

10 DE JUNIO DE 2025



Novedades en el análisis de RMV

Validaciones REC (UE) 2021/808

Actividades de referencia

Patricia Muñoz
Servicio de Zoonosarios



Centro Nacional de Alimentación
JORNADAS DE REFERENCIA

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**
A partir de esa fecha, todos los métodos debían validarse según 808.
- Hasta el **10 de junio de 2026**, podrán utilizarse métodos validados según **DC 2002/657**.

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

ALCANCE validado según DC 2002/657

10/06/2021

Adaptación a REC 2021/808: comprobar si se cumplen los nuevos criterios y estudiar sólo lo que sea necesario

Guía NRL

"Paper validation"



Nueva validación según REC 2021/808

Guía NRL sobre validación de métodos de confirmación (Ed 1 -jul 2024- y Ed 2 -dic 2024-)



Modificación del REC 2021/808 (jul 2024)

ALCANCE validado según REC 2021/808

10/06/2026

Transición



GUIAS LNR



- Elaboradas por los 2 LNR de RMV en España
- Publicadas en la web de AESAN:
DOCUMENTOS DE REFERENCIA EN AUDITORIAS EN ESPAÑA
(También disponibles en el Eroom del CNA)

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

Disponibles en:

* Eroom CNA

(acceso restringido)

* EURL portal

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

(acceso público)

GUÍAS EN ELABORACIÓN:

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

1º ENCUESTA ESTADO IMPLEMENTACIÓN REC 2021/808

- Encuesta llevada a cabo por los 2 LNR del 18 de febrero al 3 marzo – trabajo realizado por el LCSA Santa Fe: ¡Gracias! 😊
- Realizada sobre el Excel PNIR 2025 (que contenía la configuración de los laboratorios actualizada en otoño 2024).
- 47 laboratorios contactados - 15616 determinaciones
- Cumplimentación online:
 - Procedimiento de validación utilizado en cada determinación:
 - DC 2002/657
 - REC 2021/808
 - GUÍA SANTE –sólo posible para A3b-B1b-
 - Si se seleccionaba 657, se pedía cumplimentar la previsión de validación 808.
 - No se podía modificar la configuración de los laboratorios.

AD	AE	Observaciones
Validación según:	Previsión de acreditación según REC 2021/808	
REC 2021/808		
DC_2002_657		junio-25
GUÍA SANTE		
GUÍA SANTE		
GUÍA SANTE		

1ª ENCUESTA ESTADO IMPLEMENTACIÓN REC 2021/808

Resultados de la encuesta enviados a laboratorios y vocales/coordinadores PNIR (presentación pdf –25/04/25-)



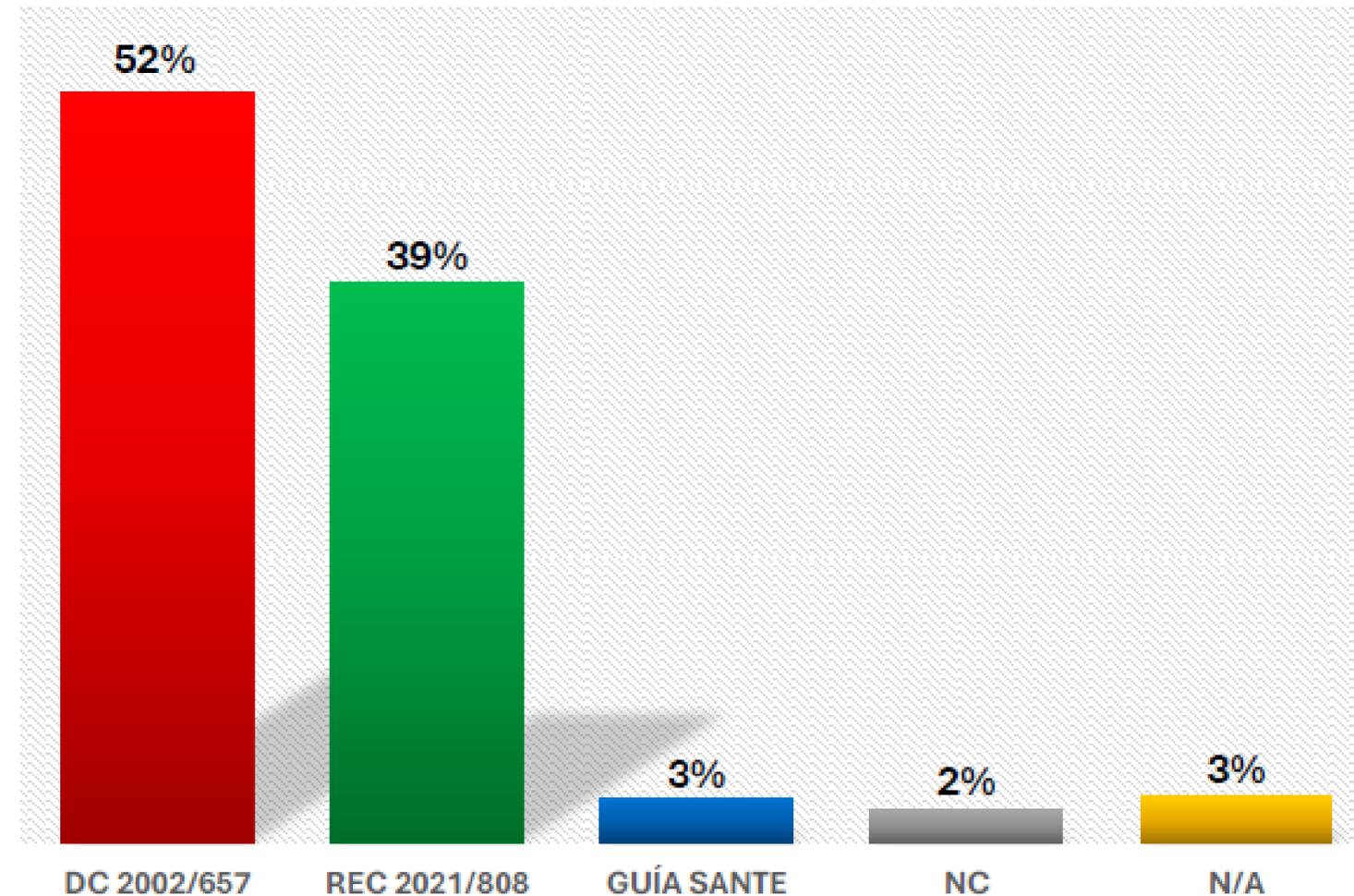
Grado de implementación del REC 2021/808 en los métodos de análisis empleados en PNIR



