



El concepto **One Health** (“Una Sola Salud”) es una estrategia mundial para aumentar la **comunicación y la colaboración interdisciplinar** en el cuidado de la salud de las **personas, los animales y el medio ambiente**, entendiendo que todas están ligadas entre sí.

## UNA SOLA SALUD

**PROTEGIENDO A LOS ANIMALES PRESERVAMOS NUESTRO FUTURO**

Los sectores de la salud humana y de la sanidad animal colaboran para proteger la salud y garantizar la seguridad alimentaria y la inocuidad de los alimentos

60%

de los patógenos humanos son de origen animal

5

nuevas enfermedades humanas aparecen cada año

20%

de las pérdidas de producción animal en el mundo están causadas por enfermedades

# En el campo de la sanidad animal, los veterinarios son una parte esencial del concepto "Una sola salud"

La detección temprana de las enfermedades e infecciones de origen animal puede prevenir su transmisión al ser humano o la introducción de agentes patógenos en la cadena alimentaria





# ODEPA

## Oficina de Estudios y Políticas Agrarias

### **Leche y derivados**

Chile tiene una moderna lechería, que cuenta con más de 6.000 productores comerciales, especialmente concentrados en las regiones de Los Ríos y Los Lagos.

El país dispone de un millón de hectáreas de praderas y de 500.000 vacas lecheras, junto a una veintena de grandes plantas lecheras, incluyendo varias transnacionales, y casi una centena de queseras de tamaño medio y pequeño.

La producción de leche alcanza a 2.650 millones de litros y genera 130 y 100 mil toneladas de quesos y leches en polvo y otros derivados.

El consumo de lácteos en el país se acerca a 150 litros per cápita, existiendo también un importante comercio exterior.



Código	Región	Nombre de la planta	Localidad
8	RM.	SOPROLE	San Bernardo
9	RM.	NESTLE CHILE S.A.	Macul
10	RM.	WATT'S S.A.	Lonquén
16	RM.	QUILLAYES - PETEROA	Calera de Tango
20	VIII	DIWATTS (EX DANONE)	Chillán
22	VIII	NESTLE CHILE S.A.	Los Ángeles
23	VIII	SOPROLE	Los Ángeles
24	IX	QUILLAYES - PETEROA	Victoria
27	IX	PROLESUR	Temuco
28	IX	SURLAT S.A.	Loncoche
29	IX	SURLAT S.A.	Pitrufquén
31	XIV	COLUN	La Unión
32	XIV	PROLESUR	Los Lagos
34	XIV	WATT'S S.A.	Valdivia
35	X	PROLESUR	Osorno
39	X	NESTLE CHILE S.A.	Osorno
41	X	WATT'S S.A.	Osorno
46	X	NESTLE CHILE S.A.	Llanquihue
47	X	CHILOLAC	Ancud
49	X	ALIMENTOS PUERTO VARAS S.A.	Puerto Varas
50	X	LÁCTEOS OSORNO LTDA.	Osorno
51	XIV	QUILLAYES - PETEROA	Futrono
53	X	GRUPO LACTALIS	Osorno
54	XIV	LÁCTEOS LAS PARCELAS DE VALDIVIA LTDA.	Valdivia
55	XIV	GRUPO LACTALIS	Río Bueno
56	X	INVERSIONES E INDUSTRIAS VALLE VERDE S.A.	Osorno
57	VIII	GRANAROLO CHILE SPA	Los Ángeles
58	X	NESTLE CHILE S.A.	Cancura
59	X	GRUPO LACTALIS	Purranque
60	RM.	GRUPO LACTALIS	Melipilla

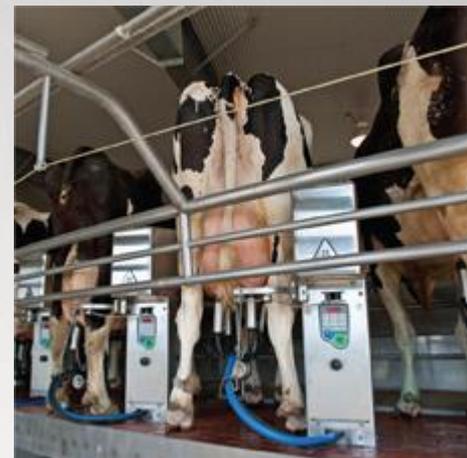
**PLANTA O PLANTAS:**  
 Comprende a las Plantas  
 Pasteurizadoras, Industrias  
 Lecheras o Plantas  
 Industriales, y a aquellos  
 usuarios que adquieran  
 leche cruda o en estado  
 natural para su  
 procesamiento posterior.



## Pautas para ayudar a mantener la leche libre de residuos antibióticos

### • **Prevenir enfermedades para reducir al mínimo el uso de antibióticos:**

- Mantener una buena salud del ganado. Vacunación Higiene.
- Diagnosticar a los animales enfermos de manera temprana y precisa.
- Practicar la bioseguridad agrícola y del ganado.
- Marcar y separar las vacas en tratamiento del resto de ganado en ordeño.



### • **Seguir las instrucciones del etiquetado de fármacos y piensos medicados:**

- Observar si el fármaco está aprobado para las vacas en periodo de lactancia.
- Seguir las instrucciones de la dosis, frecuencia y vía de administración.
- Realizar pruebas en todas las vacas secas tratadas.

### • **Mantener buenos registros de tratamiento:**

- Nombrar a una persona responsable del tratamiento de las vacas y de los registros de seguimiento
- Identificación de las vacas; Fechas y horas del tratamiento; Antibiótico utilizado, dosificación, frecuencia y vía de administración; Periodo de retirada del fármaco; Revisar y comprobar los registros en cada ordeño.

### • **Mantener la leche de las vacas tratadas fuera de la línea de ordeño:**

- Retener la leche de cualquier vaca que esté recibiendo tratamientos con antibióticos por vía oral, intramuscular, intrauterina o por infusión en la ubre, así como algunas pomadas y aerosoles.

**Realizar pruebas de detección de antibióticos a todo las vacas**



## Uso de Antibióticos en la Ganadería Lechera

Los antibióticos son drogas que se usan para combatir enfermedades causadas por diversos microorganismos tales como la mastitis, la neumonía o infecciones de las patas. Son administrados a los animales en diferentes formas, siendo las más comunes la intramamaria o la inyección intramuscular.

No vender leche o carne de vacas que han sido tratadas con antibióticos antes de que haya pasado el tiempo de retiro. Si por error se ordeñara una vaca tratada con antibióticos adentro del tanque de leche, se debe tirar toda la leche del tanque y volver a lavarlo antes de seguir ordeñando.

Generalmente los tiempos de retiro de la leche y carne vienen marcados en la etiqueta del producto, pero recuerde siempre preguntar al veterinario



**Vacas positivas deben ser analizadas 24 horas después y hasta que el resultado sea negativo.**



La mastitis bovina es sin lugar a dudas una de las enfermedades más estudiadas en el contexto de las numerosas patologías que afectan a la especie bovina y particularmente en las razas productoras de leche.

