



**CENTRO NACIONAL DE REFERENCIA  
DE PLAGUICIDAS Y CONTAMINANTES**

**CRITERIOS Y ESPECIFICACIONES DE DESEMPEÑO DE MÉTODOS PARA LA  
EVALUACIÓN DE LABORATORIOS COADYUVANTES EN EL ANÁLISIS DE PLAGUICIDAS**

## **DIRECTORIO**

MVZ Enrique Sánchez Cruz  
Director en Jefe del Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria

MVZ. Hugo Fragoso Sánchez  
Director General de Inocuidad Agroalimentaria, Acuícola y Pesquera

QA Mayrén Cristina Zamora Nava  
Directora del Centro Nacional de Referencia de Plaguicidas y Contaminantes

QA Jocelyn Grethel Cedillo Saldaña  
Subdirectora de Análisis de Plaguicidas y Contaminantes

LAE Daniel González Ávila  
Subdirector de Monitoreo y Evaluación de Calidad

**CONTENIDO**

1	PROPÓSITO .....	4
2	ALCANCE .....	4
3	REFERENCIAS .....	4
4	DESARROLLO .....	4
4.1	CRITERIOS Y ESPECIFICACIONES DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS .....	4
4.2	ANÁLISIS RUTINARIO .....	6

## 1 PROPÓSITO.

Establecer los criterios de validación y las especificaciones para la evaluación del desempeño de los laboratorios interesados en coadyuvar con la Dirección General de Inocuidad Agroalimentaria, Acuícola y Pesquera del SENASICA, mediante la obtención del reconocimiento de competencia técnica para el análisis de residuos de plaguicidas durante la Producción Primaria de Aguacate y análisis Multiresidual de plaguicidas en productos vegetales.

## 2 ALCANCE.

El presente documento es aplicable a aquellos laboratorios interesados en la obtención del reconocimiento de competencia técnica para el análisis de residuos de plaguicidas durante la Producción Primaria de Aguacate y análisis Multiresidual de plaguicidas en productos vegetales.

## 3 REFERENCIAS.

- NMX-EC-17025-IMNC-2006 "Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración".
- CRITERIOS DE APLICACIÓN DE LA NORMA NMX-EC-17025-IMNC-2006 / ISO/IEC 17025:2005 de la Entidad Mexicana de Acreditación (ema®)

## 4 DESARROLLO

### 4.1 CRITERIOS Y ESPECIFICACIONES DE VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

- En la matriz de aguacate la validación debe incluir al menos los siguientes plaguicidas:

Tabla 1. Límites máximos de residuos en matriz de aguacate en Japón.

No.	Plaguicida	LMR (mg/kg)
1	1,2,3,6-Tetrahydrophthalimide (THPI)	Sin especificación
2	Acephate	Sin especificación
3	AlphaCypermethrin	Sin especificación
4	Bifenthrin	Sin especificación
5	Carbendazim	3.0
6	Dimethoate	1.0
7	Folpet	30.0
8	Imidachloprid	0.70
9	Methamidophos	0.01
10	MethylParathion	0.20
11	Pentachlorophenol	Sin especificación
12	Permethrin	5.0
13	Thiabendazole	3.0
14	Thiamethoxam	Sin especificación

- Para la validación de la metodología deben incluirse los siguientes parámetros:
  - 1) Confirmación de identidad (Selectividad y especificidad).
  - 2) Repetibilidad.
  - 3) Reproducibilidad.
  - 4) Exactitud, Precisión y Recuperación (%R).
  - 5) Linealidad del método en el intervalo de trabajo.
  - 6) Límite de detección (LD) en matriz.
  - 7) Límite de cuantificación (LC) en matriz.
  - 8) Robustez.
  - 9) Incertidumbre.
- La concentración máxima en el intervalo de trabajo para todos los plaguicidas debe ser menor a 0.5 mg/kg. Nota: Puede aumentar la concentración máxima de los plaguicidas en caso de ser necesario, pero cuando se trate de concentraciones menores a 0.050 mg/kg se debe mantener el intervalo de trabajo máximo a 0.500 mg/kg.
- Para el caso de plaguicidas que cuentan con Límite Máximo de Residuo (LMR) especificado, el límite de cuantificación LC debe ser menor al LMR. ( $LC < LMR$ ).
- En caso de las matrices en donde los plaguicidas no tienen especificado un LMR, debería:
  - 1) Tener concentraciones menor o igual a 0.01 mg/kg como LC.
  - 2) Tener concentraciones menores o igual a 0.005 mg/kg como LD.
  - 3) Tomar en cuenta la necesidad del cliente con respecto al destino de exportación para considerar la concentración tentativa de LC.

Nota: El LD y LC deben obtenerse con pruebas realizadas en matriz de aguacate y en matrices representativa, no sólo de forma teórica con cálculos resultado de la evaluación de la linealidad o de la práctica de realizar diluciones del estándar del plaguicida en solución con solvente.