Laboratorios Nacionales de Referencia para residuos de medicamentos veterinarios

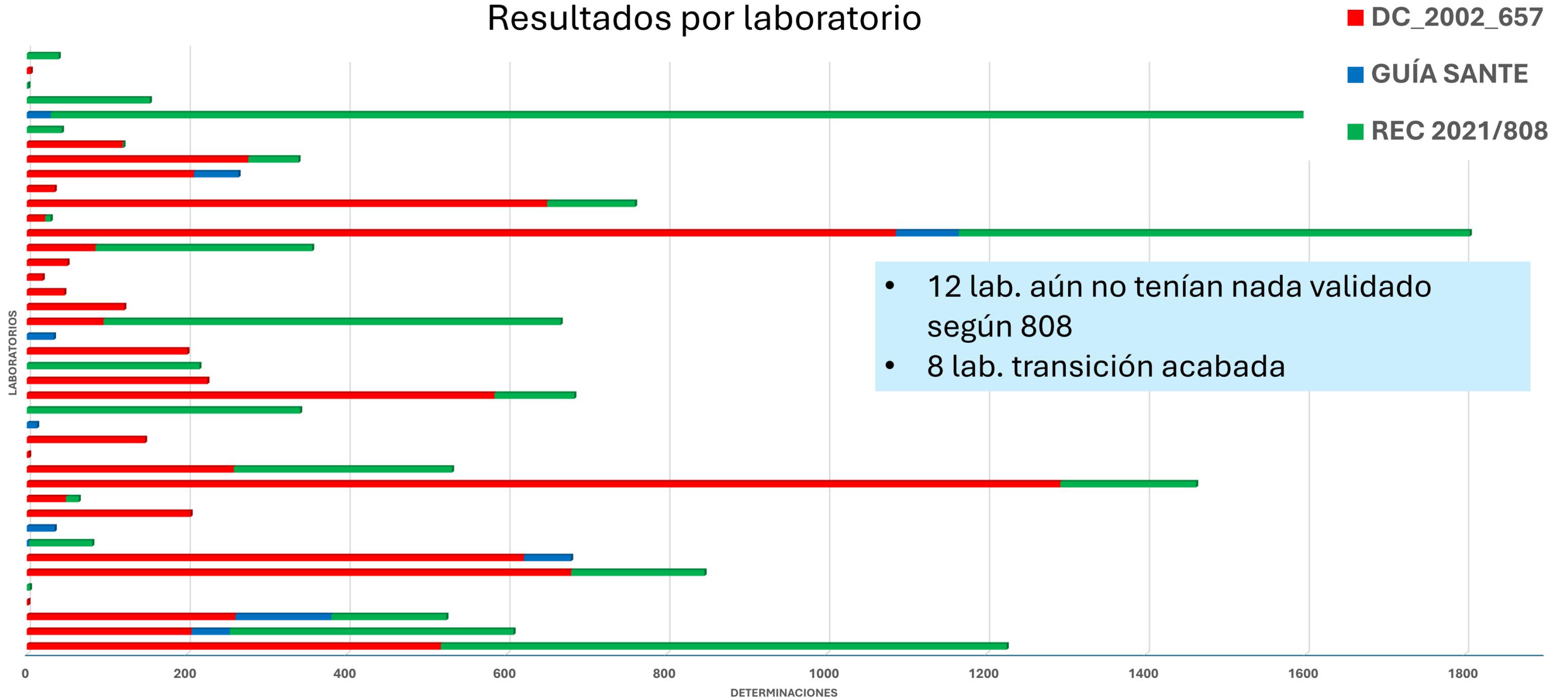


DETERMINACIONES ANALÍTICAS EN PNIR Según norma por la que se ha validado /acreditado Oct-2024 (Enero 2025)