Cuadro 2. Principales microorganismos causantes de mastitis bovina

	Microorganismos contagiosos asociados a la ubre	Microorganismos menores asociados a la ubre	Microorganismos asociados al medio ambiente
Patógeno	<i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>S. dysgalactiae</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Estafilococos coagulasa</i> negativos, <i>Corynebacterium bovis</i>	<i>Streptococcus uberis</i> , <i>enterococos</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Estafilococos coagulasa</i> negativos
Reservorio	La ubre	La piel de la ubre, el canal del pezón	El medio ambiente, la piel de la ubre
Transmisión	En el momento del ordeño	En el momento del ordeño, por el ser humano	En el momento del ordeño, por el ser humano
Profilaxis	Higiene en el ordeño	Corrección de factores predisponentes	Corrección de factores predisponentes

Fuente: Andresen 2001; Wolter *et al.* 2004.



## Ejemplo de Antibióticos usados en mastitis

Microorganismo	Especies	Fármaco de elección y Alternativas
Estreptococos	Streptococcus agalactiae	Penicilina G
	Streptococcus dysgalactiae	Según la prueba de susceptibilidad
	Streptococcus uberis	
	Enterococcus	
Estafilococos	Staphylococcus aureus	Penicilina G
	Estafilococos coagulasa negativos	Macrólidos Cloxacilina
	$\beta$ -lactamasa -ve	
	Staphylococcus aureus	Lincosamidas
Estafilococos coagulasa negativos		
	$\beta$ -lactamasa +ve	
Coliformes	Escherichia coli	Fluoroquinolonas
	Especies de Klebsiella	Cefalosporinas



**Residuos en la leche.** Los residuos o inhibidores en leche han sido definidos como toda sustancia química o biológica que al ser administrada o consumida por el animal, se elimina o permanece como metabolito en la leche, con efectos nocivos para el consumidor.

Estas sustancias no sólo incluyen a los antibióticos empleados en el tratamiento de enfermedades infecciosas, también incluyen los desinfectantes y detergentes usados en los procesos de limpieza y desinfección, y los pesticidas para el control de garrapatas, moscas y maleza

## ¿Por qué analizar antibióticos?



### Riesgos para la Salud

- Reacción Alérgica
- Bacterias Resistentes
- Supresión del Sistema Inmune
- Riesgo de Efectos Crónicos



### Producto

- Inhibición de Productos Cultivados
- Calidad
- Sabor



### Leyes

- Regulaciones Domesticas
- Regulaciones Internacionales



### Ventas

- Percepción del Cliente
- Ventaja en el Mercado.



Charm fue el pionero al introducir el primer test rápido de antibióticos para leche en **1978**. desarrolló una prueba que redujo las pruebas de antibióticos lácteos de días a cuestión de minutos. Esto ayudó a reducir los retiros costosos y dañinos de la marca y a mejorar significativamente los programas de seguridad de los lácteos. Hoy en día, más del 75% de la leche cruda del mundo (bovino, caprino, ovino, camello) se prueba con kits de prueba Charm.

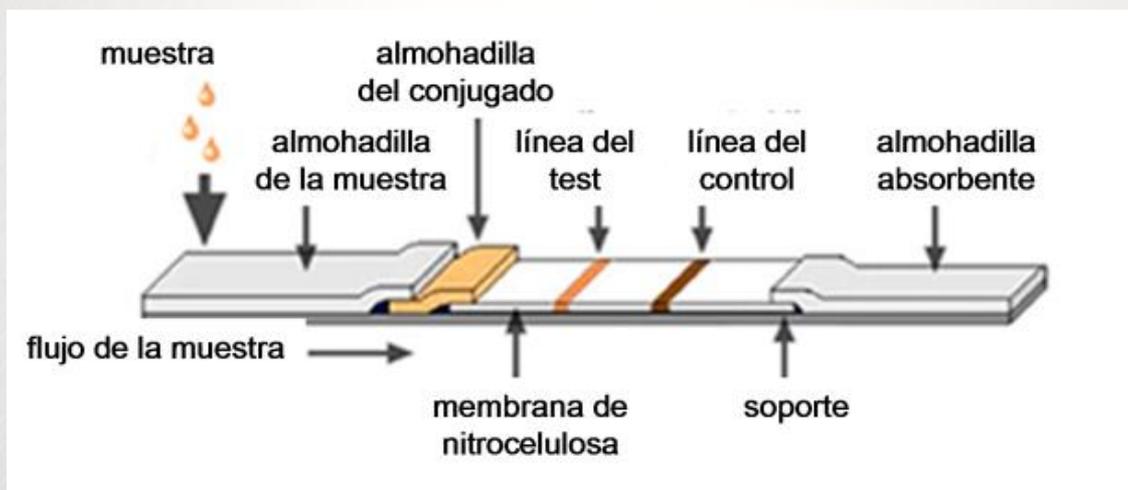
## ROSA Lateral Flow Antibiotic Strips

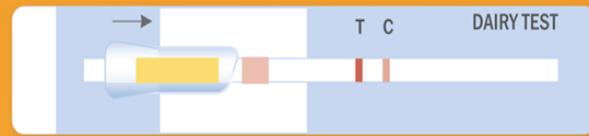
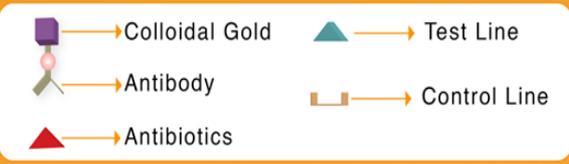
SE fabrican para probar niveles seguros en los EE. UU., Límites máximos de residuos de MRL / CODEX / unión aduanera de la UE y múltiples requisitos específicos de otros países.





# Principio ROSA





### Muestra de Leche con Residuo

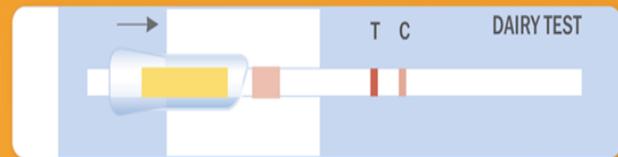


### Muestra de Leche SIN Residuo





-  Colloidal Gold
-  Test Line
-  Antibody
-  Control Line
-  Antibiotics

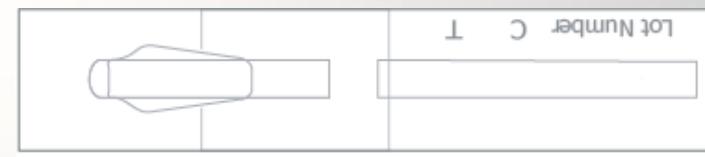


## Muestra de Leche con Residuo

Antibiótico se une al receptor



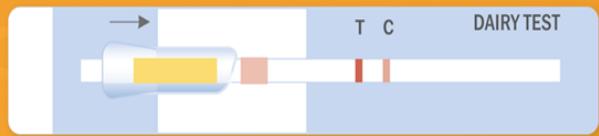
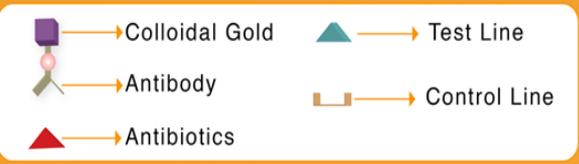
Receptor esta disponible