- Para plaguicidas no permitidos o no autorizados en Japón en matriz de aguacate, el límite de cuantificación debe ser menor o igual a 0.01 mg/Kg y el límite de detección debe ser igual o menor a 0.005 mg/Kg. ( $LD \leq 0.005$  mg/Kg y  $LC \leq 0.01$  mg/Kg).
- Los porcentajes de recobro obtenidos de la validación se deben encontrar en un intervalo de 70 a 120% de recobro. El promedio del porcentaje de recobro debe estar evaluado con el parámetro de validación de exactitud.
- Para las pruebas de repetibilidad y reproducibilidad se debe evaluar y cumplir con los criterios de aceptación al menos en dos niveles de concentración que incluyan el límite de cuantificación y otro nivel medio dentro del intervalo de trabajo.
- Los materiales de referencia deben ser adquiridos con certificado de análisis por parte del proveedor, el cual debe incluir la pureza del plaguicida para efectos del cálculo de concentración cuando se realicen soluciones.
- El laboratorio debe comprobar que las soluciones madre del material de referencia que se encuentran en stock, no presentan degradación bajo las condiciones de almacenamiento en las que se encuentran. Debe demostrar cómo las evalúa y cómo asigna la vigencia de las mismas.

- Todo el equipo y material de medición debe estar calibrado por un laboratorio debidamente acreditado ante la EMA.

Nota: Se recomienda realizar verificaciones inmediatamente después de la calibración.

- Los valores corregidos de los informes de calibración del material volumétrico deben emplearse para realizar los cálculos de concentraciones.
- Para el estándar Interno, el laboratorio debe evaluar:
  - a) La similitud de las propiedades físico-químicas del Estándar Interno con los plaguicidas y/o sugeridos por el método.
  - b) Porcentaje de recobros aceptables en matriz del Estándar Interno (70-120%).
- Los nuevos analitos que son adicionados a un método validado previo deben ser validados usando el mismo procedimiento descrito para la validación inicial. Se debe verificar la confirmación de identidad, LC y LD del método de adquisición para los analitos ya validados, en caso de que no se cumpla estos parámetros se debe revalidar.
- Las matrices representativas deben ser usadas para validar los métodos multiresiduales. Mínimo una matriz representativa debe ser validado, dependiendo del objetivo del método, se debe de tomar en cuenta el LC y LD de la matriz representativa para cada grupo de matrices analizadas. Cuando un método es aplicado a una amplia variedad de matrices, debe adquirirse una validación complementaria, por ejemplo la evaluación de los controles de calidad en el análisis de rutina.

## **4.2 ANÁLISIS RUTINARIO**

- Un lote de extracción inicial de muestras debe contener los siguientes elementos:
  - 1) Cuantificación:
    - Blanco de reactivo.
    - Blanco de Matriz.
    - Curva de calibración en blanco de matriz de aguacate o matriz representativa del lote con al menos 4 niveles de concentración.
    - Muestras.
  - 2) Controles de calidad:
    - Al menos una muestra duplicada del lote.
    - Al menos un blanco de matriz de Aguacate o matriz representativa del lote fortificada en el límite de cuantificación.
- Un lote de extracción consecutivo de muestras debe contener los siguientes elementos:
  - 1) Cuantificación:
    - Muestras.

2) Controles de calidad:

- Al menos una muestra duplicada del lote.
- Al menos un blanco de matriz de aguacate o matriz representativa del lote fortificada en el límite de cuantificación.

Nota: Se considerará un lote de extracción consecutivo con el cual se cuantifican muestras con la misma curva de calibración de blanco matriz de aguacate o matrices representativas del lote de extracción inicial. Se debe extraer los 2 controles de calidad por día y deben ser evaluados hasta un máximo de 7 evaluaciones diarias.

➤ Una secuencia cromatográfica inicial de muestras por instrumento debe contener los siguientes elementos:

1) Cuantificación

- Blanco de reactivo.
- Blanco de matriz.
- Curva de calibración en blanco de matriz de aguacate o matriz representativa del lote con al menos 4 niveles de concentración con  $r2 \geq 0.98$ .
- Muestras

2) Controles de calidad.

- Al menos una muestra duplicada del lote.
- Al menos un blanco de muestra fortificada en el límite de cuantificación.

Una secuencia cromatográfica diaria de muestras por instrumento debe contener los siguientes elementos:

1) Cuantificación:

- Muestras.

2) Controles de calidad:

- Al menos una muestra duplicada del lote.
- Al menos un blanco de matriz de aguacate o matriz representativa del lote fortificada en el límite de cuantificación.

