

COMISIÓN

DECISIÓN DE LA COMISIÓN

de 14 de noviembre de 1989

por la que se establecen los métodos de referencia y la lista de los laboratorios nacionales de referencia para la detección de residuos

(89/610/CEE)

LA COMISIÓN DE LAS COMUNIDADES EUROPEAS,

Visto el Tratado constitutivo de la Comunidad Económica Europea,

Vista la Directiva 64/433/CEE del Consejo, de 26 de junio de 1964, relativa a problemas sanitarios en materia de intercambios de carne fresca ⁽¹⁾, cuya última modificación la constituye la Directiva 88/657/CEE ⁽²⁾, y, en particular, la letra b) del apartado 1 de su artículo 4 y el párrafo segundo del apartado 3 de su artículo 5.

Vista la Directiva 85/397/CEE del Consejo, de 5 de agosto de 1985, relativa a los problemas sanitarios y de policía sanitaria en los intercambios intracomunitarios de leche tratada térmicamente ⁽³⁾, modificada por el Reglamento (CEE) nº 3768/85 ⁽⁴⁾, y, en particular, el párrafo segundo del apartado 3 de su artículo 5 y el párrafo tercero del apartado 4 de su artículo 11,

Visto el dictamen del Comité científico veterinario,

Considerando que, en virtud de lo dispuesto en la letra b) del apartado 1 del artículo 4 de la Directiva 64/433/CEE y en el apartado 4 del artículo 11 de la Directiva 85/397/CEE, conviene establecer métodos de referencia con el fin de valorar los resultados de los exámenes de residuos;

Considerando que el apartado 3 del artículo 5 de la Directiva 85/358/CEE del Consejo, de 16 de julio de 1985, por la que se complementa la Directiva 81/602/CEE referente a la prohibición de determinadas sustancias de efecto hormonal y de sustancias de efecto tireostático ⁽⁵⁾, modificada en último lugar por la Directiva 88/146/CEE ⁽⁶⁾, y el párrafo segundo del apartado 3 del artículo 8 de la Directiva 86/469/CEE del Consejo, de 16 de septiembre de 1986, relativa a la investigación de residuos en los animales y en las carnes frescas ⁽⁷⁾, disponen que, en caso de conflicto, los resultados positivos deberán confirmarse por medio de los métodos de referencia establecidos en

aplicación de la letra b) del apartado 1 del artículo 4 de la Directiva 64/433/CEE;

Considerando que el párrafo segundo del apartado 3 del artículo 8 de la Directiva 64/433/CEE y el párrafo segundo del apartado 3 del artículo 5 de la Directiva 85/397/CEE prevén que, en caso de litigio surgido a propósito de una investigación de residuos, se buscará la solución sobre la base de un método de referencia; que un solo método de referencia debe valer para la resolución de los conflictos surgidos en la investigación de los residuos contemplados en los grupos I y II de la Parte A del Anexo I de la Directiva 86/469/CEE;

Considerando que el establecimiento de los métodos de referencia ha de incluir la definición de los procedimientos de análisis de referencia que deban utilizarse así como de los criterios que hayan de orientar la realización de esos análisis;

Considerando que por razones técnicas es conveniente que en una primera fase sólo se adopten métodos de referencia para la detección de determinados residuos, exceptuando los de elementos químicos;

Considerando que la letra b) del apartado 1 del artículo 4 de la Directiva 64/433/CEE prevé que en cada Estado miembro se designará al menos un laboratorio de referencia encargado de efectuar el examen de los residuos en caso de litigio;

Considerando que, con arreglo a la letra b) del apartado 1 del artículo 8 de la Directiva 86/469/CEE, corresponde a los laboratorios nacionales de referencia, que se hayan designado en virtud de la letra b) del apartado 1 del artículo 4 de la Directiva 64/433/CEE, coordinar las normas y los métodos de análisis para cada residuo o grupo de residuos de que se trate, incluida la organización periódica de exámenes comparativos sobre muestras fraccionadas a cargo de laboratorios autorizados, así como con objeto de comprobar la observancia de los contenidos máximos fijados;

Considerando que las medidas previstas en la presente Decisión se ajustan al dictamen del Comité veterinario permanente,

⁽¹⁾ DO nº 121 de 29. 7. 1964, p. 2012/64.

⁽²⁾ DO nº L 382 de 31. 12. 1988, p. 3.

⁽³⁾ DO nº L 226 de 24. 8. 1985, p. 13.

⁽⁴⁾ DO nº L 362 de 31. 12. 1985, p. 8.

⁽⁵⁾ DO nº L 191 de 23. 7. 1985, p. 46.

⁽⁶⁾ DO nº L 70 de 16. 3. 1988, p. 16.