## Muestra de Leche SIN Residuo



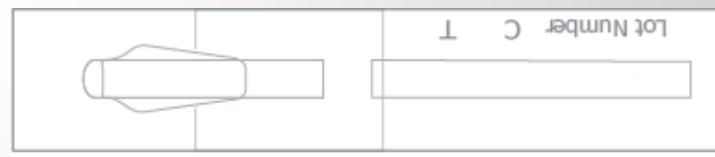
T C



### Muestra de Leche con Residuo



Movimiento de Flujo Lateral →

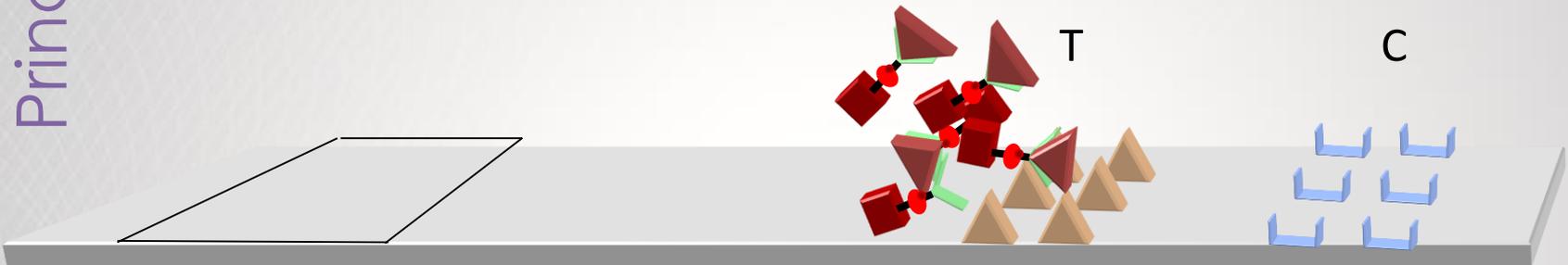


### Muestra de Leche SIN Residuo

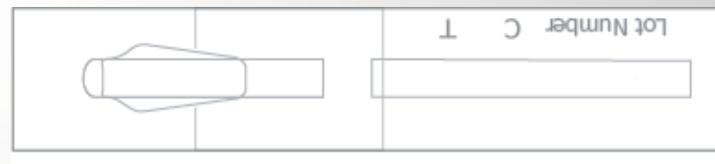
Colloidal Gold    Test Line  
Antibody    Control Line  
Antibiotics



### Muestra de Leche con Residuo

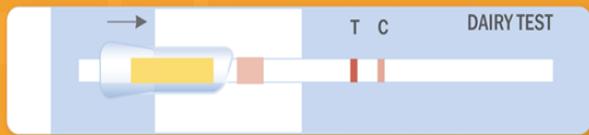


Movimiento de Flujo Lateral



### Muestra de Leche SIN Residuo

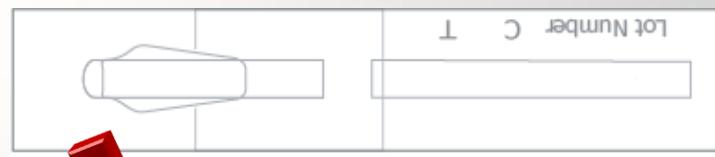
T C



### Muestra de Leche con Residuo



Movimiento de Flujo Lateral →



### Muestra de Leche SIN Residuo

T C

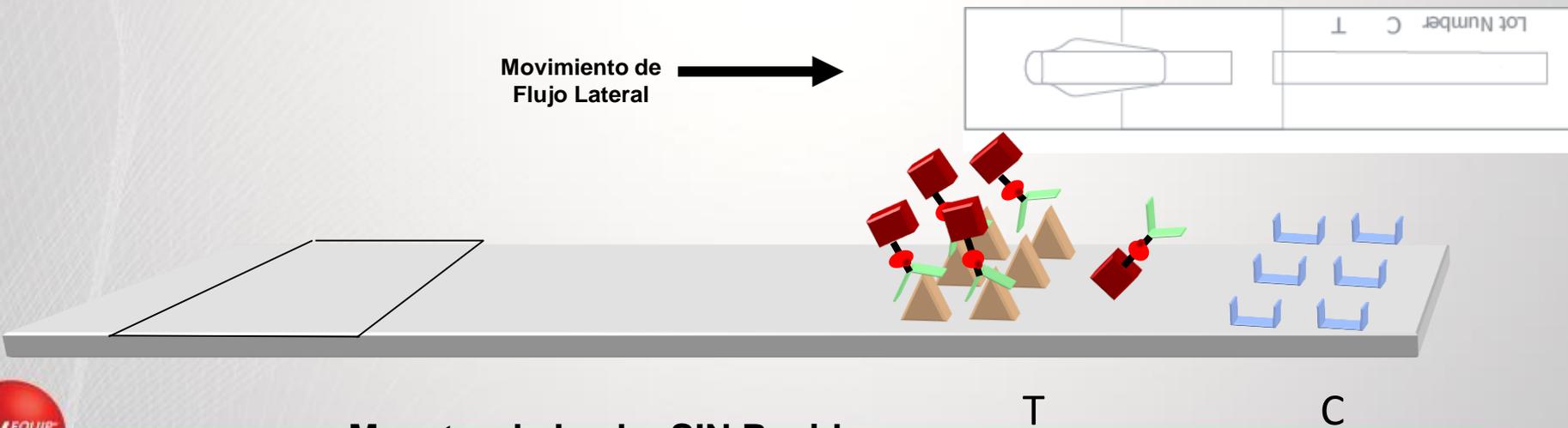
Colloidal Gold    Test Line  
Antibody    Control Line  
Antibiotics



### Muestra de Leche con Residuo



Movimiento de Flujo Lateral →

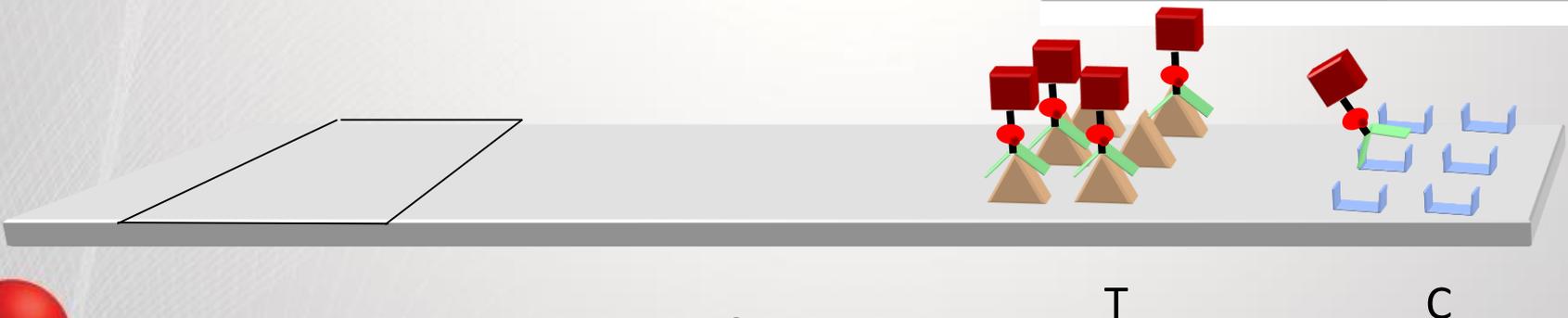
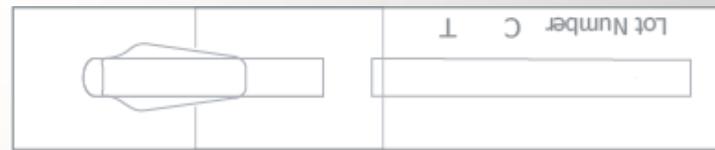


