
	Ensayo microbiológico de rastreo para la detección de posibles residuos de antibióticos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-074
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-12-12

Ensayo microbiológico de rastreo para la detección de posibles residuos de antibióticos




AOXLAB S.A.S.

	Ensayo microbiológico de rastreo para la detección de posibles residuos de antibióticos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-074
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-12-12

DOCUMENTO CONTROLADO


PROC-TC-074 Premi Test

Copia controlada No.: 1


	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
Elaboró:	Yeris Mercedes Rinady	Analista de microbiología		2022-12-12
Revisó:	Angela P. Patiño Pérez	directora de calidad		2022-12-12
Aprobó:	Dario Pardo Pardo	Director técnico		2022-12-12
Localización del documento:	http://107.190.139.42/~aoxlabsgc/sig/			

Control de Cambios

Estado	Fecha de Inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Obsoleto	2018/11/07	1	Ninguno (versión original).	IJPB	DPP	YELP
Vigente	2022-12-12	2	Se cambia estilo según manual identidad	YMRM	APPP	DPP


	<p>Ensayo microbiológico de rastreo para la detección de posibles residuos de antibióticos</p> <p>AOXLAB S.A.S</p>	<p>Identificación: PROC-TC-074</p>
		<p>Revisión: 2</p>
		<p>Inicio de vigencia: 2022-12-12</p>

--	--	--	--	--	--	--

	Ensayo microbiológico de rastreo para la detección de posibles residuos de antibióticos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-074
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-12-12

ÍNDICE

Sección	Página
1. OBJETIVO Y ALCANCE.	5
1.1 Objetivo.	5
1.2 Alcance.	5
2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.	5
2.1 Definiciones.	5
2.2 Notaciones.	6
3. REFERENCIAS.	7
4. PATRONES DE MEDIDA.	7
5. INSPECCIÓN VISUAL	7
5.1 Revisión general.	7
5.2 Estabilización.	7
5.3 Verificación de patrones y otros equipos	7
5.4 Manejo del ítem.	7
5.5 Medidas de seguridad.	7
6. INSTRUCCIONES DE ENSAYO.	7
7. INFORME.	9
8. RESPONSABILIDADES.	9
8.1 director técnico	9
8.2 Líder de Calidad.	9
8.3 Líder de Laboratorio.	10
8.4 Analistas.	10
9. FORMATOS RELACIONADOS.	10
10. ANEXOS.	10

	Ensayo microbiológico de rastreo para la detección de posibles residuos de antibióticos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-074
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-12-12

1. OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.

Describir los pasos para realizar la detección de posibles residuos de antibióticos en carnes, pescados, camarones, huevos, riñones, hígados, orina, sangre y piensos compuestos de acuerdo con los parámetros establecidos por el Kit PREMI TEST de R-BIOPHARM (Test Art. No. R3925 / R3900) y teniendo en cuenta los requisitos establecidos en la norma ISO/IEC 17025:2017[1].

1.2 Alcance.

Es una prueba microbiana de amplio espectro, especialmente diseñada para la detección de sustancias antimicrobianas, tales como residuos antibióticos y sulfonamidas en carne fresca, pescado y huevos a niveles iguales o inferiores al nivel máximo de residuos permitidos.


Prueba o ensayo	Norma o método de referencia
Premi Test	R-BIOPHARM AG Premi® Test Art. No. R3925 / R3900

PARAMETRO	CRITERIO	UNIDADES
Intervalo de trabajo del método	Ver tabla 1.	ppb =mg/Kg

Tabla 1. Intervalo de trabajo del método

SUSTANCIA ANTIBIOTICO (AGENTE MICROBIANO)		BOVINO					OVINO					CERDO			
		MUSCULO	GRASA	HIGADO	RIÑON	LECHE	MUSCULO	GRASA	HIGADO	RIÑON	LECHE	MUSCULO	GRASA	HIGADO	RIÑON
AMOXICILINA	NORM A	50	50	50	50	4	50	50	50	50	4	50	50	50	50
	PREMIT EST	5										5			
AVILAMICINA	NORM A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	200	200	300	200
	PREMIT EST														
BENCILPENICILINA/PENICILINA G	NORM A	50		50	50	4						50		50	50