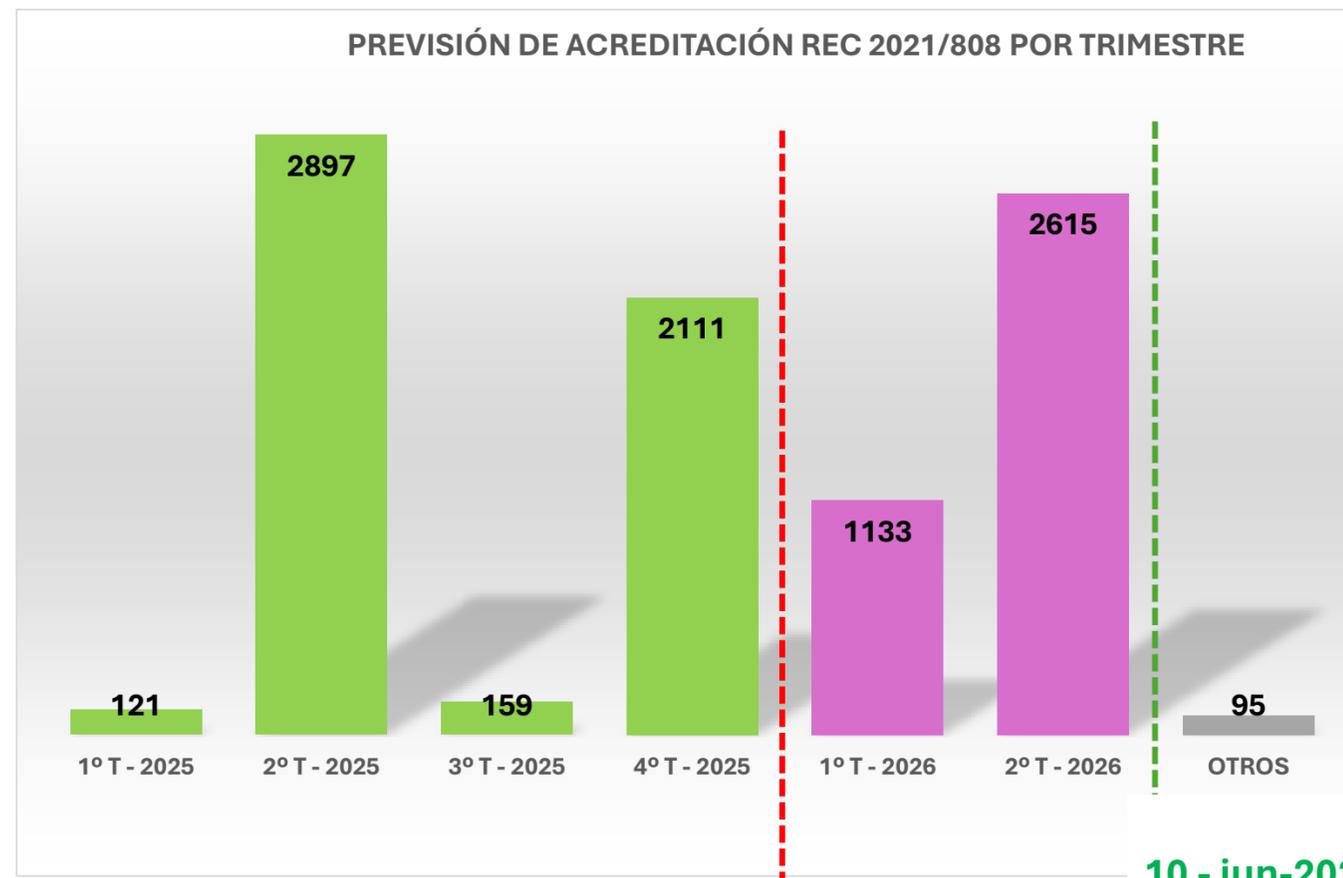


1ª ENCUESTA ESTADO IMPLEMENTACIÓN REC 2021/808

Resultados por laboratorio



1ª ENCUESTA ESTADO IMPLEMENTACIÓN REC 2021/808



- ❑ Finales 2025: + **5288 (33,9 %)**
- ❑ Junio 2026: + **3748 (24 %)**
- ❑ Otros: 1% → Sin previsión, no especificado. **95 (0,6 %)**

- ❑ **TOTAL: 15616 determinaciones**

10-dic-2025

Fecha límite de ENAC para aceptar solicitudes de expedientes de acreditación conforme al Reg. 2021/808 - y así garantizar la fecha límite del 10-jun-2026.

**TR REGLAMENTO UE 2021/808 Rev. 1 Junio 2022
(LABORATORIOS CON ALCANCE CERRADO)**

10 - jun-2026 LABORATORIOS CON ALCANCE FLEXIBLE

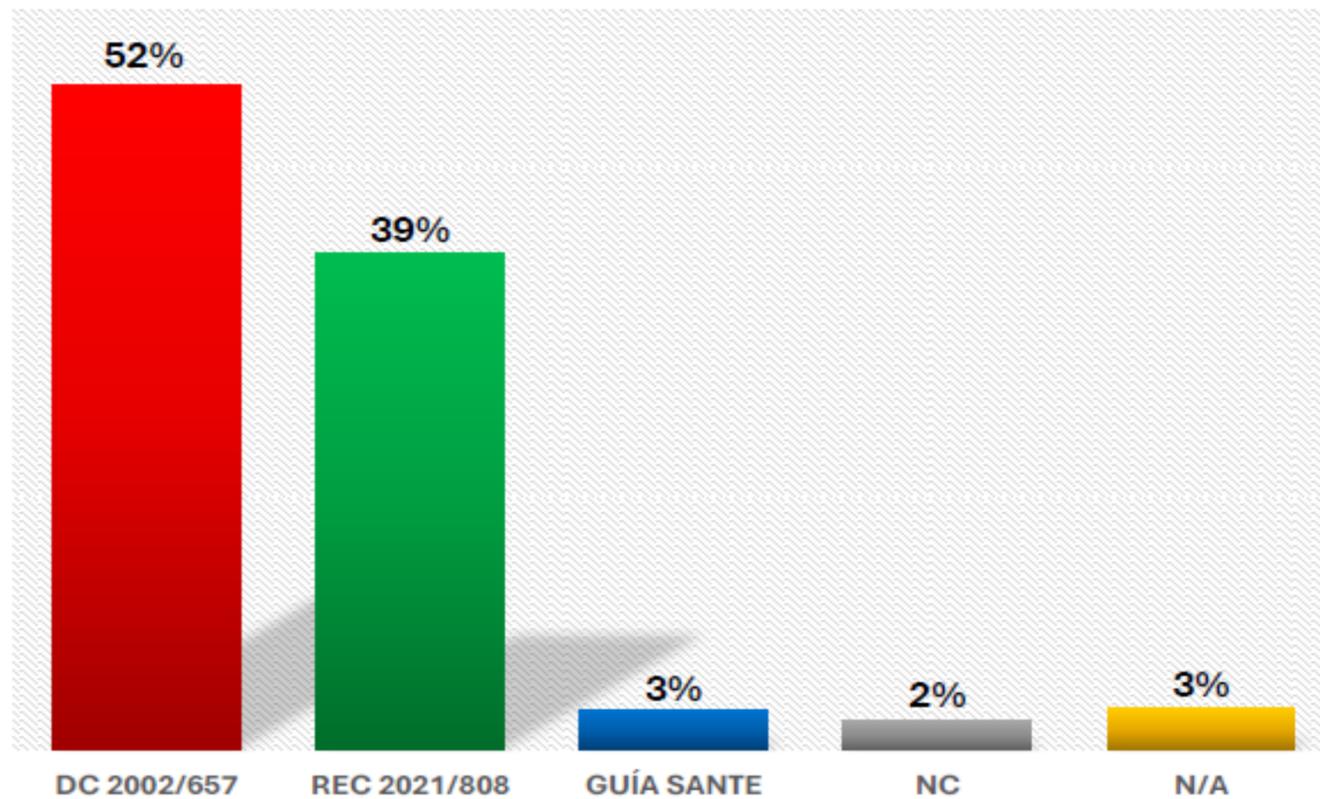
2ª ENCUESTA ESTADO IMPLEMENTACIÓN REC 2021/808