⁽⁷⁾ DO nº L 275 de 26. 9. 1986, p. 36.

HA ADOPTADO LA PRESENTE DECISIÓN :

Artículo 1

Los procedimientos de análisis de referencia empleados para confirmar la presencia de residuos de las sustancias indicadas en el Anexo I de la Directiva 86/469/CEE, exceptuando los elementos químicos como los metales pesados y el arsénico, serán :

- inmunoensayo,
- cromatografía de capa fina (CCF),
- cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR),
- cromatografía de gases,
- espectrometría de masas,
- espectrometría.

Artículo 2

Los procedimientos de análisis de referencia habrán de basarse :

- a) preferentemente en la espectroscopia molecular, que ofrece información directa sobre la estructura molecular de la sustancia que se examina, o
- b) en una combinación de procedimientos que facilite información indirecta sobre la estructura molecular de dicha sustancia,

debiendo poseer un límite de detección igual o inferior al del empleado en análisis de rutina.

Artículo 3

Los criterios que habrán de orientar la aplicación de los métodos de análisis de referencia serán los indicados en el Anexo I.

Artículo 4

En caso de litigio entre dos o más Estados miembros o propósito de la detección de los residuos contemplados en los grupos I y II de la parte A del Anexo I de la Directiva 86/469/CEE, el procedimiento de análisis de referencia que habrá de utilizarse será la cromatografía de gases seguida de una espectrometría de masas.

Artículo 5

Los laboratorios de referencia de los Estados miembros encargados de efectuar los análisis de referencia se indican en la lista que figura en el Anexo II.

Artículo 6

La presente Decisión se revisará antes del 1 de enero de 1991 con el fin de tener en cuenta la evolución de los conocimientos científicos y técnicos.

Artículo 7

Los destinatarios de la presente Decisión serán los Estados miembros.

Hecho en Bruselas, el 14 de noviembre de 1989.

Por la Comisión

Ray MAC SHARRY

Miembro de la Comisión

ANEXO I

1. DEFINICIONES Y CRITERIOS GENERALES

1.1. Parámetros

Los parámetros que aparecen en el Anexo de la Directiva 85/591/CEE del Consejo se aplicarán al examen de los métodos de análisis de referencia.

1.2. Definiciones

1.2.1. *Analizado*: el componente de una muestra de prueba cuya presencia deba determinarse. El término « analizado » incluye los derivados que se forman a partir del analizado durante el análisis, si llegara el caso.

1.2.2. *Material estándar*: una sustancia bien definida, de la mayor pureza posible, que se utilizará durante el análisis como referencia.

1.2.3. *Material de referencia*: una muestra de una sustancia o un producto simple manufacturado en los que haya sido posible determinar con la suficiente exactitud una o varias de sus propiedades, de modo que pueda utilizarse para calibrar un aparato o comprobar un método de medición. La certificación se establecerá según un procedimiento técnicamente válido. Si no se dispone de material de referencia, podrán evaluarse los parámetros mediante el análisis de muestras reforzadas.

1.2.4. *Especificidad*: es la capacidad de un método dado para diferenciar de toda otra sustancia el analizado que se pretende medir. Esta característica depende sobre todo del principio que se emplee para efectuar las medidas, pero puede variar en función del tipo de compuesto o de la matriz.

Los detalles relativos a la especificidad deberán referirse por lo menos a todas las sustancias que puedan dar una señal como respuesta cuando se utilice el procedimiento de mediciones descrito, por ejemplo: productos homólogos, análogos o metabólicos del residuo de interés. A partir de los detalles relativos a la especificidad será posible obtener cuantitativamente el grado hasta el cual el método puede distinguir entre el analizado y las restantes sustancias, en condiciones experimentales.

En la medida de lo posible, los métodos de referencia deberán brindar información inequívoca referente a la estructura química del analizado, es decir, el resultado del análisis deberá excluir todos los compuestos químicos salvo uno en particular. Suponiendo que varios compuestos arrojaran una misma respuesta, el método resultaría incapaz de distinguir estos compuestos.

Si al aplicar un solo método no se alcanzara la especificidad deseada, deberá aplicarse un procedimiento de análisis combinado de purificación, separación cromatográfica y determinación espectrométrica, por ejemplo: CG-EM, CL-EM, espectrometría CG-IR, espectrometría CL-IR.

1.2.5. *Exactitud*: en este documento se refiere a la exactitud de la media. La definición que emplearemos se halla establecida en la norma ISO 3534-1977, punto 2.83 (exactitud de la media: diferencia entre el valor auténtico y el resultado medio que se obtendría efectuando el procedimiento experimental muchísimas veces).

Las principales limitaciones de la exactitud son:

- a) errores aleatorios,
- b) errores sistemáticos.