	PREMIT EST	2,5										2,5			
CEPTIOFUR	NORM A	1000	2000	2000	6000	100						1000	2000	2000	6000
	PREMIT EST	100										200			
CLORTETRACICLINA/ OXITETRACICLINA/ TETRACICLINA	NORM A	200		600	1200	100	200		600	1200	100	200		600	1200
	PREMIT EST	100										100			
CLORTETRACICLINA	PREMIT EST	100										100			
OXITETRACICLINA	PREMIT EST	100										100			
TETRACICLINA	PREMIT EST											50			
COLISTINA	NORM A	150	150	150	200	50	150	150	150	200	50	150	150	150	200
	PREMIT EST														
DANOFLOXACINA	NORM A	200	100	400	400							100	100	50	200
	PREMIT EST														
DIHIDROESTREPTOMICINA/EST REPTOMICINA	NORM A	600	600	600	1000		600	600	600	1000	200	600	600	600	1000
	PREMIT EST														
DIHIDROESTREPTOMICINA	PREMIT EST														
ESTREPTOMICINA	PREMIT EST	3000										1500			
ERITROMICINA	NORM A														
	PREMIT EST	100										100			
ESPECTINOMICINA	NORM A	500	2000	2000	5000	200	500	2000	2000	5000		500	2000	2000	5000
	PREMIT EST														
ESPIRAMICINA	NORM A	200	300	600	300	200						200	300	600	300
	PREMIT EST	1000										1000			
FLUMEQUINA	NORM A	500	1000	500	3000		500	1000	500	3000		500	1000	500	3000
	PREMIT EST	>100										>100			
GENTAMICINA	NORM A	100	100	2000	5000	200						100	100	2000	5000
	PREMIT EST	100										100			
LINCOMICINA	NORM A					150						200	100	500	1500
	PREMIT EST	100										100			
MONENSINA	NORM A	10	100	100	10	2	10	100	20	10					
	PREMIT EST														
NARASINA	NORM A	15	50	50	15							15	50	50	15
	PREMIT EST														
NEOMICINA	NORM A	500	500	500	10000	1500	500	500	500	10000		500	500	500	10000
	PREMIT EST	300										300			

	Ensayo microbiológico de rastreo para la detección de posibles residuos de antibióticos AOXLAB S.A.S										Identificación: PROC-TC-074			
											Revisión: 2			
											Inicio de vigencia: 2022-12-12			

PIRLIMICINA	NORM A	100	100	1000	400	100								
	PREMIT EST													
SARAFLOXACINA	NORM A													
	PREMIT EST													
SULFADIMIDINA/SULFAMETAZINA	NORM A					25								
SULFAMETAZINA	PREMIT EST	100										50-100		
TILMICOSINA	NORM A	100	100	1000	300		100	100	1000	300		100	100	1500
	PREMIT EST	50										50		
TILOSINA	NORM A	100	100	100	100							100	100	100
	PREMIT EST	50										25-50		

2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Ensayo/prueba [2].

Determinación de una o más características de acuerdo con un procedimiento.

Procedimiento [2].

Forma especificada para llevar a cabo una actividad o un proceso.

Documento [2].


Información y su medio de soporte.

Antibióticos [3].

Los antibióticos son sustancias químicas producidas por diferentes especies de microorganismos que suprimen el crecimiento de otros microorganismos y pueden, eventualmente, destruirlos.

Inhibición [4].

Suspender transitoriamente una función o actividad mediante la acción de un estímulo adecuado.

	Ensayo microbiológico de rastreo para la detección de posibles residuos de antibióticos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-074
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-12-12

2.2 Notaciones.

Para propósitos de este documento, se hacen las siguientes consideraciones:

“**Laboratorio**”: se refiere al laboratorio AOXLAB S.A.S.

“**Servicios**”: para referir a los servicios de ensayo que el Laboratorio ofrece.

“**Ítem**”: se refiere a los objetos o materiales bajo ensayo.

3. REFERENCIAS.

- [1] ISO/IEC 17025:2017 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories / Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración.
- [2] ISO 9000:2015 Quality management systems -- Fundamentals and vocabulary/ Sistemas de gestión de la calidad-- Fundamentos y vocabulario.
- [3] The use of antibiotics in animal feeds: an actual perspective
<http://www.redalyc.org/pdf/724/72430206.pdf>

4. EQUIPOS.


Para realizar el ensayo se utilizan los siguientes, equipos y componentes clave:

No. Inventario	Equipos y/ o materiales	Marca	Modelo	No. Serie
001	Baño maría	Memmert	N.A	L13120239
006	Balanza Analítica	Radwag	AS 220/C/2	348577/12

5. INSPECCIÓN VISUAL.

5.1 Revisión general.

Al recibirse la muestra en el Laboratorio, éste es inspeccionado a fin de asegurar que se garantizan las condiciones conforme lo indicado en el procedimiento PROC-TC-008 “Procedimiento de aseguramiento de integridad de los ítems bajo servicio”.

	Ensayo microbiológico de rastreo para la detección de posibles residuos de antibióticos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-074
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-12-12

Antes de iniciar el análisis, se debe verificar que la muestra se encuentra empacada y sellada adecuadamente y etiquetada con el sticker de identificación interna del laboratorio, también verificar que se cuente como mínimo con 10 g de muestra para realizar el respectivo análisis.

