



Guía para la ampliación de alcances con nuevas matrices en métodos amparados bajo alcances flexibles en análisis de residuos de plaguicidas

Sergio Robredo Buces

Responsable Técnico del Servicio

Residuos de Plaguicidas CNA



Centro Nacional de Alimentación
JORNADAS DE REFERENCIA

ANTECEDENTES

- La idea del desarrollo de esta guía tiene su origen en una necesidad que se puso de manifiesto en la reunión del GT de plaguicidas, celebrada el 04/10/2023.
- En dicha reunión, varios de los laboratorios participantes habían tenido dificultades cuando aplicaban el procedimiento de ampliación de nuevas matrices en alcances flexibles que, en el caso de los residuos de plaguicidas, están al amparo de la NT19 de ENAC.
- El documento de referencia en el ámbito de los residuos de plaguicidas en productos agroalimentarios es el **Documento SANTE/11312/2021: ANALYTICAL QUALITY CONTROL AND METHOD VALIDATION PROCEDURES FOR PESTICIDE RESIDUES ANALYSIS IN FOOD AND FEED.**
- A diferencia de otras áreas, en nuestro caso, no se establecen métodos normalizados, sino que el Documento establece unos criterios de aceptación para la validación y el desempeño de los métodos.
- El Documento detalla:
 - El Procedimiento de Validación del Método (Apéndice A).
 - Los Criterios de Aceptación para la Validación y el Desempeño del Método Analítico (Apartado G)
 - Los Criterios de Aceptación en el Desempeño de los Análisis de Rutina (Verificación *on-going*) (Apartado C) y en concreto los Criterios de Aceptación para las Recuperaciones de Rutina (subapartado C43).

DOCUMENTO SANTE 11312/2021: ÍNDICE DE CONTENIDO

- A. INTRODUCTION AND LEGAL BACKGROUND
- B. SAMPLING, TRANSPORT, TRACEABILITY AND STORAGE OF LABORATORY SAMPLES
- C. SAMPLE ANALYSIS
 - * **C43: Acceptance criteria for routine recoveries**
- D. IDENTIFICATION OF ANALYTES AND CONFIRMATION OF RESULTS
- E. REPORTING RESULTS
- F. PESTICIDE STANDARDS, STOCK SOLUTIONS AND CALIBRATION STANDARD SOLUTIONS
- G. ANALYTICAL METHOD VALIDATION AND PERFORMANCE CRITERIA**
- H. ADITIONAL RECOMENDATIONS

ANNEX A. COMMODITY GROUPS AND REPRESENTATIVE COMMODITIES

APPENDIX A. METHOD VALIDATION PROCEDURE: OUTLINE AND EXAMPLE APPROACHES

APPENDIX B. EXAMPLES OF CONVERSION FACTORS

APPENDIX C. EXAMPLES FOR ESTIMATION OF MEASUREMENT UNCERTAINTY OF RESULTS

APPENDIX D. EXAMPLE OF ROUNDING, REPORTING AND INTERPRETING RESULTS

APPENDIX E. AN OVERVIEW OF THE OPTIONS TO ACCOUNT FOR METHOD BIAS AND USE OF RECOVERY CORRECTION FACTORS

APPENDIX F. GLOSSARY

- La **dificultad** en la implementación del procedimiento al aplicar los criterios de aceptación de la recuperación.
- Los **criterios de aceptación de Validación (apartado G)**:
 - Recuperación Media de Validación en el intervalo 70%-120% (30%-140% en determinados casos justificados).
 - RSD Validación $\leq 20\%$.
- Ampliación a nuevas matrices: **Apéndice A (Procedimiento de Validación)**: Una forma práctica de incluir una nueva matriz del grupo de matrices (*commodity group*) en alcances flexibles es realizando recuperaciones en el control de calidad diario (*on-going quality control*).
- El **criterio de aceptación de recuperaciones de rutina** (subapartado C43):
 - Límites de aceptación de recuperaciones individuales deberían (**SHOULD**) encontrarse en el rango de Recuperación Media $\pm 2 \cdot \text{RSD}$ (para ese *commodity group*).
 - Para cada *commodity group* los valores de Recuperación Media y de RSD pueden tomarse de la Validación Inicial o de los resultados de las Recuperaciones *On-going*.
 - Admite que, de forma práctica, se puede aplicar un **rango por defecto de [60%-140%]** como criterio de aceptación de las **recuperaciones individuales en los análisis de rutina**.
- La **discrepancia** procedía de que, en general, los laboratorios interpretaban que podían aplicarse los criterios de aceptación por defecto de rutina (*on-going*) (C43, 60%-140%) para la validación. Sin embargo, ENAC interpretaba que los criterios de aceptación que se debían aplicar son los del apartado G: 70%-120%.