Cuando el número de experimentos efectuados es muy grande, la exactitud de la media se aproxima al error sistemático.

Deberá especificarse el número de experimentos cuando se lleve a cabo la elaboración de los resultados del método.

La medida de exactitud será la diferencia entre el valor medio medido para el material de referencia y el valor auténtico, expresado como porcentaje del valor auténtico.

En los casos en que no se disponga de métodos categóricos o de materiales de referencia certificados, el contenido del analizado se definirá provisionalmente a través de los resultados arrojados por el propio método de referencia. En tales casos el método arrojará, con respecto a los demás métodos conocidos, el máximo de especificidad y de recuperación del analizado.

- 1.2.6. *Precisión* : variaciones de la repetibilidad intralaboratorio (dentro de un laboratorio) y de la reproducibilidad interlaboratorio (dentro de un laboratorio y entre diversos laboratorios).

Se empleará el término estadístico general de « precisión » tal y como lo define la norma ISO 3534-1977, punto 2.84 (precisión : diferencia entre los resultados obtenidos efectuando el procedimiento experimental en diversas ocasiones en condiciones establecidas).

Según el Anexo de la Directiva 85/591/CEE, los valores de la precisión para los métodos de análisis cuya adopción tenga que decidirse según lo establecido por las disposiciones de dicha Directiva se obtendrán a partir de un ensayo conjunto efectuado, preferentemente, de conformidad con la norma ISO 5725-1986. A este fin, los términos « repetibilidad » y « reproducibilidad » se hallan definidos en la norma ISO 5725-1986. Para efectuar dichos ensayos se utilizarán muestras de contenido de analizado que oscilarán alrededor del nivel de tolerancia que hay que respetar.

Hasta el momento en que se haya determinado la reproducibilidad de un método mediante un ensayo conjunto, para preseleccionar métodos posibles por revisión de datos, bastará con disponer de los datos sobre repetibilidad. El término « repetibilidad » utilizado para ello es el que se halla definido en la norma ISO 3534-1977, punto 2.85 a) [repetibilidad : la diferencia entre resultados sucesivos obtenidos con el mismo método sobre un material de prueba idéntico y en las mismas condiciones (mismo técnico, mismo equipo, mismo laboratorio e intervalos breves de tiempo)].

La medida de la repetibilidad que deberá emplearse será el coeficiente de variación tal y como éste se halla definido en la norma ISO 3534-1977, punto 2.35 (coeficiente de variación : la relación entre la desviación estándar y el valor absoluto de la media aritmética).

- 1.2.7. *Límite de detección* : el menor contenido medido a partir del cual resulta posible deducir la presencia del analizado con una seguridad estadística razonable. Equivale a la media del contenido medio de muestras en blanco representativas ($n \geq 20$) más tres veces la desviación estándar de la media.

Nota : Si se prevé que factores tales como la especie, el sexo, la edad, etc., pueden influir sobre las características del método, será necesario un conjunto de muestras en blanco para cada una de las poblaciones homogéneas a las que se aplique.

- 1.2.8. *Sensibilidad* : medida de la facultad de un método para notar pequeñas diferencias en cuanto al contenido de analizado. En este documento se define la sensibilidad como la pendiente de la curva de calibración en el punto de interés.

- 1.2.9. *Practicabilidad* : una característica no estándar de un procedimiento analítico. Depende del objetivo del método, siendo determinada por requisitos tales como el gasto de muestra y los costes. En lo que respecta a los métodos de referencia, la mayoría de los aspectos de practicabilidad revisten escasa importancia si se les compara con los demás criterios que se definen en el presente documento. Por regla general basta con que pueda disponerse en el comercio de los reactivos y equipos necesarios.

- 1.2.10. *Aplicabilidad* : relación de los productos a los que puede aplicarse el método seleccionado, tal y como éstos se presentan o con modificaciones de poca importancia.

- 1.2.11. *En caso necesario podrán seleccionarse otros criterios.*

- 1.2.11.1. *Límite de decisión* : contenido más bajo de analizado que se detectará, si existe realmente, con seguridad estadística razonable, y que podrá determinarse según los criterios de identificación del método. Si tanto la exactitud como la precisión se mantienen constantes en una escala de concentración alrededor del límite de detección, el límite de decisión será igual a la media del contenido medido de las muestras en blanco representativas ($n \geq 20$) más seis veces la desviación estándar de la media.

