Cuidando de ti
desde el laboratorio*