Almacenar la muestra a 8°C en caso de que no sea posible realizar el ensayo inmediatamente entre al laboratorio, y si no se puede analizar dentro de las próximas 48 horas después de ingresada al laboratorio, almacenar en congelación.

En caso de que la muestra no presente alguna de estas condiciones, realizar la observación en el FOR-TC-066 Formato para el registro de datos del ensayo de screening de Antibióticos

5.2 Estabilización.

Una vez revisada la muestra, se aplican las siguientes instrucciones:

Los patrones y equipos de referencia del laboratorio a intervenir en el ensayo y la muestra se mantienen en el lugar de ensayo, y encendidos (si es el caso), antes de realizar las mediciones, a fin de lograr su operación óptima o estabilización térmica.

5.3 Verificación de equipos.


A fin de confirmar que los equipos a utilizar en el ensayo se encuentran en condiciones adecuadas para realizar el servicio, se inspecciona que se haya realizado la verificación diaria de la balanza analítica, y que el baño maría este ajustado a 64°C teniendo en cuenta los factores de corrección obtenidos del certificado de la última calibración.

5.4 Manejo de la muestra

Para la identificación, manejo, transporte, almacenamiento y preparación de la muestra se siguen las siguientes instrucciones del procedimiento PROC-TC-008 Procedimiento de aseguramiento de integridad de las muestras bajo servicio.

5.5 Medidas de seguridad.

Se deben seguir las siguientes medidas de seguridad antes y durante la realización del servicio: Verificar que el sticker de calibración y mantenimiento del equipo se encuentre vigente (ubicados en el módulo 1 del laboratorio) y no requiere alguna intervención. En caso de que se encuentre alguna anomalía al respecto, dar aviso a la Dirección Técnica a través del Líder de Laboratorio.

	Ensayo microbiológico de rastreo para la detección de posibles residuos de antibióticos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-074
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-12-12

Durante el análisis tener en cuenta que se debe seguir el procedimiento aquí descrito sin modificar ningún parámetro.

Tener en cuenta las instrucciones dadas en el reglamento interno de trabajo PROC-GC-015 Reglamento Interno AOXLAB S.A.S, capítulo IX.


6. INSTRUCCIONES DE ENSAYO.

El ensayo del ítem se realiza de la siguiente manera:

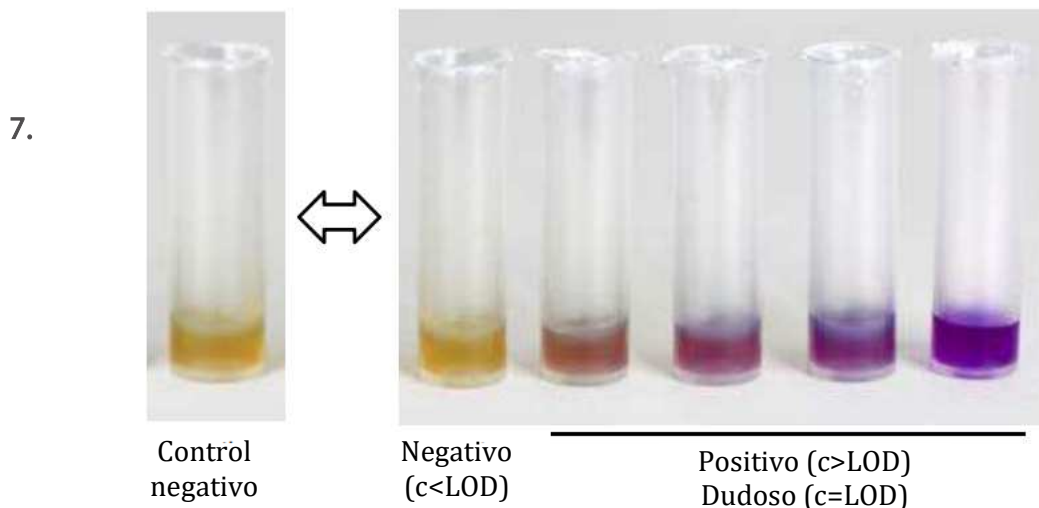
- Lavarse bien las manos antes de comenzar la prueba
- Recortar el número de tubos necesarios sin dañar el aluminio de las ampollas contiguas y dejar
- Quitar con cuidado el aluminio de los tubos que se vayan a utilizar (no abra más tubos de los necesarios).
- Tomar aproximadamente 4g de carne magra y utilizar una prensa para extraer aproximadamente 250 ul de jugo de carne. Otra manera de obtener jugo de carne sería con una multipress o congelando/ descongelando la muestra
- Colocar una nueva punta en la pipeta para cada toma de muestra.
- Pipetear 100 µL del líquido sobre el agar del tubo de ensayo. **No tocar el agar con la punta de la micropipeta.**
- Pre incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente
- Elimine el jugo de carne del tubo de ensayo de la prueba realizando dos lavados con agua destilada y elimine el agua del tubo de ensayo cuidadosamente. No use agua de abastecimiento.
- Cerrar el tubo de ensayo con la película protectora incluida en el envase, para evitar así la evaporación.
- Incubar el tubo de ensayo en un calentador o baño de agua (64 °C +/- 0,5 °C)
- Simultáneamente se recomienda hacer una muestra ya comprobada como negativa. Leer los resultados una vez la muestra negativa haya cambiado de color.