1.2.11.2. Cuantificación

1.2.11.2.1. Límite de cuantificación : el menor contenido medido por encima del cual resulta posible la determinación del analizado con el siguiente grado de exactitud y repetibilidad (dentro de un laboratorio) :

exactitud : en caso de análisis repetidos de la muestra de referencia, la diferencia entre la media y el valor auténtico, expresada como porcentaje del valor auténtico, deberá estar comprendida entre - 20 % y + 10 % ;

repetibilidad : en caso de análisis repetidos de la muestra de referencia, el coeficiente de variación (CV) (1.2.6.) de la media no sobrepasará los valores siguientes :

	<i>CV</i>
— media hasta 1 µg/kg	0,30,
— media superior a 1 µg/kg y hasta 10 µg/kg	0,20,
— media superior a 10 µg/kg	0,15.

1.2.11.2.2. Curvas de calibración

Si el método depende de curvas de calibración, deberá darse la siguiente información :

- la fórmula matemática que describe la curva de calibración,
- los valores numéricos de los parámetros de la curva de calibración, con intervalos de tolerancia del 95 %,
- intervalos aceptables dentro de los cuales pueden variar de un día a otro los parámetros de la curva de calibración,
- el alcance de la curva de calibración,
- datos sobre la variación de las variables, que deberá ser válida, como mínimo, para el alcance de la curva de calibración.

Siempre que sea posible, deberán aplicarse normas internas adecuadas para la obtención de las curvas de calibración de los métodos de referencia.

1.2.11.3. Susceptibilidad a la interferencia

Se indicarán, para todas las condiciones experimentales que puedan sufrir fluctuaciones en la práctica (por ejemplo, estabilidad de reactivos, composición de la muestra, pH, temperatura), todas las variaciones que puedan afectar a los resultados analíticos. Se indicará igualmente la posibilidad de solucionar cualquier interferencia previsible. Si fuera necesario, se describirán principios alternativos de detección susceptibles de confirmación. Es de importancia primordial investigar toda interferencia que pudiera ser ocasionada por los componentes de soporte. Así pues, deberá indicarse por lo menos el mayor número de muestras en blanco que no ejerza interferencia sobre la determinación del analizado (tras cualquier « purificación » especificada de muestra).

1.2.11.4. Relación entre los valores de tolerancia y los límites analíticos

Para sustancias con tolerancia cero, el límite de decisión del método analítico deberá ser lo suficientemente bajo para detectar con una probabilidad mínima del 95 % niveles de residuo que sean generalmente probables tras un uso ilegal del producto. Los niveles típicos de residuos para diversos materiales de muestra se enumerarán en un manual de datos experimentales para métodos de referencia, que será elaborado por los servicios de la Comisión.

Para sustancias con un nivel de tolerancia establecido, el límite de cuantificación no sobrepasará la cifra obtenida restando a dicha tolerancia el resultado de multiplicar por tres la desviación estándar del método para una muestra al nivel de tolerancia.

2. CRITERIOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE RESIDUOS

2.1. Requisitos generales

Los laboratorios que efectúen pruebas para la confirmación definitiva de la presencia de residuos de sustancias orgánicas con un peso molecular bajo, en particular aquéllas que presenten una acción hormonal o tireostática, deberán garantizar que se cumplen los criterios para la interpretación de los resultados obtenidos de acuerdo con los requisitos establecidos en la presente sección. Los criterios se han concebido para la identificación del analizado y pretenden impedir que se produzcan resultados positivos falsos. Para obtener una conclusión positiva, los resultados analíticos deberán cumplir los criterios establecidos para el procedimiento de análisis en particular.