- Mail enviado el 26 de mayo de 2025. Plazo hasta el 9 de junio.
- Encuesta + actualización de las configuraciones de laboratorios.
- Se ha partido del Excel PNIR 2025 con modificaciones en su diseño para evitar los errores detectados en la 1ª encuesta (jerarquización de campos, desplegados, etc.).
- Trabajo de coordinación de los 2 LNR + AESAN y muy especialmente, del LCSA de Santa Fe

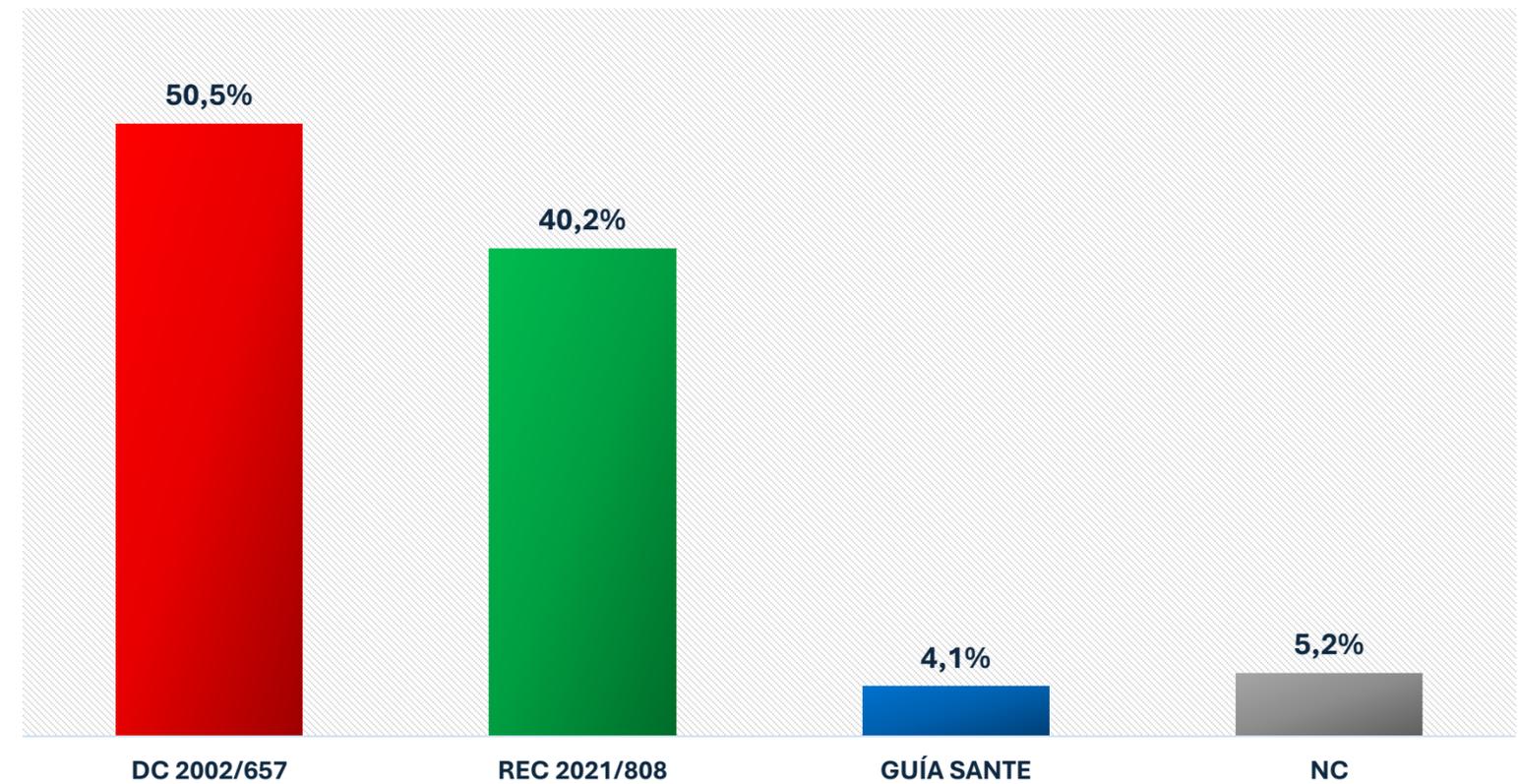


2ª ENCUESTA ESTADO IMPLEMENTACIÓN REC 2021/808

DETERMINACIONES ANALÍTICAS EN PNIR
Según norma por la que se ha validado /acreditado
Oct-2024



DETERMINACIONES ANALÍTICAS EN PNIR
Según norma por la que se ha validado /acreditado
(2ª Edición - **Datos preliminares**) (8 Junio 2025)