Ante esta situación, en la reunión se planteó que los LNRs actuarían de la forma siguiente:

- En primer lugar, propondrían en nombre de España que la **nueva versión del Documento SANTE**, que iba a editarse ese año 2023 incluyese la correspondiente aclaración **de forma explícita**: cuál debe ser el **criterio de aceptación** en esta situación.
- En todo caso, éramos conscientes de que esta modificación era difícil, dado que esta circunstancia no parecía que se hubiese producido en otros Estados Miembros. La modificación del Documento SANTE requiere el consenso (**TODOS los EE.MM.**) y otros Estados podrían temer que esta modificación les afectase negativamente. Por lo tanto, en esa reunión se planteó la **posibilidad** de actuar a escala nacional. La forma de hacerlo era desarrollar una **guía sobre la base de la Nota Técnica 55 (NT55) de ENAC**.
- El intento de que la aclaración fuese incluida en el Documento SANTE no prosperó, por lo que se procedió a iniciar la redacción de esta guía.

DESARROLLO DEL TEXTO

- **Etapa inicial:**
 - Análisis del texto del Documento SANTE por parte de los LNRs.
 - Recopilación de experiencia de los dos LNRs en las últimas auditorías de ENAC.
 - Consulta técnica al EURL-FV:
 - Muchos EE.MM. son más flexibles (sobre todo, los que están en el comité) cuando hay métodos multiresiduo con muchos compuestos y no entienden bien que ocurra esto en una auditoría.
 - Quizás hay otro asunto y es que algunas matrices, aunque nuevas, son muy fáciles de asimilar a un determinado grupo y otras no tanto.
- Redacción del **primer** borrador de la Guía por parte de los dos LNRs de forma coordinada. Empezamos en Noviembre- Diciembre 2024. La edición 01 del documento tiene fecha del 13/12/2024. En primer lugar, a escala de los propios departamentos.
- Consulta a los correspondientes **departamentos de Calidad**, a quienes reiteramos nuestro agradecimiento.
- **Distribución a los LCOs** para solicitud de aportaciones y comentarios. El 12/02/2025 se envió el borrador de la Guía a los LCO para su revisión y aportaciones con fecha límite del 14/03/2025.
- **Evaluación e Incorporación de las aportaciones aceptadas.**
- **Nueva edición del texto y nueva revisión** por parte de los **Departamentos de Calidad** de ambos LNRs.
- Sigüientes pasos:
 - Solicitud de revisión por el EURL-FV y ENAC.
 - Publicación definitiva del texto.

CUESTIONES CONSIDERADAS PARA LA REDACCIÓN DEL TEXTO

Apartado G6 del Documento SANTE 11312/2021: reconoce que la recuperación media *puede (can)* SER ACEPTADA fuera de 70-120% (pero dentro de 30-140%) **SI** esta situación está **BIEN ESTABLECIDA** y $RSD \leq 20\%$.

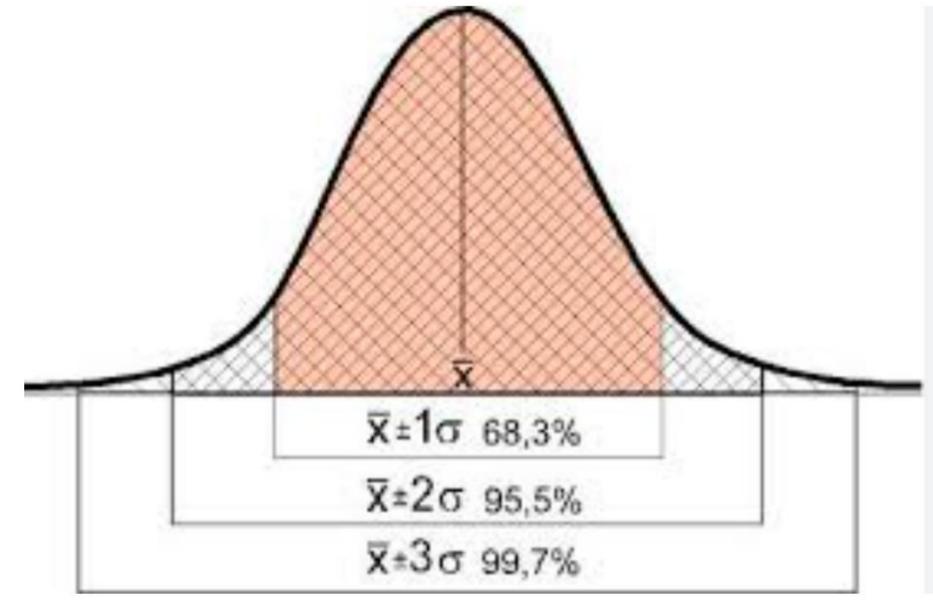
Method performance acceptability criteria