- 2.2. **Definiciones relativas a la presencia de un analizado**
- 2.2.1. *Resultado positivo* : la presencia del analizado en la muestra queda probada según el procedimiento de análisis cuando se cumplen los criterios generales y los criterios específicos del método de detección en cuestión. Se dice entonces que el resultado del análisis es « positivo ».
- 2.2.2. *Resultado negativo* : el resultado del análisis se considerará « negativo » si no se cumplen los criterios específicos para el procedimiento o el análisis no indica la presencia del analizado en la muestra por encima de límite de detección.
- Nota* : La obtención de un resultado negativo no constituye la prueba de la ausencia del analizado en la muestra.
- 2.2.3. *Co-cromatografía* : antes de la(s) cromatografía(s), se divide la solución de prueba purificada en dos partes :
- a) una parte se cromatografía sin más,
- b) a la otra parte se añade el material estándar que deba identificarse, cromatografiándose a continuación esta solución mixta de analizado y de material estándar.
- La cantidad de material estándar añadido deberá corresponder a la cantidad estimada del analizado.
- 2.3. **Consideraciones generales para el procedimiento analítico global**
- 2.3.1. *Preparación de la muestra*
- La muestra se preparará y manejará de manera que se obtenga la máxima probabilidad de detectar el analizado, si éste se halla presente.
- 2.3.2. *Susceptibilidad a la interferencia*
- Se aplicarán las mismas indicaciones que aparecen en el apartado 1.2.11.3 (susceptibilidad a la interferencia).
- 2.3.3. *Criterios generales para el procedimiento global*
- 2.3.3.1. Deberán determinarse la especificidad (1.2.4) y el límite de detección (1.2.7) del procedimiento para el analizado y el soporte sometidos a investigación.
- Nota* : Esta información podrá obtenerse a partir de datos experimentales y/o de consideraciones teóricas.
- 2.3.3.2. Para un resultado positivo, el comportamiento físico y químico del analizado durante el análisis no podrá distinguirse del material estándar correspondiente en el soporte adecuado.
- 2.3.3.3. El resultado positivo o negativo del análisis será únicamente dentro de los límites de especificidad y del límite de detección del procedimiento para el analizado y el soporte sometidos a investigación.
- 2.3.4. *Criterios generales para técnicas de separación*
- Las muestras de referencia que contengan cantidades conocidas de analizados deberán someterse al proceso completo al mismo tiempo que cada una de las series de muestras de pruebas analizadas. De manera alternativa, podrá añadirse a las muestras un material estándar interno.
- 2.3.5. *Criterios para la preconcentración, purificación y separación física y/o química fuera de línea*
- El analizado deberá estar presente en la fracción característica del material estándar correspondiente en el soporte adecuado.
- Junto con el resultado final, positivo o negativo, deberán indicarse igualmente los datos correspondientes al tiempo de retención del material estándar, muestras de control y fracciones de prueba.
- 2.4. **Criterios para la identificación de un analizado por CLAR IE-Img**
- 2.4.1. El pico del analizado en el Img se obtendrá a partir al menos de 5 a 11 fracciones de CLAR.
- Junto con el resultado final, positivo o negativo, deberán indicarse los datos correspondientes al tiempo de retención de los materiales estándar, muestras de control y fracciones de prueba.

2.4.2. Reactivos

Deberá especificarse la procedencia y calidad del anticuerpo y del compuesto marcado.

2.4.3. Curva de calibración

Dado que el método se basa en las curvas de calibración, deberá ofrecerse la información referida en el apartado 1.2.11.2.2 (curvas de calibración).

Deberá especificarse el alcance de la curva de calibración, la cual deberá cubrir por lo general una escala de concentración de 10 unidades como mínimo.

Se requiere un mínimo de 6 puntos de calibración convenientemente distribuidos a lo largo de la curva de calibrado.

Junto con el resultado final, positivo o negativo, deberán indicarse todos los datos no procesados referentes a la derivación de la curva de calibración.

2.4.4. Deberán incluirse muestras de control en cada ensayo. Niveles de concentración : cero y partes inferior, media y superior del alcance de la curva. Los resultados de los controles deberán concordar con los obtenidos en ensayos previos. Junto con el resultado final, positivo o negativo, deberán indicarse todos los datos no procesados referentes a las muestras de control y a la fracción de prueba.

2.4.5. Deberá controlarse y especificarse la recuperación.

2.4.6. Los parámetros adecuados de control de calidad deberán corresponderse con los de los ensayos precedentes, por ejemplo : Bo/T, UNE, pendiente y ordenada en el origen de la curva de calibración.

2.4.7. Para efectuar la confirmación se dará preferencia a una CLAR bidimensional a dos inmuno-gramas en los que se utilicen diversos anticuerpos.

2.5. Criterios para la identificación de un analizado por CCF (Cromatografía de capa fina) o CCFAR (Cromatografía de capa fina de alta resolución)

2.5.1. El valor o valores RF del analizado deberán concordar con el valor o valores RF característicos del material estándar. Este requisito se cumple cuando el valor o valores RF del analizado se hallen a un ± 3 % del valor o valores RF del material estándar, en las mismas condiciones.

2.5.2. El aspecto del analizado no podrá ser distinto del del material estándar.

2.5.3. El centro del punto más próximo al correspondiente al analizado deberá hallarse separado de él por una distancia al menos igual a la mitad de la suma de los diámetros de los puntos.

2.5.4. Para efectuar la identificación, será obligatorio efectuar una co-cromatografía adicional en la fase de CCF. Como consecuencia, se intensificará únicamente el punto que supuestamente se debe al analizado ; no deberá aparecer ningún punto nuevo y no se modificará el aspecto del punto.

2.5.5. Para efectuar la confirmación será obligatorio efectuar una CCF bidimensional.

2.6. Criterios para la identificación de un analizado por CLAR-SP.

2.6.1. La máxima longitud de onda de absorción en el espectro del analizado deberá ser la misma que la del material estándar, con un margen determinado por la resolución del sistema de detección. Para la detección por red de diodos, el margen típico es ± 2 nm.