### Muestra de Leche SIN Residuo

**Muestra de Leche con Residuo**



Receptor disponible se une a la línea test



**Muestra de Leche SIN Residuo**



 → Colloidal Gold      → Test Line  
 → Antibody      → Control Line  
 → Antibiotics



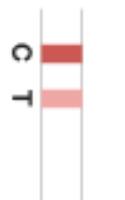
## Muestra de Leche con Residuo

Receptor restante se une a la línea Control

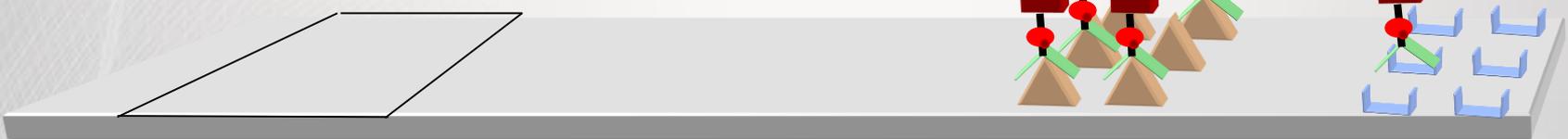
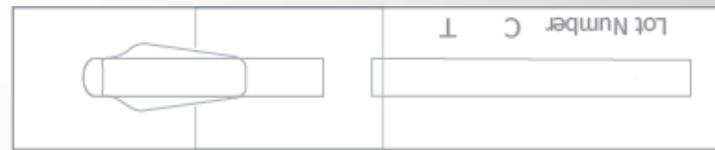
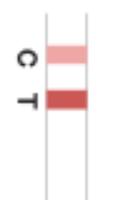
T

C

Positive



Negative



T

C

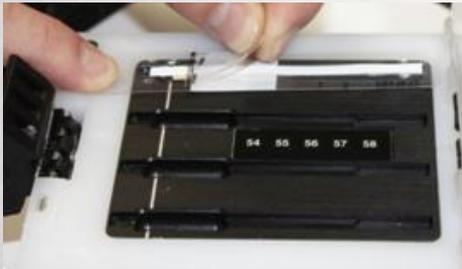
## Muestra de Leche SIN Residuo





# Análisis de Leche usando KIT ROSA

SONIDO

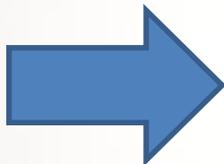




# Equipos



Incubadora temperatura y tiempo.



Incubadora temperatura , tiempo y lector en el campo.



Incubadora temperatura , tiempo y lector.  
Ingresa ID de Usuario, Muestra y Lote. software

# Un Instrumento, Múltiples Pruebas<sup>A</sup>: La versatilidad sin precedente del Charm EZ permite correr pruebas para diferentes antibióticos en un sólo instrumento.

## Beta-lactamas

<b>Charm 3 SL3</b>	Charm 3 SL3 Beta-lactamas
<b>SLBL</b>	Beta-lactamas a nivel SL <sup>B</sup>
<b>MRLBL1</b>	Beta-lactamas, 1-minuto nivel MRL <sup>C</sup>
<b>MRLBL3</b>	Beta-lactamas, 3-minutos nivel MRL

## Aflatoxina

<b>SLAFMQ</b>	Aflatoxina M1, Cuantitativa a nivel SL
<b>MRLAFMQ</b>	Aflatoxina M1, Cuantitativa a nivel MRL

## Otros Antibióticos

<b>STREP</b>	Estreptomicina
<b>NEO-STREP</b>	Neomicina y Estreptomicina
<b>CHLOR</b>	Cloranfenicol
<b>QUIN</b>	Quinolonas
<b>SULFA</b>	Sulfas
<b>TET</b>	Tetraciclinas

## QUADS

<b>Regulaciones Rusas</b>	Concentraciones específicas de Beta-lactamas, Tetraciclinas, Estreptomicina y Cloranfenicol
<b>QUAD1</b>	Beta-lactamas, Tetraciclinas, Sulfas y Quinolonas a niveles MRL
<b>QUAD2</b>	Macrolidos-(Tilosina, Lincosamida, Eritromicina, Tilmicosina) y Gentamicina a niveles MRL
<b>QUAD3</b>	Aminoglicósidos-Neomicina, Estreptomicina, Kanamicina y Espectinomicina a niveles MRL

## Combo

<b>FLUSLBL</b>	Flunixinina y Beta-lactamas
<b>MRLBLTET</b>	Beta-lactamas y Tetraciclinas a niveles MRL
<b>MRLBLTET2</b>	Beta-lactamas y Tetraciclinas, 2-minutos a niveles MRL
<b>MRLBLRFTET2</b>	Beta-lactamas y Tetraciclinas, concentraciones específicas (Rusia, Kazakhstan y Belarus) a niveles MRL
<b>TRIO</b>	Beta-lactamas, Sulfas y Tetraciclinas



El sistema Charm EZ (incubadora y lector en uno) hace un rápido trabajo de análisis de antibióticos y aflatoxina M1 en la leche. Simplemente inserte una tira de flujo lateral ROSA (Rapid One Step Assay) y agregue leche. El sistema Charm EZ identifica automáticamente la prueba, el tiempo de incubación y la temperatura. Cierre la puerta y los resultados estarán listos en minutos

## Principales Grupos de Antibioticos

Beta to lactam Drug	Tetracycline Drug	Flunixin	Aminoglicósido	Quinolone	Sulfonamide Drug
Amoxicillin	Chlortetracycline	Amoxicillin	Dihidroestreptomicina	Ciprofloxacin	Sulfacetamide
Ampicillin	Oxytetracycline	Ampicillin	Kanamicina	Danofloxacin	Sulfachlorpyridazine
Cefacetrile	Tetracycline	CeftiofurB	Neomicina	Difloxacin	Sulfadiazine
Cefalexin		Cephapirin	Espectinomicina	Enrofloxacin	Sulfadimethoxine
Cefalonium		Penicillin G	Estreptomicina	Flumequin	Sulfadoxine
Cefazolin				Lomefloxacin	Sulfaethoxypyridazine
Cefoperazone				Marbofloxacin	Sulfamerazine
Cefquinome				Naladixic Acid	Sulfamethazine (Sulfadimidine)
Ceftiofur and Metabolite^				Norofloxacin	Sulfamethizole
Cephapirin				Ofloxacín	Sulfamethoxazole
Cloxacillin				Sarafloxacin	Sulfamethoxypyridazine
Dicloxacillin					Sulfapyridine
Penicillin G					Sulfaquinoxaline
					Sulfathiazole
					Sulfisoxazole