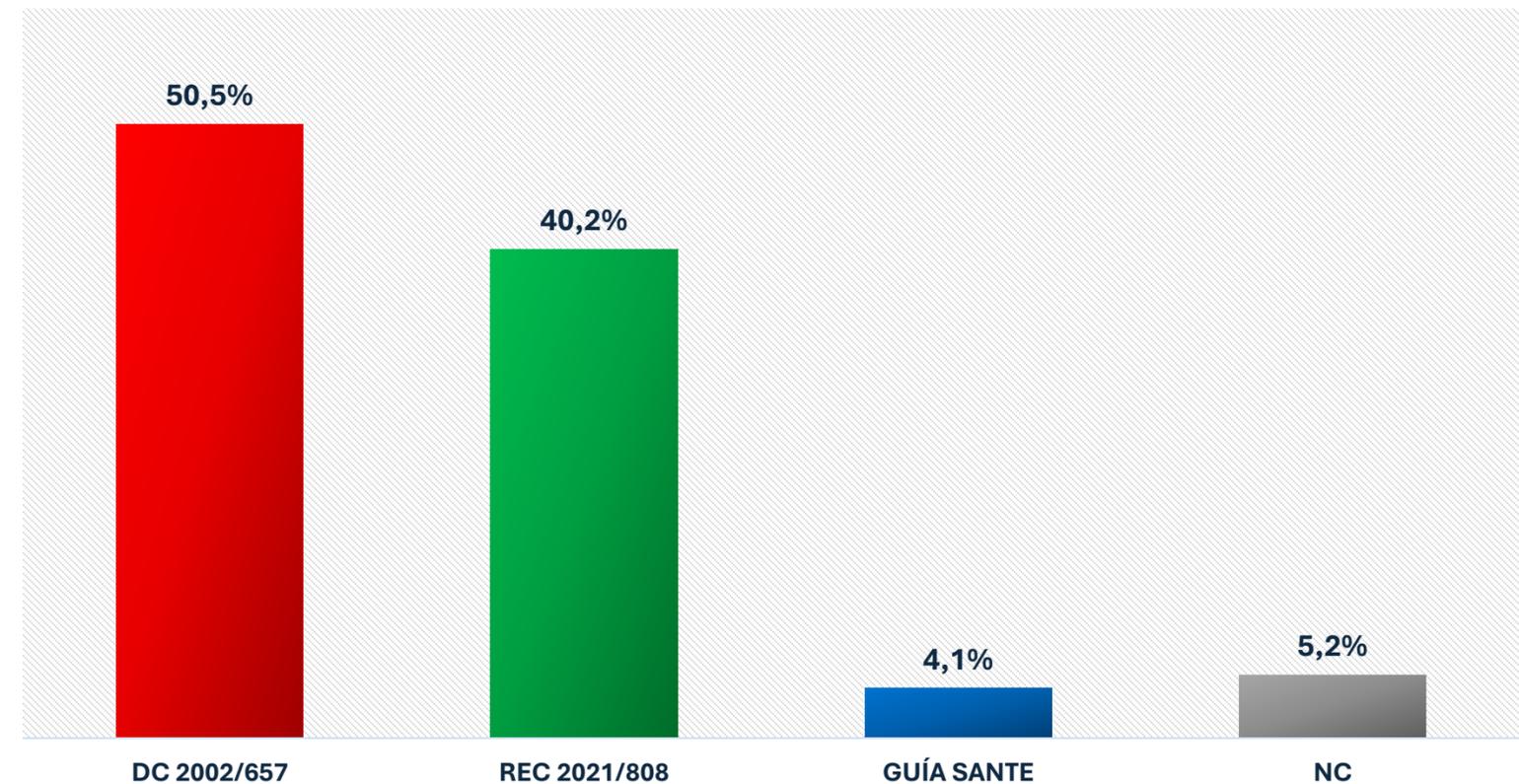
2ª ENCUESTA ESTADO IMPLEMENTACIÓN REC 2021/808

Resultados aún no definitivos
(08/06/25)



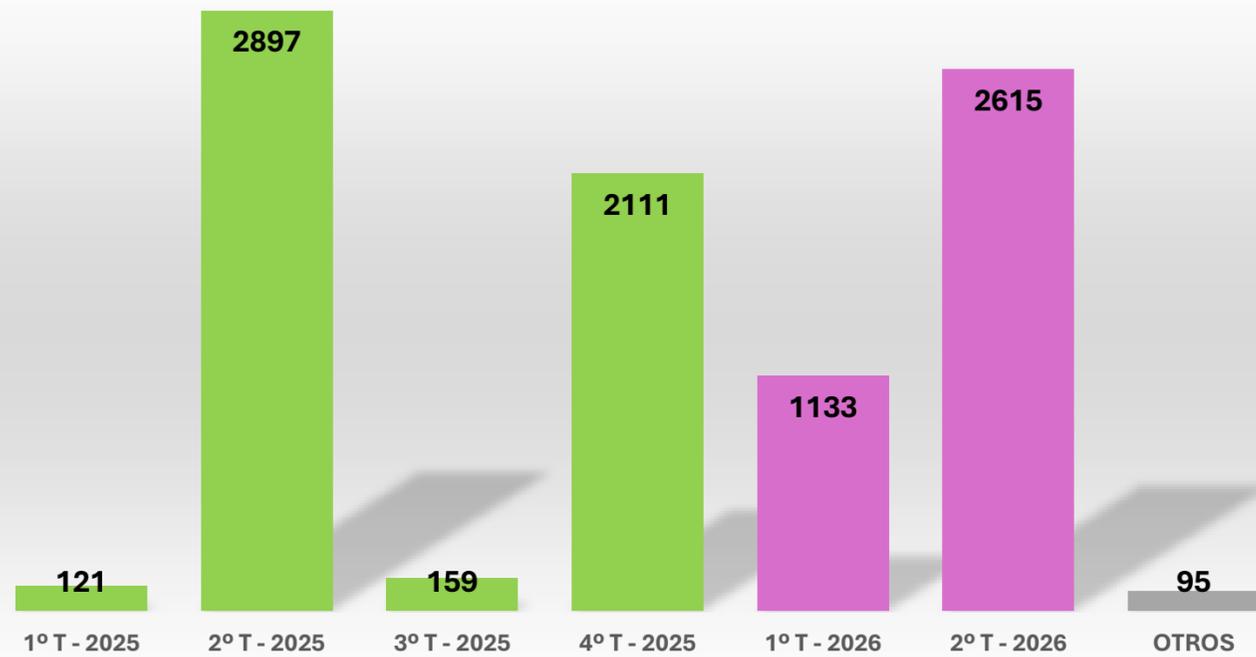
Se va a ampliar el plazo de
cumplimentación
(Próximamente mail con la nueva
fecha)