2.6.2. El espectro del analizado no podrá diferir visualmente del espectro del material estándar, para las partes de ambos espectros con una absorbencia relativa > 10 %. Este criterio se satisface cuando se presentan máximos iguales y en ninguno de los puntos observados la diferencia entre ambos espectros es superior al 10 % de la absorbencia del material estándar.

2.6.3. Para efectuar la identificación, es obligatoria la co-cromatografía en la fase de CLAR. Como consecuencia, se identificará sólo el pico que supuestamente corresponde al analizado.

- 2.7. **Criterios para la identificación de un analizado por CG-EM.**
- 2.7.1. *Criterios para CG*
- 2.7.1.1. En caso de que se disponga de un material adecuado, se empleará un estándar interno. Para estos fines se dará preferencia a una forma del analizado marcada con isótopo estable...
- 2.7.1.2. El tiempo de retención del analizado en la CG y del estándar interno, es decir el tiempo de retención relativo del analizado deberá ser igual al del analizado estándar, con un margen de tolerancia de $\pm 0,5\%$.
- 2.7.1.3. Si no se cumpliera el requisito expuesto en el apartado 2.7.1.2. o si no se empleara un estándar interno, la identificación del analizado deberá comprobarse mediante co-cromatografía.
- 2.7.1.4. Si se aplica co-cromatografía, el tiempo de retención del analizado que se añade a la muestra deberá coincidir con el tiempo de retención del analizado ya presente en la muestra.
- 2.7.2. *Criterios para la CG-EMBR*
- 2.7.2.1. Deberán determinarse las intensidades de al menos cuatro iones de diagnóstico. En caso de que el compuesto no ofrezca la posibilidad de cuatro iones de diagnóstico con el método empleado, se basará la identificación del analizado en los resultados de al menos dos métodos de CG-EMBR separados con técnicas derivativas y/o de ionización, cada uno de los cuales producirá dos o tres iones de diagnóstico.
- 2.7.2.2. El ión molecular será preferiblemente uno de los cuatro iones de diagnóstico seleccionados.
- 2.7.2.3. Las abundancias relativas de todos los iones de diagnóstico controlados del analizado deberán ser iguales a la del analizado estándar.
- 2.7.2.4. Las intensidades relativas de los iones de diagnóstico detectados, expresadas como porcentaje de la intensidad del pico base, deberán ser las mismas que las del analizado estándar con un margen de $\pm 10\%$ (método IE) o $\pm 20\%$ (método IQ).
- 2.7.3. *Criterios para CG-EMAR; fragmentografía*
- 2.7.3.1. Para poderse clasificar como mediciones de alta resolución, la exactitud del ajuste de la masa deberá ser de tres partes por millón o mayor.
- 2.7.3.2. La abundancia relativa de tres o más iones de diagnóstico deberá ser igual a la del analizado estándar, con un margen de tolerancia de $\pm 10\%$ (método IE).
- 2.7.4. *Criterios para CG-EMAR; masa exacta más isótopo natural de baja resolución*
- 2.7.4.1. Para poderse clasificar como mediciones de alta resolución, la exactitud de la determinación de la masa deberá ser de tres partes por millón o aún mayor.
- 2.7.4.2. El valor m/z del ión de diagnóstico deberá ser igual al valor teórico del analizado estándar correspondiente.
- 2.7.4.3. En caso de que la medida de un solo ión de diagnóstico no cumpla los criterios de especificidad (1.2.4), deberá medirse con baja resolución la relación de abundancia del isótopo natural del ión de diagnóstico. Dicha relación será igual al valor teórico dentro de un margen de tolerancia típico del 5%.
- 2.7.4.4. En caso de que no se pueda derivar una composición elemental inequívoca según los apartados 2.7.4.1, 2.7.4.2 y 2.7.4.3, deberá medirse en conformidad con un ión de diagnóstico adicional.
- 2.8. **Criterios para la identificación de un analizado por espectrometría IR.**
- 2.8.1. *Definición de picos adecuados*
- Los picos adecuados son los máximos de absorción de un material estándar en el espectro IR que cumplan los siguientes requisitos:
- 2.8.1.1. El máximo de absorción se hallará en el intervalo de números de onda de 1 800 a 500 cm^{-1} ,

- 2.8.1.2. La intensidad de absorción no será inferior a :
- un coeficiente de absorción molar específica de 40 con respecto a la absorción cero y 20 con respecto a la línea de base del pico ;
 - una absorción relativa de 12,5 % de la absorción del pico más intenso en la región de 1 800 a 500 cm^{-1} , cuando ambas se midan con respecto a su línea de base del pico.