Nota: Las muestras no deben ser cuantificadas con curvas de calibración que excedan 7 días de haberse extraído e inyectado. El instrumento debe ser evaluado diariamente con un blanco de muestra fortificada en el límite de cuantificación extraído el mismo día. Los recobros de todos los analitos cuantificados deben ser medidos diariamente en cada lote de análisis al menos en el nivel correspondiente al LC. El criterio de aceptación en rutina para los plaguicidas en la matriz validada debe estar en el porcentaje de recobro validado asociado al 20% de CV. En caso de que algún analito no cumpla el criterio de aceptación, se debe realizar mantenimiento al instrumento y la curva de calibración debe ser extraída e inyectada nuevamente.

- Los extractos de lotes anteriores o almacenados no deben ocuparse como controles de calidad.
- La estabilidad del analito en los extractos debe ser evaluada de forma cualitativa (Tiempo de retención, simetría del pico, transición de confirmación y cuantificación) como cuantitativa, debe ser demostrada bajo las condiciones de almacenamiento internas del laboratorio después de la extracción.
- La curva de calibración debe contemplar el límite de cuantificación declarado en la validación.

- La respuesta de los analitos en el extracto de muestra debe estar dentro del rango lineal de respuestas de la curva de calibración inyectada en blanco de matriz de aguacate o representativa del lote. En caso de no cumplir, se deben realizar diluciones correspondientes a la muestra con el blanco de muestra para mantener el efecto matriz- o se pueden extraer muestras con menor peso siempre y cuando se demuestre que no haya diferencia significativa en la cuantificación.
- Una calibración multinivel debe tener al menos 4 niveles de concentración. La curva de calibración debe ser graficada e inspeccionada por el cálculo de residuales, se debe evitar el exceso de confianza en los coeficientes de correlación y asegurar que la regresión es satisfactoria dentro del rango de las concentraciones de los plaguicidas cuantificados. Los residuales deben tener una desviación del  $\pm 20\%$ .
- En el método de análisis para screening se debe verificar la respuesta en el nivel de LC de todos los analitos al menos una vez al mes.

Considerar:

- a) Si el número de plaguicidas en el método de screening es pequeño; por ejemplo de 1 a 50, se debería verificar la respuesta en cada lote de muestras.
- b) Si el número de plaguicidas en el método de screening es grande; por ejemplo 51 en adelante, se debería verificar la respuesta del 25% de los analitos semanalmente, con el fin de evaluar el 100% de los analitos por mes.

La calibración usando una matriz representativa debe ser usada para calibrar un lote de muestras conteniendo diferentes productos. Se debe hacer la evaluación de los efectos de matriz relativos.

La cuantificación que contiene una calibración con isómeros (o similar), debería realizarse con una de las siguientes opciones: la suma de las áreas del pico, o la suma de las alturas del pico o medir cada componente, siempre y cuando se demuestre la mejor veracidad en los resultados.

El criterio de aceptación en rutina para los plaguicidas en las matrices no validadas deben estar dentro del porcentaje 60-140%. Sin embargo, estas desviaciones en los recobros deben ser investigadas.

- Cuando se reporten falsos negativos o falsos positivos, o la veracidad lograda en algún ensayo de aptitud sea cuestionable, el problema debe ser investigado y debe ser rectificado antes de proceder a determinaciones futuras.
- Para la confirmación de los resultados, los cromatogramas de los analitos cuantificados en los extractos de las muestras deben tener picos con tr, forma de pico y relación de respuestas similares a las obtenidas en la calibración estándar analizada en las concentraciones similares del mismo lote.
- Si el análisis inicial provee una identificación ambigua, se debería realizar un análisis de confirmación. Este puede involucrar el re-análisis del extracto de la muestra, re análisis de otra porción analítica de la muestra, análisis del extracto de la muestra por otra técnica analítica o análisis de otro método de adquisición del equipo.
- Para métodos cuantitativos, el residuo del plaguicida por arriba del límite de cuantificación se debe reportar la concentración medida en mg//Kg, por debajo del límite de cuantificación se debe reportar como <LC mg/Kg y por debajo del LD se debe reportar como ND.



- El informe de resultados debe de aclarar los analitos que están reconocidos por SENASICA bajo los esquemas de aguacate y Multirresidual. así como especificar el LD y LC de cada analito.
- La desviación de los resultados de muestras duplicadas no debe exceder el 30%.
- El material de referencia, soluciones stock y soluciones de estándares de calibración deben ser almacenados a temperaturas bajas (<0°C), preferentemente en un congelador exento de luz y bajo condiciones que minimicen la velocidad de degradación.
- Las muestras deben estar separadas de otras fuentes de contaminación potencial.
- El material volumétrico debe ser limpiado escrupulosamente, especialmente antes del re-uso, siguiendo un procedimiento de limpieza validado.

Nota: El uso de material rayado debe ser evitado. El método de limpieza para el material reutilizado debe estar validado para prevenir la contaminación cruzada.