# Charm Hace Pruebas Únicas para Ajustarse a Diferentes Regulaciones

La prueba Charm SL<sup>®</sup> Beta-lactam y la prueba Charm 3 SL3 Beta-lactam a US Safe Levels – Rendimiento de Pruebas de **Detección validado por AOAC-RI y FDA-CVM** (Center for Veterinary Medicine)

*La posibilidad de ajustarse a diferentes regulaciones protege al consumidor y resulta en menos disputas y menos eliminación de leche!*



• Approved for NCIMS Appendix N Pilot Program



• EU/CODEX MRL

• Canadian MRL

**Japón:** Japanese Positive List y PD “Paper Disc” –sensibilidad balanceada: PPBL, PLBLTET, PIRL

Pruebas “Safe Level” : SL, SL3, Charm II

**USA:** Niveles de Custom Union, GOST: MRLBLRFTET2, STREP, CAP,

**Rusia:** QUAD-R

**Europa:** Pruebas a nivel “MRL” : MRLBL, MRLBL3, MRBL1, MRLBLTET, MRLBLTET2

**China:** Pruebas a nivel China: QUADs, Prueba visual M1

**Nueva Zelanda:** Pruebas a nivel NZ, ajuste de Cefalonium: KIWI

**Brasil:** Pruebas CODEX: MRLBLTET, SULFA, QUIN, COWSIDE

Cuadro 2. Límites y niveles de detección de la prueba Rosa Charm para antibióticos β-lactámicos

Fármaco antibiótico	LMR (µg/kg) Codex Alimentarius	Rango de detección (µg/kg)
Amoxicilina	4	4 – 5
Ampicilina	4	3 – 5
Cefacetil	125	8 – 18
Cefalexina	100	15 – 30
Cefalonio	20	3 – 6
Cefazolina	50	12 – 20
Cefoperazona	50	5 - 9
Cefquinoma	20	15 – 25
Ceftiofur	100	10 – 20
Cefuroxima	50	3 – 5
Cefapirina	60	6 – 10
Cloxacilina	30	20 – 30
Dicloxacilina	30	15 – 25
Penicilina G	4	2 – 3

Fuente: Inserto The Charm ROSA MRL-3





## Objetivos del Diseño de la Prueba ROSA®

ROSA = Rapid One Step Assay

- Adherirse a Regulaciones
- Fácil de Manipular: Prueba de 1-Paso
- Equipo Mínimo
- Escalable: Capacidad de Análisis de Alto Volumen de Muestras
- Robusto & Confiable
- Continuidad en Análisis

### Uso Previsto de ROSA®

- Leche Cruda Mezclada de Vaca
- Muestras de Vacas Individuales
- Leche Entera Homogenizada
- De un solo uso - Procedimiento Simple
- Lea visual ó con Lector ROSA
- Mini-Incubador trabaja en planta o en vehículo

### Interferencias

- Ninguna de Bacteria <300,000 ufc/ml
- Ninguna de Células Somáticas <1,000,000/ml
- Grasa mayor que 6.5%
- Calostro

NOTA: No usarse en Leche Descremada HTST o leche UHT





# Análisis Global de Antibióticos



**Mas del 75% de toda la leche cruda del  
Mundo es analizada con una prueba Charm**



# ODEPA

## Oficina de Estudios y Políticas Agrarias

### Apicultura

En Chile existen alrededor de 10 mil explotaciones que administran más de 454 mil colmenas, las cuales generan una variada gama de productos apícolas como cadena productiva. La producción de miel, originada principalmente en especies melíferas del bosque nativo chileno, es exportada en cerca de un 90% a los mercados de la Unión Europea y Estados Unidos, constituyéndose como el principal producto pecuario primario exportado por Chile.



## Residuos en Miel de Exportación

Respecto de los residuos en miel de exportación, el Programa de Control de Residuos en Productos Pecuarios permite determinar el uso de productos prohibidos y verificar el adecuado uso de productos farmacológicos y otros permitidos de acuerdo a la normativa vigente.

Complementariamente, la [Resolución N° 361](#), del 20 de enero de 2006, establece como requisito previo a la exportación de miel, el análisis de sustancias antibacterianas (nitrofuranos, cloranfenicol, estreptomicina y sulfas) para cada lote de producción a certificar.



Todos los apicultores que deseen **exportar su producción de miel** deben estar **inscritos en el Registro de Apicultores de Miel de Exportación (RAMEX)** a fin de obtener la documentación necesaria que **certifique** que la miel de exportación ha sido producida en Chile por apicultores inscritos en tal Registro y que **cumplen las exigencias requeridas por los países de destino.**



**MEDICAMENTOS VETERINARIOS DE USO APÍCOLA  
REGISTRADOS EN EL SAG**  
Última modificación: 21 de Junio de 2018

N° Registro SAG	Nombre Genérico	Nombre Comercial	Forma Farmacéutica	Indicación	Importador
614	Flumetrina 3,6 mg	Bayvarol	Tiras	Control de Varroa destructor	Bayer S.A.
1917	Flumetrina 3,6 mg	Verostop	Tiras	Control de Varroa destructor	Centrovet Ltda.
2040	Timol, Levomentol, Aceite de Eucaliptus, Alcanfor	Alvar	Tablilla Evaporante	Control de Varroa destructor	Agro-Apiicultura Ltda.
2394	Amitraz	Apitraz	Tiras	Control de Varroa destructor	Agrovet SPA

*Esta lista se actualiza permanentemente  
La fecha señalada refleja el último cambio oficial de los datos que contiene;  
después de esta fecha no se ha ingresado información nueva al SAG.*

Los Productos Registrados por el SAG para el Control de Varroa Destructor Cumplen con los requisitos oficiales, si no que además con un respaldo de un laboratorio de producción farmacéutica autorizado.

Por esta razón, al administrar a colmenas productos sintéticos no registrados para uso en Apicultura, se está usando un medicamento cuyas dosis no han sido calculadas para Abejas, lo que se traduce en:

- Eficacias Erráticas
- Selección de individuos resistentes
- Mortalidad de abejas adultas y crías
- Residuos violatorios en miel, cera y otros productos de la colmena.



**La Organización Mundial de la Salud** recomienda que se haga un uso de antibióticos limitado y responsable, sobre todo cuando existen otras alternativas, además informa que su uso a bajas dosis y por largos periodos de tiempo constituye una condición favorable para al desarrollo de resistencia antibiótica.