DETERMINACIONES ANALÍTICAS EN PNIR
Según norma por la que se ha validado /acreditado
(2ª Edición - **Datos preliminares**) (8 Junio 2025)



2ª ENCUESTA ESTADO IMPLEMENTACIÓN REC 2021/808

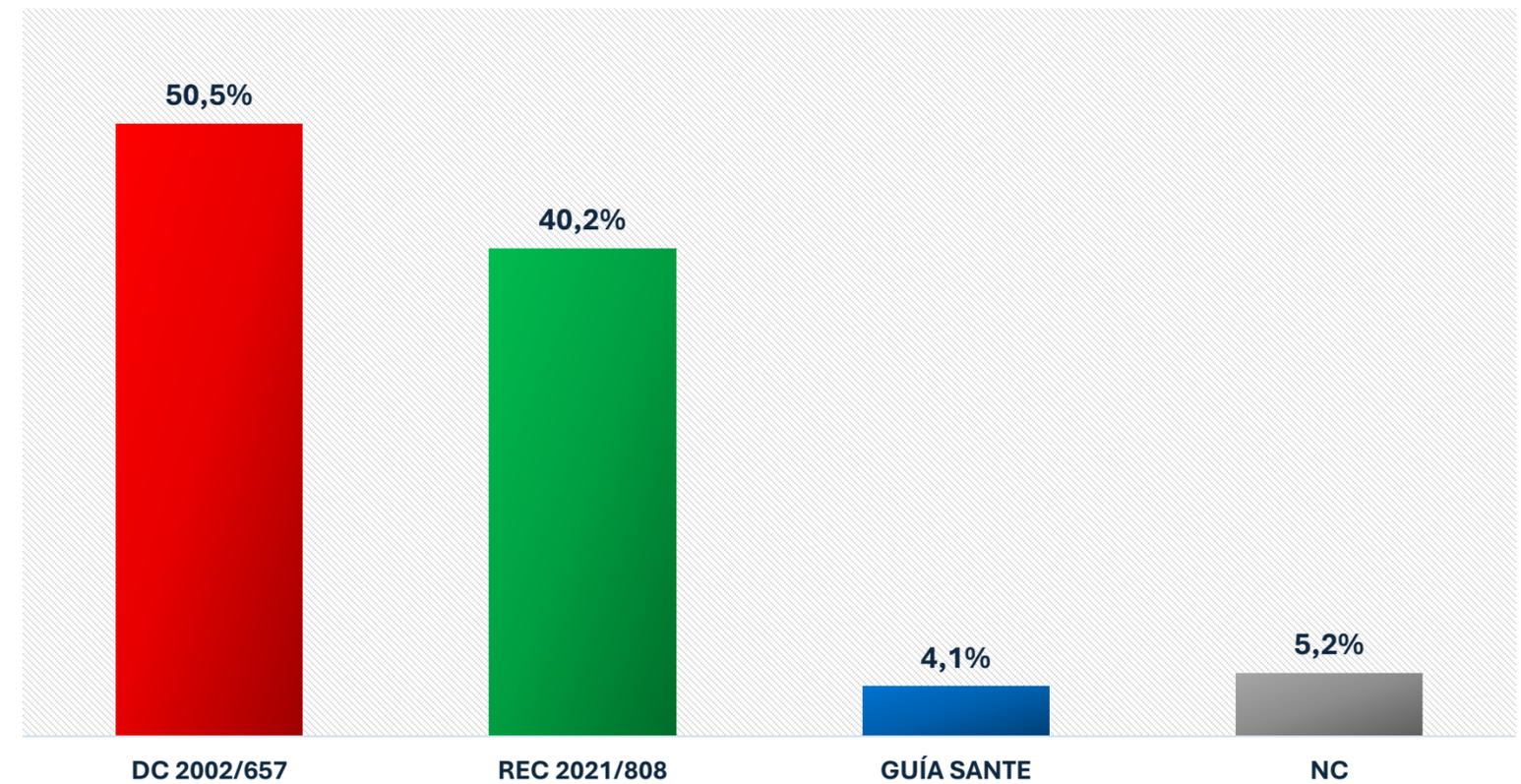
PREVISIÓN DE ACREDITACIÓN REC 2021/808 POR TRIMESTRE
(1ª ENCUESTA)



0,8 % 18,6 % 1,0 % 13,5 % 7,2 % 16,7 % 0,6 %

☐ TOTAL: 15616 determinaciones

DETERMINACIONES ANALÍTICAS EN PNIR
Según norma por la que se ha validado /acreditado
(2ª Edición - Datos preliminares) (8 Junio 2025)



ESTADO IMPLEMENTACIÓN REC 2021/808



- Aún queda trabajo por hacer.
- Animamos a continuar en la tarea de transición al REC 2021/808.