G6 A quantitative analytical method should be demonstrated at both initial and extended validation stages, as being capable of providing acceptable mean recovery values at each spiking level and for at least one representative commodity from each of the relevant commodity groups (see Annex A and Table 4). Mean recoveries from initial validation should be within the range 70–120 %, with an associated repeatability $RSD_r \leq 20$ %, for all analytes within the scope of a method. In exceptional cases, mean recovery rates outside the range of 70-120 % can be accepted if they are consistent ($RSD \leq 20$ %) and the basis for this is well established (e.g. due to analyte distribution in a partitioning step), but the mean absolute recovery should not be lower than 30 % or above 140 %. Within-laboratory reproducibility (RSD_{WR}), which may be determined from on-going QC-data in routine analyses, should be ≤ 20 %, excluding any contribution due to sample heterogeneity. The LOQ is the lowest spike level of the validation meeting these method performance acceptability criteria.

¿CÓMO GARANTIZAR QUE DICHA BASE ESTÁ BIEN ESTABLECIDA?



ESTADÍSTICA



NÚMERO DE RÉPLICAS

CRITERIOS

REC media : 30-140%

DSR \leq 20%

¿Qué **número de réplicas** es suficiente?



G3 The method must be tested to assess sensitivity/linearity, mean recovery (as a measure of trueness or bias), precision (as repeatability RSD_r) and LOQ. Besides quantitative validation aspects, also the identification parameters must be assessed e.g. ion ratio and retention time. **A minimum of 5 replicates is required** (to check the recovery and precision) at the targeted LOQ or RL of the method, and at least one other higher level, for example, 2-10x the targeted LOQ or the MRL. Where the residue definition includes two or more analytes, then wherever possible, the method should be validated for all analytes included in the residue definition.



MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030



agencia
española de
seguridad
alimentaria y
nutrición



Centro
Nacional de
Alimentación

RESUMEN

Para introducir una **nueva matriz** en el alcance flexible, dado que pertenece al **grupo de matrices**, se procederá de la siguiente manera:

Inicialmente, se realizará **una réplica** de recuperación al **LQ**.

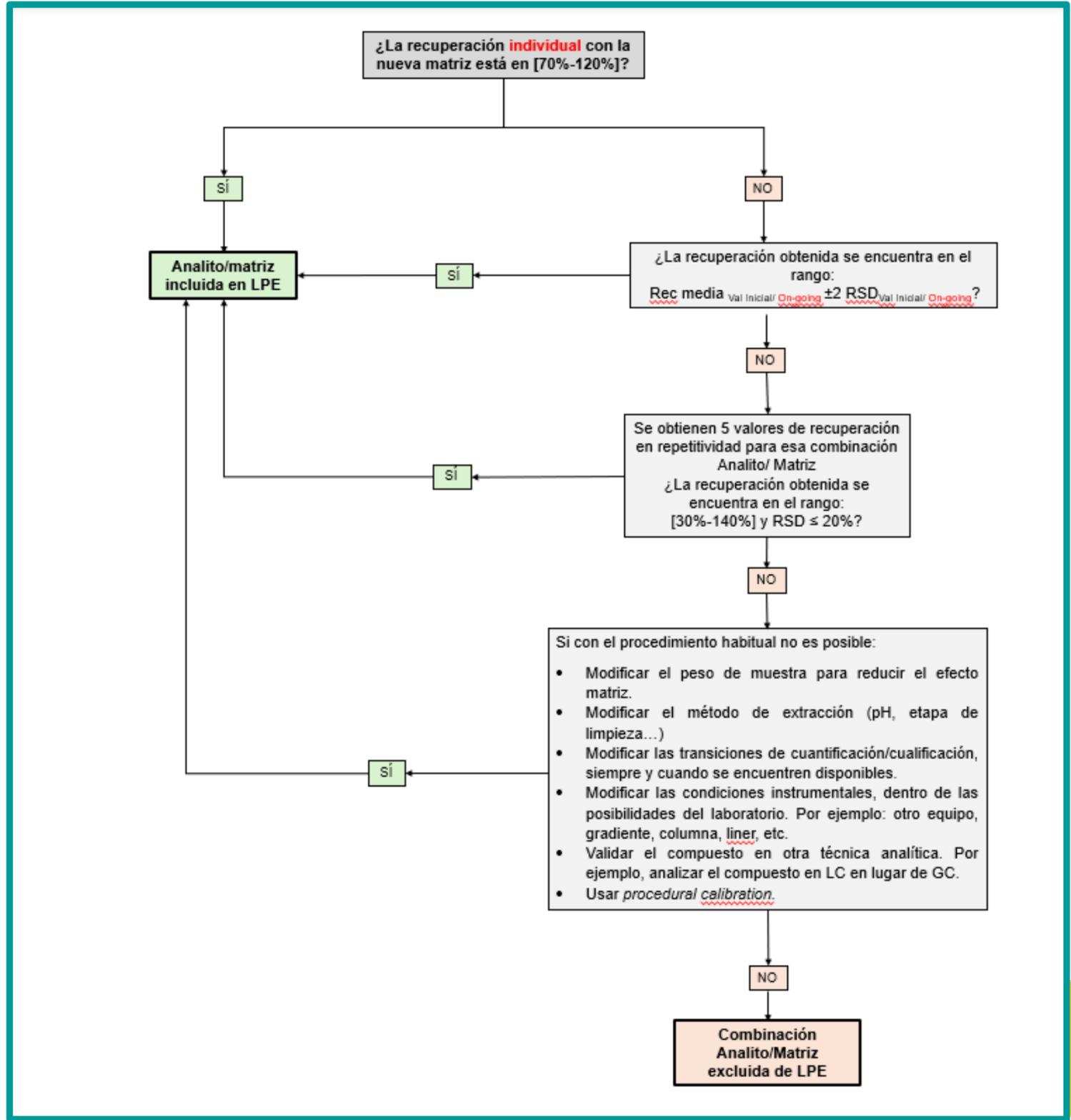
Sólo para aquellos analitos en los que se observe que la recuperación se encuentre fuera del intervalo 70%-120%, se llevará a cabo un **procedimiento adicional**. Estaría justificado dar por aceptable ese valor de recuperación media cuando se den las siguiente **CONDICIONES** :