### **Aplicación de antibióticos a la Colmena**

**En polvo:** se mezcla el antibiótico en la dosis total por colmena (1.200 gr.) con azúcar impalpable en cantidad necesaria para 4 – 6 aplicaciones de 25 gr. cada una

**Por espolvoreo:** se aplica sobre los cabezales de los cuadros de cría en la cámara de cría una dosis de 25 gr. de la mezcla evitando que la misma entre al interior de las celdas con cría para que el producto no toque a las larvas ya que en caso contrario las abejas limpiarán las celdas y retirarán las larvas sucias

**En sobres o paquetes.** la mezcla total se coloca en sobres o paquetes hechos con papel absorbente sobre la cámara de cría



# Sistema Charm II

## Múltiples Antibióticos

- Beta-lactamas
- Tetraciclina
- Sulfas
- Macrolidos
- Anfenicoles / Cloranfenicol
- Aminoglicósidos
- Nitrofuranos\*

## Otros Analitos

- Pesticidas
- Fosfatasa Alcalina
- Aflatoxina

## Múltiples Matrices

- **Miel**
- Leche
- Tejido
- Suero/Orina
- Granos

## Principio.

Pruebas de tamizaje para familias de antibióticos (beta lactamas, sulfamidas, tetraciclinas, macrolidos, aminoglicósidos, anfenicoles)



Algunas pruebas pueden detectar productos específicos (cloranfenicol, aflatoxina y nitrofuranos)



## Prueba Charm® II para Tetraciclinas en Miel

Varios antibióticos incluyendo tetraciclinas son usados en apicultura para el tratamiento de enfermedades en colmenas tales como en Europa y América Chile , SAG Centro de referencia). En mieles alrededor del mundo se han encontrado residuos de antibióticos incluyendo tetraciclinas.

La prueba Charm II para Tetraciclinas en Miel es un inmunoensayo rápido para la detección de la familia de tetraciclinas en miel. La sensibilidad de la prueba para detectar tetraciclinas es de 10 a 20 ppb en Miel.

La prueba Charm II para Tetraciclinas en miel utiliza un reactivo de enlace con sitios específicos para tetraciclinas. Este reactivo de enlace se agrega al extracto de muestra junto con una cantidad mínima de tetraciclina marcada con [H3] (marcador)

### Componentes Principales:

- Líquido de Centelleo
- Incubadora Inctronic II
- Estación con Maxi Mix II
- Centrifuga





## PROTOCOLO DE ANALISIS

### Contenido:

- Tableta de enlace y marcador (verde)
- Control Negativo
- Control Positivo



- Identifique un tubo de 50 ml por cada muestra.
- **Pese 5.0 g  $\pm$  0.1 g de miel** en un tubo previamente identificado. Si hay cristalización del azúcar, caliente la muestra en agua tibia hasta que esté homogénea.
  - **Agregue 20.0 ml** de agua des ionizada o destilada.
  - **Tape y mezcle** hasta que la miel este disuelta.

Agregue la tableta de enlace (verde) a un nuevo tubo de ensayo

Agregue 0.3 ml de agua a la tableta de enlace





## Utilizando el tabletero, agregue marcador (amarillo) al tubo de ensayo

Usando el Vortex, mezcle el tubo 15 veces en 15 segundos haciendo subir y bajar la muestra



- Incube por 3 minutos a 85°C en el bloque incubadora



Agregue tubos a la centrifuga asegurándose que estén balanceados. Coloque la centrifuga a 3400 RPM por 3 minutos y presione Start.



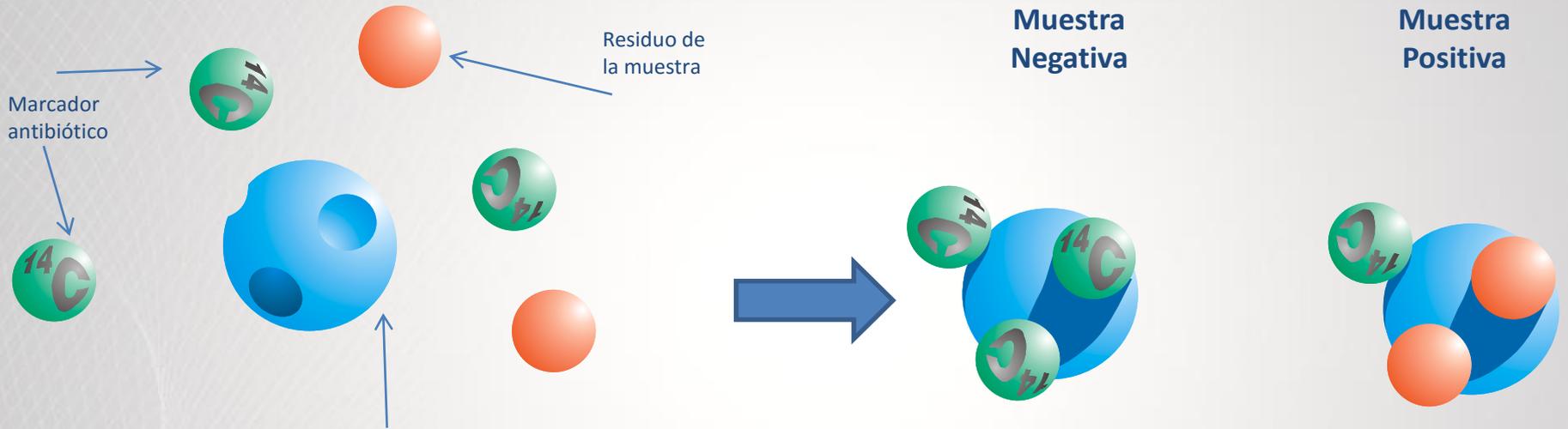
Descarte el sobrenadante, Limpie y remueva el círculo de grasa dentro del tubo con hisopos. Asegúrese de no tocar el precipitado.

Agregue 3.0 ml of Opti-Fluor al tubo de ensayo y mezcle hasta obtener un color uniforme





# Principio de la Prueba



El marcador compite con el antibiótico en la muestra por los sitios receptores

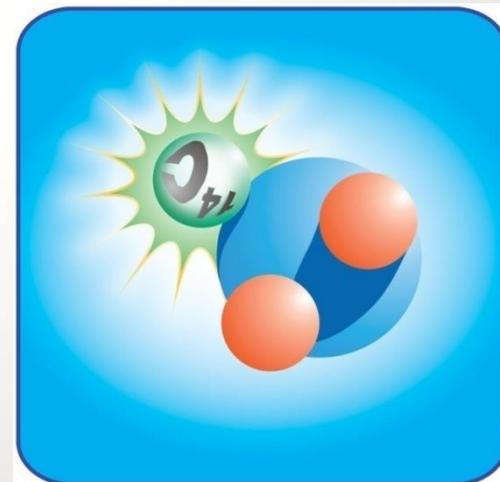
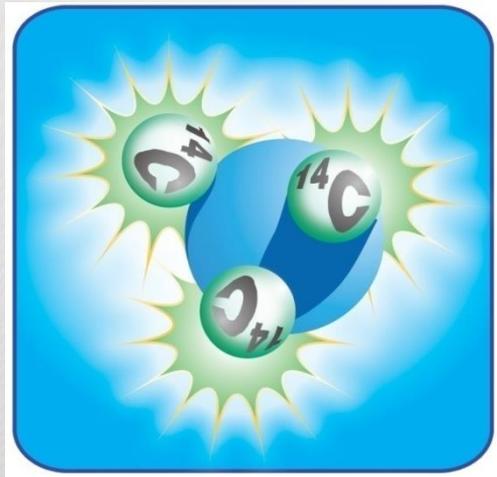
# Liquido de Centelleo – Reacción

El liquido de centelleo se añade al material unido.