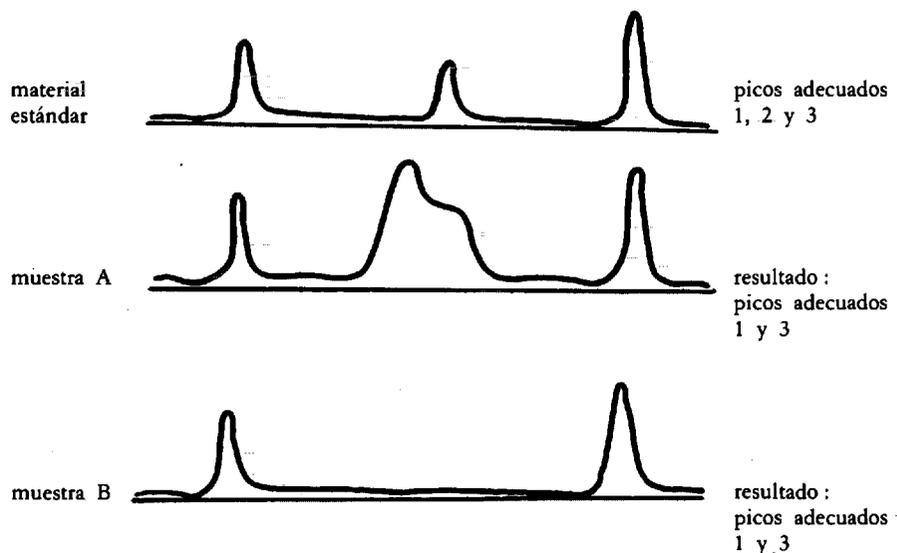
Nota : Aun cuando desde el punto de vista teórico puedan preferirse picos adecuados según a), en la práctica los picos según b) son más fáciles de determinar.

- 2.8.2. Se requiere un mínimo de seis picos adecuados en el espectro IR del material estándar. Si el número de picos adecuados es inferior a dicha cifra, no podrá emplearse el espectro IR en cuestión como espectro de referencia.
- 2.8.3. Se determinará el número de picos en el espectro IR del analizado cuyas frecuencias se correspondan con un pico adecuado en el espectro IR del material estándar, con un margen de $\pm 1 \text{ cm}^{-1}$.

2.8.4. Criterios para IR

- 2.8.4.1. La absorción deberá estar presente en todas las regiones del espectro del analizado que correspondan a un pico adecuado en el espectro de referencia del material estándar.
- 2.8.4.2. El « resultado », es decir, el porcentaje de picos adecuados observados en el espectro IR del analizado, será al menos de 50.
- 2.8.4.3. En caso de que no exista una correspondencia exacta para un pico adecuado, la región pertinente del espectro del analizado no excluirá la presencia de un pico correspondiente (véase figura 1).

Figura 1



El espectro de la muestra A no excluye la presencia de un pico adecuado 2 ; por lo tanto, se cumple el criterio 2.8.4.3

El espectro de la muestra B excluye la presencia de un pico adecuado 2 ; por lo tanto, no se cumple el criterio 2.8.4.3

- 2.8.4.4. El procedimiento se aplicará únicamente a los picos de absorción en el espectro de muestra cuya intensidad sea al menos tres veces superior al ruido entre un pico y otro.

*Apéndice del Anexo I***Lista de abreviaturas y símbolos**

Bo	= radiactividad de la fracción unida de una muestra en blanco
Bo/T	= proporción de la radiactividad de la fracción unida de una muestra en blanco con respecto a la actividad añadida (proporción de unión cero con respecto al total)
IQ	= ionización química
cpm	= cuentas por minuto
dpm	= desintegraciones por minuto
IE	= ionización por impacto electrónico
CG	= cromatografía de gases
CLAR	= cromatografía de líquidos de alta resolución
CCFAR	= cromatografía de capa fina de alta resolución
EMAR	= espectrometría de masas de alta resolución
IE	= inmunoensayo
Img	= inmunograma
IR	= infrarrojo
CL	= cromatografía de líquidos
EMBR	= espectrometría de masas de baja resolución
m	= masa
EM	= espectrometría de masas
UNE	= unión no específica = unión inespecífica (UI)
RF	= distancia recorrida en relación con el frente del disolvente
ES	= espectrometría; por ejemplo: una red de diodos
T	= radiactividad total (cpm o dpm) añadida a una muestra
CCF	= cromatografía de capa fina
z	= carga
/	= técnicas consecutivas fuera de línea
-	= técnicas consecutivas en línea

ejemplo : CLAR/CG-EM = CLAR fuera de línea, a la que sigue una CG y una EM en línea.