- El **número de réplicas** para esa combinación analito – matriz debe ser **SUFICIENTEMENTE ALTO**: Documento SANTE 11312/2021 = **5**.
- **Recuperación media** dentro del [**30%-140%**], siempre y **cuando RSD ≤ 20%**.

Al ser existir un valor de recuperación alejado del 100%, hay que considerar la **corrección con la recuperación**.

CONSIDERACIONES/ CONCLUSIONES

- Se reconoce la diversidad de comportamientos en combinaciones analito-matriz que se maneja en los alcances flexibles de plaguicidas.
- El comportamiento queda puesto de manifiesto por una acumulación de un n^o suficiente de réplicas.
- Puede ser la única forma práctica de mantener alcances flexibles tan amplios como los que se manejan en plaguicidas.



EJEMPLO: Método Flexible en Vegetales con Alto Contenido en Agua.

Matriz representativa: MANZANA. 

Matriz a incorporar: PERA. 

Recuperación en PERA al LQ: Resultados:

- 98 analitos: Rec individual en 70-120%: ACEPTADOS.
- 1 analito: 65% → ¿Está en el Rango de ese grupo de matrices?
 - P.ej.: Rec media: 60%, RSD = 5%: 50-70%: Sí: SE ACEPTA.
 - P.ej.: Rec media: 45%: 5 réplicas.

ASPECTOS QUE QUEREMOS DESTACAR

Para incluir la **nueva matriz**: hacer **Validación Adicional**. Inicialmente: 1 Réplica al LQ en la NUEVA MATRIZ.

- Cumplir los criterios generales de identificación: TR e ion ratio (D2, D11, D12 y tabla 3 Documento SANTE 11312/2021).
- Si Rec individual dentro de [70%, 120%] : Inclusión DIRECTA de la matriz en la LPE. Se interpreta como el **comportamiento esperado**, no se debe interpretar como la incorporación con una única réplica, sino un valor adicional de recuperación para ese grupo de matrices.
- Si está fuera de [70%, 120%]:
 - Investigar por qué: **Calibración matrix-matched en misma matriz !**
 - Justificado bibliográficamente (Revistas cuartiles Q1 y Q2): Se acepta.
 - Si se encuentra en el intervalo de Rec media* ± 2 DSR del grupo de matrices: Se acepta.
 - **Si lo anterior no cumple:** Hacer validación adicional (5 Recs, LQ, repet.) **Curva cal dentro de rango !:**
Se acepta con siguientes condiciones:
 - Rec media* en rango [30%, 140%].
 - RSD $\leq 20\%$
 - **Mínimo 5 valores !**
 - **Pruebas analíticas que se pueden aplicar para intentar conseguir alcanzar estos criterios:** Modificaciones del método en caso de que los criterios anteriores no se cumplan.
- **Los procedimientos cuya calibración corrige el sesgo (procedural calibration, adición estándar) tienen que encontrarse en el intervalo [70%, 120%].**

**¡MUCHAS
GRACIAS!**



Centro Nacional de Alimentación