PRÓXIMOS PASOS:

- Resultados definitivos 2ª encuesta.
- 3ª encuesta: otoño 2025 (coincidiendo con la actualización Excel PNIR 2026)



PARTICIPACIÓN EN WORKSHOPS LR-UE

- JOINT WORKSHOP: 3 EURL (Berlín) mayo 2024 CL N° 765
- WFSR (Wageningen) noviembre 2024 -on line- CL N° 757
- BVL (Berlín) diciembre 2024 -on line- CL N° 758
- ANSES (Fougeres) junio 2025
- BVL (Berlín) septiembre 2025
- WFSR (Wageningen) octubre 2025



ORGANIZACIÓN ENSAYOS DE APTITUD 2024: Antibióticos multifamilia en músculo porcino (78-ZO-24)

- Anunciado en CL N° 741 (27 junio 2024)
- Envío muestras: 2 de septiembre 2024
- Fecha límite entrega de resultados: 8 de octubre 2024
- **52 parámetros evaluados** de diferentes familias (B1a + A2d -dapsona)
- Métodos:
 - * Físico-químicos y microbiológicos / Criba y confirmación
 - * Posibilidad de emplear más de un método



Ensayo complejo, pero que aporta mucha información



ORGANIZACIÓN ENSAYOS DE APTITUD 2024: Antibióticos multifamilia en músculo porcino (78-ZO-24)

- 2 muestras:
 - M 1: **lincomicina** (137 $\mu\text{g}/\text{kg}$) y **eritromicina** (133 $\mu\text{g}/\text{kg}$)
 - M 2: **ácido oxolínico** (95 $\mu\text{g}/\text{kg}$), **flumequina** (157 $\mu\text{g}/\text{kg}$) y **oxacilina** (235 $\mu\text{g}/\text{kg}$)
- 21 laboratorios participantes



TODOS LOS LABORATORIO QUE PARTICIPAN EN PNIR SE
INSCRIBIERON



- Informe definitivo: 27 de febrero de 2025



ORGANIZACIÓN ENSAYOS DE APTITUD 2024: Antibióticos multifamilia en músculo porcino (78-ZO-24)

		MÉTODOS UTILIZADOS				
		CRIBADO			CONFIRMACIÓN	
		Cribado microbiológico	Cribado físico-químico	Cribado "Otro"	Técnica	Nº de métodos empleados
Participante	1	-	LC-MS/MS	-	LC-MS/MS	4
	2	-	-	-	LC-MS/MS	5
	3	TEST 4 PLACAS	-	-	-	-
	4	-	-	-	LC-MS/MS	1
	5	TEST 4 PLACAS	-	-	LC-MS/MS	1
	6	-	LC-MS/MS	-	-	-
	7	-	(1)	-	LC-MS/MS	1
	8	-	(1)	-	LC-MS/MS	1
	9	-	(1)	-	LC-MS/MS	1
	10	TEST 5 PLACAS	-	-	-	-
	11	-	LC-MS/MS ₍₁₎	-	LC-MS/MS	1
	12	-	-	-	LC-MS/MS	1
	13	-	LC-MS/MS	-	LC-MS/MS	1
	14	TEST 4 PLACAS	-	EXPLORER / QUINOSCAN	-	-
	15	-	LC-MS/MS ₍₁₎	-	LC-MS/MS	1
	16	-	(1)	-	LC-MS/MS	1
	17	TEST EXPLORER 2.0	-	-	-	-
	18	-	-	-	LC-MS/MS	2
	19	-	LC-HRMS	-	LC-MS/MS	2
	20	-	LC- HRMS	-	-	-
	21	-	(1)	-	LC-MS/MS	1

- MÉTODOS DE CRIBADO:

- 5 lab utilizan cribado microbiológico
- 1 lab: combinación de Explorer/Quinoscan
- 2 lab utilizan LC-HRMS
- Los demás: LC-MS/MS

- MÉTODOS DE CONFIRMACIÓN:

- Todos LC-MS/MS
- 11 de 15 laboratorios utilizan sólo 1 método para confirmar todas las familias
 - ↳ Aumento de los métodos multifamilia para antibióticos: 11/15

- MÉTODOS CRIBA Y CONFIRMACIÓN:

- 7 laboratorios declaran aplicar un mismo método para cribado y confirmación, pero luego sólo 2 reportan resultados de cribado.
 - ↳ se tuvo que pedir información a posteriori de su alcance. ¿"PSEUDOCRIBADO"?

Métodos de confirmación utilizados como métodos criba

- Algunos laboratorios aplican métodos validados como cuantitativos de confirmación en 2 fases:
 - 1º etapa de “cribado”, pero con $CC\alpha$
 - 2º etapa: cuantificación y confirmación, con $CC\alpha$
- Sería más correcto establecer un $CC\beta$ para la 1ª etapa 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 ya está incluido en la Guía LNR de validación 808 –y en la GUIA EURL de cribado-
 - Excel PNIR 2026 (actualización próximo otoño): será posible cumplimentar en estos casos $CC\beta$ y $CC\alpha$ en la misma línea (SCR/CN)
 - Formato envío de resultados a EFSA/Comisión (hay Estados miembros que ya lo usan)
 - Necesario adaptar los PNT/alcance de acreditación de cada laboratorio.
- Modo de trabajo implementado ya al menos por 2 laboratorios en España 
- VER PRESENTACIÓN JORNADAS 2024

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 $\mu\text{g}/\text{kg}$

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 $\mu\text{g}/\text{kg}$	10 $\mu\text{g}/\text{kg}$	20 $\mu\text{g}/\text{kg}$	50 $\mu\text{g}/\text{kg}$	100 $\mu\text{g}/\text{kg}$	150 $\mu\text{g}/\text{kg}$

0,1 MRL

MRL

1,5 MRL

15



$CC\alpha = \text{MRL} + 2,33 \times \text{incertidumbre estándar (combinada) al MRL}$ **MÉTODO 3 REC 2021/808**