Lectura de los resultados del ensayo

- Leer únicamente el color de los 2/3 inferiores del tubo de ensayo.
- Un claro cambio de color (de violeta a amarillo) indica la ausencia de antibióticos y/o sulfonamidas por encima del límite de detección del ensayo.
- Un cambio de color poco manifiesto indica la presencia de antibióticos y/o sulfonamidas al mismo nivel o sobre el límite de detección de ensayo.

	<p>Ensayo microbiológico de rastreo para la detección de posibles residuos de antibióticos</p> <p>AOXLAB S.A.S</p>	<p>Identificación: PROC-TC-074</p>
		<p>Revisión: 2</p>
		<p>Inicio de vigencia: 2022-12-12</p>

Interpretación de los resultados




ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

Para garantizar la calidad del ensayo, paralelo al montaje de este se realizan control positivo y negativo de la siguiente manera:

Control positivo: Se debe realizar una prueba de control positivo para verificar el correcto funcionamiento del test inoculando 100 ul de antibiótico **Trimetotrim sulfa** sobre el agar del tubo de ensayo. Seguir el procedimiento completo para Premi Test según el ítem 6. Un cambio de color poco manifiesto indica la presencia de antibióticos y/o sulfonamidas.

Control negativo: Se recomienda la realización de un control negativo de la

Se usará para como control negativo, una matriz conocida, libre de interferentes antibióticos. La matriz para usar como control negativo será arroz. Pesar 10 g de arroz adicionar 20 ml de agua desionizada. Mezclar vigorosamente y someter a centrifugación por 10 minutos. Separar el sobrenadante y tomar 100 ul de solución de arroz e inocularlo en el agar sin dañarlo. Seguir el procedimiento completo para Premi Test según el ítem 6 del presente documento. Observe el color del control negativo tras 2 horas y 40 minutos de incubación y luego, cada 5 min, hasta que el color cambie de morado a amarillo. Si el color no ha cambiado tras 3 horas y 10 minutos se debe repetir el ensayo. **No utilizar nunca agua como control negativo**

	Ensayo microbiológico de rastreo para la detección de posibles residuos de antibióticos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-074
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-12-12

Registrar los datos en FOR-TC-066 Formato para el registro de datos del ensayo de screening de Antibióticos. Indicando (S) satisfactorio o (IS) si el resultado es insatisfactorio.

8. INFORME

Reportar los datos primarios en el FOR-TC-066 Formato para el registro de datos del ensayo de screening de Antibióticos. En el mismo formato de deberá ingresar los datos de los controles positivo y negativo.

Luego de tener los resultados estos se presentan conforme el formato FOR-TC-011 Formato de informe de ensayo.

Se aplican los criterios de aceptación/rechazo según la normativa vigente para cada matriz y/o muestra a analizar según lo establecido en la **Tabla 1. Intervalo de trabajo del método**. Se reportará el resultado como menor al límite de detección incluido en esta tabla para cada antibiótico analizado.

9. RESPONSABILIDADES.

9.1 Director técnico.

Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.

Aprobar los informes técnicos una vez han sido revisados por el Líder de Laboratorio.

9.2 Líder de Calidad.


Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.

9.3 Líder de Laboratorio.

Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.

Revisar los resultados ingresados por el analista, haciendo seguimiento de la trazabilidad del análisis.

9.4 Analista.

	Ensayo microbiológico de rastreo para la detección de posibles residuos de antibióticos AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-074
		Revisión: 2
		Inicio de vigencia: 2022-12-12

Aplicar el presente documento llevando a cabo todas las instrucciones y reglamentos del laboratorio, ingresar los resultados en los tiempos pactados, entregar formatos de datos primarios completamente diligenciados al líder del laboratorio.

Realizar revisión de datos primarios y cálculos realizados, informar al líder del laboratorio en caso de observar alguna desviación en los resultados obtenidos teniendo en cuenta las cartas de control.

10. FORMATOS RELACIONADOS.

FOR-TC-066 Formato para el registro de datos del ensayo de screening de Antibióticos

FOR-TC-011 Formato de informe de ensayo.

PROC-TC-008 Procedimiento de aseguramiento de integridad de las muestras bajo servicio

11. ANEXOS.

No aplica