La energía liberada por el marcador radioactivo reacciona con el liquido de centelleo para dar LUZ

**Mas Luz – Mas material radioactivo– Muestra Negativa**

**Menos Luz – Menos material radioactivo– Muestra Positiva**



## Lea resultados en el analizador Charm II



En el caso de Charm II estamos midiendo luminiscencia en cantidades mínimas y radioactividad. Para poder realizar esta función tenemos fotomultiplicadores que son detectores ópticos de vacío que aprovechan la emisión secundaria de electrones y que permite detectar la emisión de ATP y los niveles bajos de radioactividad.

La **medida** del contador de centelleo viene expresada en cuentas por minuto (CPM)

- El Punto Control es un número (en CPM) que se establece para determinar si una muestra es Negativa o Positiva.

Cada cuenta que mide el aparato corresponde a una desintegración radioactiva.

- Diseño intuitivo para el análisis de muestras, determinación de puntos de control y monitoreo diaria de funcionamiento.
- La función de reportes permite exportar datos a Excel.

# Sistema Charm II

- El mismo procedimiento de análisis que en leche
- La única diferencia es la extracción/dilución del producto para recuperar el antibiótico
- Use material fresco: tejido, miel, suero, orina, etc.
- Corra las pruebas el mismo día que prepara los extractos



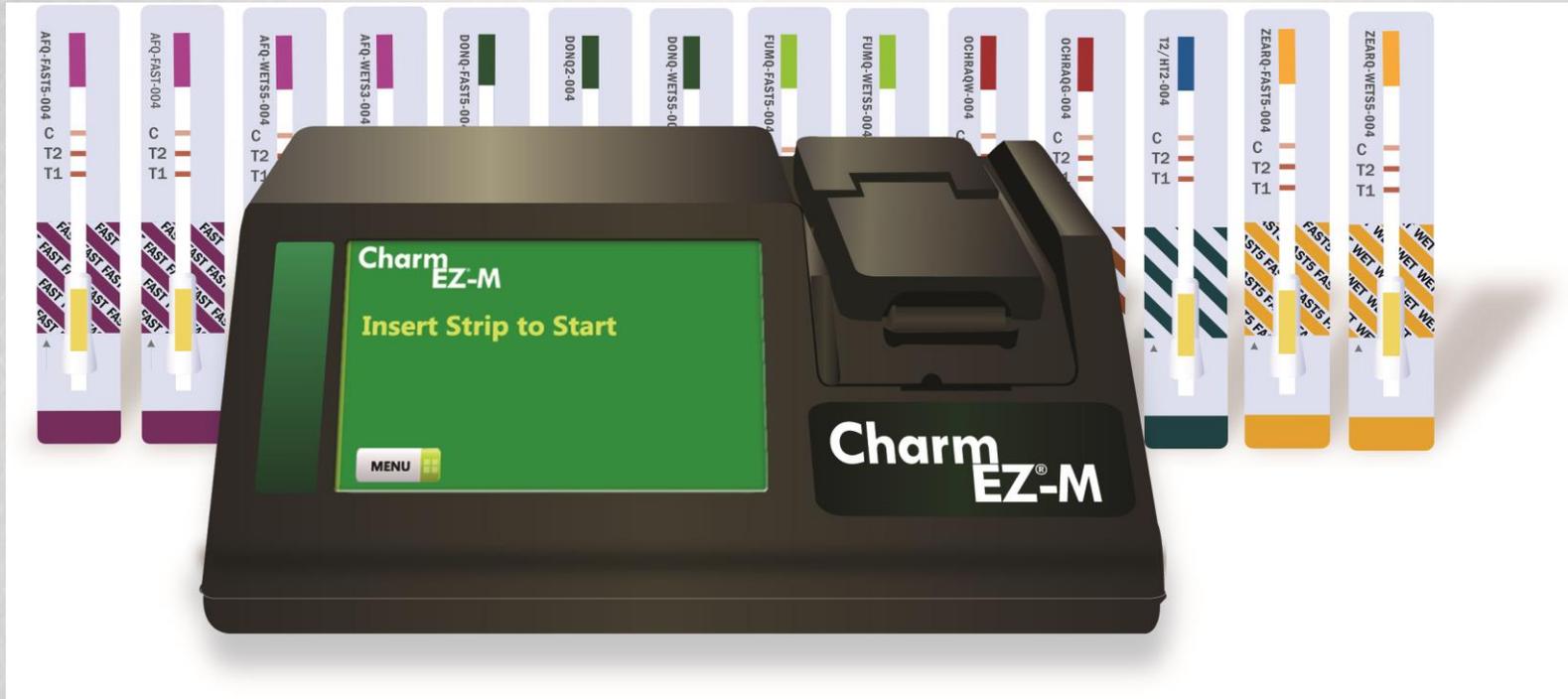


## **Interferencias y Reactividad Cruzada:**

No hay interferencias a 1000 ppb de las siguientes familias/ antibióticos: aminoglicósidos, anfenicoles, beta-Lactamas/cefalosporinas, fluoroquinolonas, macrólidos/lincosamidas, nitrofuranos, sulfas o clorotiazida, dexametasona, dipirona, flunixinina, furosemida, ivermectina, novobiocina, oxitocina, PABA, fenilbutazona, triclormetiazida y tiabendazole. Otros miembros de la familia de tetraciclinas son detectados. No hay interferencias de bacteria a 10<sup>6</sup> CFU/g.



# Aflatoxina a Zearalenona





# ¿Qué son micotoxinas?

## Micotoxinas

- Metabolitos secundarios de ciertas especies de hongos (mohos)
- Aprox. 300 micotoxinas listadas
- Géneros de hongos productores de toxinas:
  - *Aspergillus*, *Penicillium* y *Fusarium*
- 6 Micotoxinas de importancia mundial:
  - aflatoxinas, tricotecenes, fumonisinas, zearalenona, ocratoxina A y alcaloides ergot
  - Los mayores efectos tóxicos son carcinogenicidad, genotoxicidad, teratogenicidad, nefrotoxicidad, hepatotoxicidad, desordenes reproductivos e inmunosupresión.