Métodos de confirmación utilizados como métodos criba

Joint Workshop
May 2024, Berlin

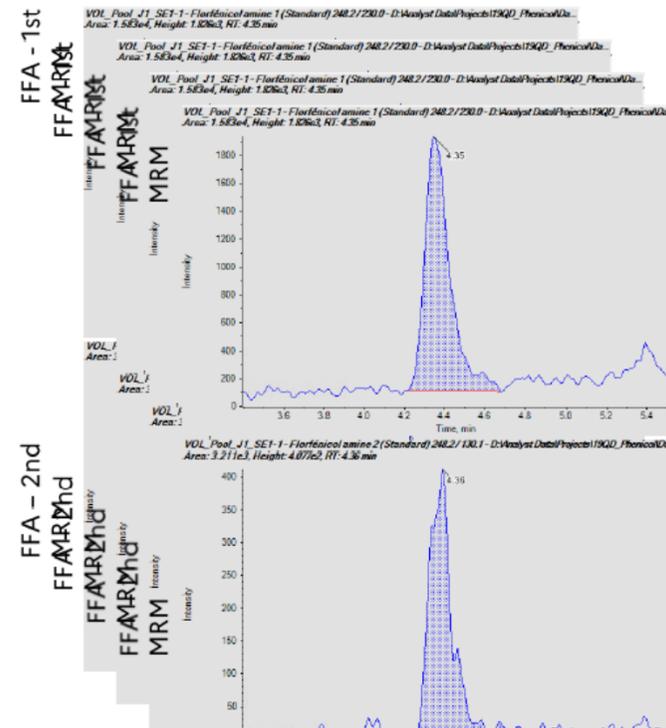


CC β for FFA in Poultry

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)



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

Poultry muscle : MRL = 100 μ g/kg

MÉTODO 2:

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

➔ Detectar al menos el 95 % (19 de 20)
 \leq 5 % falsos negativos

(VER PRESENTACIÓN JORNADAS 2024)

CC β CC α



MINISTERIO
DE DERECHOS SOCIALES, CONSUMO
Y AGENDA 2030



agencia
española de
seguridad
alimentaria y
nutrición



Centro
Nacional de
Alimentación

ORGANIZACIÓN ENSAYOS DE APTITUD 2024: Antibióticos multifamilia en músculo porcino (78-ZO-24)

COMPUESTOS ANALIZADOS POR PARTICIPANTE (MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS CRIBA Y CONFIRMACIÓN)													
	Sulfonamidas	Trimetoprima	Dapsona	Tetraciclinas	Quinolonas	Macrólidos	Lincomicina	Penicilinas	Cefalosporina	Otros	TOTAL analizado	% analizado	
Nº analitos del ensayo	14	1	1	7	9	7	1	6	3	3	52		
Nº de compuestos analizados por participante	1	14	1	1	4	9	6	1	6	2		44	85
	2	7			4	4	4	1	3			23	44
	4	14	1		7	9	4	1	6	1		43	83
	5	5		1	7	9						22	42
	6	14	1		4	7	3		5			34	65
	7	14	1	1	7	9	6	1	5	2		46	88
	8	12	1		7	8	5	1	6	3		43	83
	9	14	1	1	7	9	7	1	6	3	3	52	100
	11	14	1	1	7	9	5	1	6	1		45	87
	12	12			4	9	3		6			34	65
	13	14	1		7	8	3	1	3			37	71
	15	14	1		4	9	4		6			38	73
	16	14			7	6	3		6			36	69
	18	10	1		6	4	1	1	3			26	50
	19	14	1	1	7	9	6	1	6	1		46	88
20	14	1		4	9	5	1	6	2		42	81	
21	13	1		4	3	1		5			27	52	

- 10 lab. analizan del 70 al 100%
- 5 lab. analizan del 50 al 70 %
- 2 lab. analizan del 40 al 50 %



La situación ha mejorado, pero hay que seguir ampliando el alcance de los métodos de análisis de antibióticos (directrices del EURL-ANSES), sobre todo en cuanto a los siguientes analitos:

- Dapsona (sólo 6 laboratorios lo analizan)
- Lincomicina (sólo 11 lo analizan)
- Cefalosporinas (sólo 8 analizan la familia).

ORGANIZACIÓN ENSAYOS DE APTITUD 2024: Antibióticos multifamilia en músculo porcino (78-ZO-24)

Resultados relevantes

- Resultados en general satisfactorios
- MÉTODOS DE CRIBADO MICROBIOLÓGICOS (5 participantes):
 - De los 10 resultados emitidos (5 de M1 y 5 de M2): **7 falsos negativos**
 - * TODOS PROCEDENTES DE TEST DE 4 Y 5 PLACAS
 - * RESULTADOS DE EXPLORER 2.0 y la combinación de EXPLORER 2.0 + QUINOSCAN : Satisfactorios
 - * Un laboratorio utiliza test 4 placas -NS- y Explorer 2.0+Quinoscan: S
 - * Resultados obtenidos por los cribados microbiológicos similares al ensayo 75-ZO-21.



Para hacer un control efectivo de residuos de antibióticos, sería muy recomendable sustituir los métodos microbiológicos (test de 4 y 5 placas) por otros métodos más eficaces.

Evaluación anual de los PNC (PNIR) por los EURL B1a (non-specific screening methods: inhibitor test)

COMENTARIO EURL ANSES	RESPUESTA LNR (CNA)
-----------------------	---------------------

To the EU-RL knowledge the performances of the non-specific screening method do not allow to detect aminoglycosides, beta lactams, quinolones, macrolides, tetracyclines...at their MRL level.

Inhibitor tests are being gradually replaced by physicochemical methods (LC-MS/MS, HR-MS, etc.)



Se debería añadir: “y otros métodos biológicos que aseguren el cumplimiento de los LMR”.

AÑO	Nº de laboratorios con test de inhibición para cribado de antibióticos
2018	24
2020	19
2022	13
2024	7



Clara disminución del uso de test de inhibición en los últimos 6 años: la tendencia debe seguir (compromiso)

4 lab: 4 o 5 placas

3 lab: Explorer o Explorer + Quinoscan

**¡MUCHAS
GRACIAS!**



Centro Nacional de Alimentación