ANEXO II

LABORATORIOS NACIONALES DE REFERENCIA

Estado miembro	Laboratorios de referencia	Grupos de residuos
Bélgica	Instituut voor Hygiëne en Epidemiologie J. Wijtsmanstraat 14 B-1050 Brussel	Todos los grupos
Dinamarca	Veterinærdirektoratets Laboratorium Kongensgade 16 DK-4100 Ringsted	Grupo A
	Levnedsmiddelstyrelsens Centrallaboratorium Mørkhøj Bygade 19 DK-2860 Søborg	Grupo B
RF de Alemania	Bundesgesundheitsamt Thielallee 88-92 D-1000 Berlin 33	Grupo A III a (antibióticos) y b
	Staatliches Tierärztliches Untersuchungsamt Stuttgart Azenberg Straße 16 D-7000 Stuttgart 1	Grupo A I b
	Tierhygienisches Institut Freiburg Am Moosweiher 2 D-7800 Freiburg	Grupo A I a
	Landesuntersuchungsamt für das Gesundheitswesen Südbayern Veterinärstraße 2 D-8042 Oberschleißheim	Grupo A II
	Staatliches Veterinäruntersuchungsamt Arnberg Zur Traubeneiche 10/12 D-5760 Arnberg 2	Grupo A I a, b, c
	Chemische Landesuntersuchungsanstalt Stuttgart Breitscheidstraße 4 Postfach 100824 D-7000 Stuttgart 1	Grupo A III, a) (nitrofuranos)
	Chemische Landesuntersuchungsanstalt Offenburg Gerberstraße 24 D-7600 Offenburg	Grupo B, II b) (hidrocarburos clorados PCB y PCT)
Grecia	Centre of the Veterinary Institutions of Athens : — Institute of Infectious and Parasitic Diseases Laboratory of Biochemistry 25, Neapoleos Street GR-153 10 Aghia Paraskevi Athens	Grupos A I b ; A III a (sulfonamidas); A I c (hormonas naturales) B (plaguicidas)
	— Institute of Animal Toxicology 25, Neapoleos Street GR-153 10 Aghia Paraskevi Athens	Grupos A I a A I c (zeranol, trembolón) A III b
	— Institute of Food Hygiene Iera Odos, 75 Botanikos GR-118 55 Athens	Grupo A III a
España	Centro Nacional de Alimentación y Nutrición c/Pozuelo Km 2 Majadahonda (Madrid)	Todos los grupos
	Laboratorio de Sanidad y Producción Animal Santa Fe (Granada)	Todos los grupos
	Laboratorio de Sanidad y Producción Animal Algete (Madrid)	Todos los grupos

Estado miembro	Laboratorios de referencia	Grupos de residuos
Francia	Laboratoire de dosages hormonaux École nationale vétérinaire de Nantes CP 3018 F-44087 Nantes Cedex 03	Grupos A I y II
	Laboratoire central d'hygiène alimentaire (LCHA) 43, rue de Dantzig F-75015 Paris	Grupos B I a, B II a, b y c
	Laboratoire des médicaments vétérinaires (LMV) La haute Marche-Javene F-35133 Fougères	Grupos A, III, a y b B, I, b y c
Irlanda	Central Meat Control Laboratory Abbotstown, Castleknock IRL-Dublin 15	Grupos A I, II, III Grupos B I excepto compuestos organoclorados y organofosforados Grupos B II excepto bifeniles policlorinados
	State Laboratory Abbotstown, Castleknock IRL-Dublin 15	Grupos A I, II, III Grupos B I y II
Italia	Istituto Superiore di Sanità Viale Regina Elena 299 I-00161 Roma	Todos los grupos
Luxemburgo	Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne Antonie van Leeuwenhoeklaan 9 NL-3720 BA Bilthoven	Todos los grupos
	Institut d'hygiène et d'épidémiologie Rue J. Wijtsman 14 B-1050 Bruxelles	Todos los grupos
Países Bajos	Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieuhygiëne Antonie van Leeuwenhoeklaan 9 NL-3720 BA Bilthoven	Todos los grupos
	Rijkskwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwpro- dukten Bornesteeg 45 NL-6708 PD Wageningen	Todos los grupos
Portugal	Laboratório Nacional de Investigação Veterinária Estrada de Benfica 701 P-1500 Lisboa	Todos los grupos
Reino Unido	Central Veterinary Laboratory New Haw, Weybridge UK-Surrey KT15 3NB	Grupos A I, II, III Grupo B I
	Food Science Laboratory Colney Lane UK-Norwich NR4 7UA	Grupo A III Grupos B I y II
	Veterinary Research Laboratories Stormont UK-Belfast BT4 3SD	Grupos A I a, I c, II y III Grupos B I y II
	Food and Agricultural Chemistry Research Division Department of Agriculture for Northern Ireland Newforge Lane UK-Belfast BT9 5PX	Grupos A I b y III Grupos B I y II