**Aflatoxina:** Carcinogénica

**DON (Vomitoxina):** Rechazo de alimento, actividad inmunosupresora

**Fumonisina:** Carcinogénica, leucoencefalomalacia equina y edema pulmonar en cerdo

**Ocratoxina:** Nefropatía porcina & aviaria, ingesta de alimento reducida

**T2/HT2:** Rechazo de alimento, actividad inmunosupresora

**Zearalenona:** Toxina estrogénica, susceptibilidad en cerdos y aves

## Regulaciones Europeas

<b>Aflatoxina</b> en cereales y productos procesados destinados al consumo humano directo o a ser usados como ingredientes de productos alimenticios	2 ppb Aflatoxina B1 4 ppb total
<b>Ocratoxina A</b> en cereales crudos en grano	5 ppb
<b>Ocratoxina A</b> en todos los productos derivados de cereales en grano para consumo humano directo	3 ppb
<b>DON</b> en cereales para consumo y otros productos derivados a la venta	500 ppb
<b>DON</b> en harina usada como materia prima para productos alimenticios	750 ppb
<b>Fumonisina</b> en productos de maíz para consumo humano directo (“ <u>propuesta</u> ”)	400 ppb
<b>Zearalenona</b> en harina de maíz (“ <u>propuesta</u> ”)	200 ppb



# ●●● Micotoxinas Producidas: Durante el Almacenamiento

Maíz almacenado  
apropiadamente



Maíz expuesto a la humedad  
durante 18 días



## Micotoxinas Producidas por Mohos: Pre-Cosecha





## Aflatxinas y micotoxinas

Charm fabrica una variedad de pruebas ROSA (Rapid One Step Assay) para detectar micotoxinas (aflatoxina, DON / vomitoxina, fumonisina, ocratoxina, T2 / HT2 y zearalenona). en la alimentación y el grano.

La ocratoxina es producida por *Penicillium* y *Aspergillus* y se sabe que causa nefropatía en animales de granja Utilizando la innovadora tecnología ROSA, las pruebas de micotoxinas de flujo lateral de Charm son fáciles de usar y brindan resultados rápidos y cuantitativos.

Todas las pruebas de micotoxina ROSA siguen un formato de ensayo similar y se pueden leer en el mismo equipo

La prueba cuantitativa de Fumonisina ROSA FAST5 permite a los productores de granos y piensos detectar cuantitativamente la fumonisina en un ensayo de cinco minutos. Este Rapid One Step Assay es una prueba cuantitativa de flujo lateral que se lee en el sistema Charm EZ-M o en el lector ROSA-M.

La prueba FUMQ-FAST5 está aprobada por Charm para los siguientes productos y mas :

- Cebada
- Maíz
- Harina de gluten de maíz
- Granos secos de Distiller con Solubles
- Granos de maíz en escamas
- Mijo
- Avena
- Arroz con cáscara
- Sorgo
- Trigo



## WET<sup>®</sup>-S EXTRACTION PACKET

La tecnología de extracción de agua (WET) de Charm<sup>®</sup> es un avance innovador que utiliza un polvo y agua de extracción no peligrosos para extraer micotoxinas en una solución acuosa eliminando la necesidad de etanol o metanol.

Este método de extracción combinado con las pruebas de flujo lateral ROSA<sup>®</sup> de Charm crean un método para analizar de manera rápida y precisa las micotoxinas en granos y piensos.

Las pruebas ROSA WETS-5 de Charm para aflatoxina, fumonisina y zearalenona están aprobadas por FGIS



**ROSA® WET®-S5 Aflatoxin Quantitative Test Flow Chart (3:1 Extraction)**



See Approved Commodities Below

**Test Range: 0 to 150 ppb**

**GIPSA-Approved Commodities:**

Corn, Corn Flour, Corn Grits, Corn Meal, Corn Screenings, Hominy, Oats, Rough Rice, Sorghum, Wheat

Sample Preparation

**(1) Weigh**  
Ground sample  
50 g

**(2) Add Powder**  
Add WET-S Extraction Powder  
1 Packet for 50 g Sample

**(3) Add Water**  
Deionized, Distilled, or Bottled Water  
150 mL

**(4) Extract**  
Shake vigorously for at least 1.5 minutes; do not exceed 2.5 minutes

**(5) Clarify**  
Centrifuge<sup>A</sup>

**(6) Dilute**  
Prepare Diluted Extract

300 µL Extract + 600 µL AFQ Dilution Buffer → Mix → Diluted Extract

<sup>A</sup>Use the centrifuged extract within 2 hours

Test Procedure

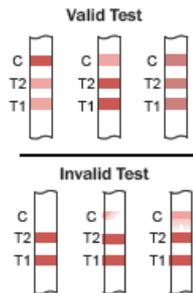
**(1)**  
Place test strip in ROSA Incubator or Charm EZ®-M system.  
For Charm EZ-M system select appropriate test, commodity and dilution if prompted.

**(2)**  
Peel tape.  
Pipet 300 µL Diluted Extract into sample compartment.  
Reseal tape.

**(3)**  
Close lid.  
Incubate for 5 minutes.

Read Result

**(1) Inspect test strip**



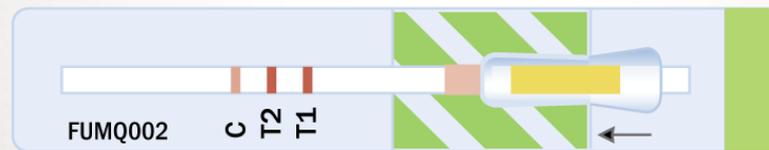
**(2) Read result with ROSA-M Reader or Charm EZ-M system**

**ROSA-M Reader:** Select MYCO2 channel in 3-line mode (blinking) and appropriate MATRIX.

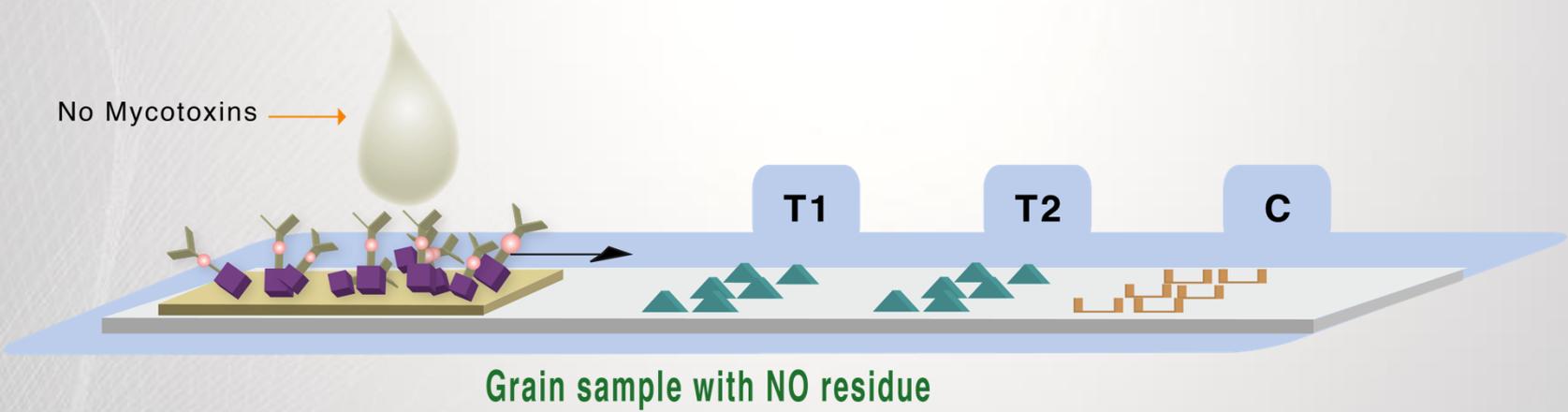
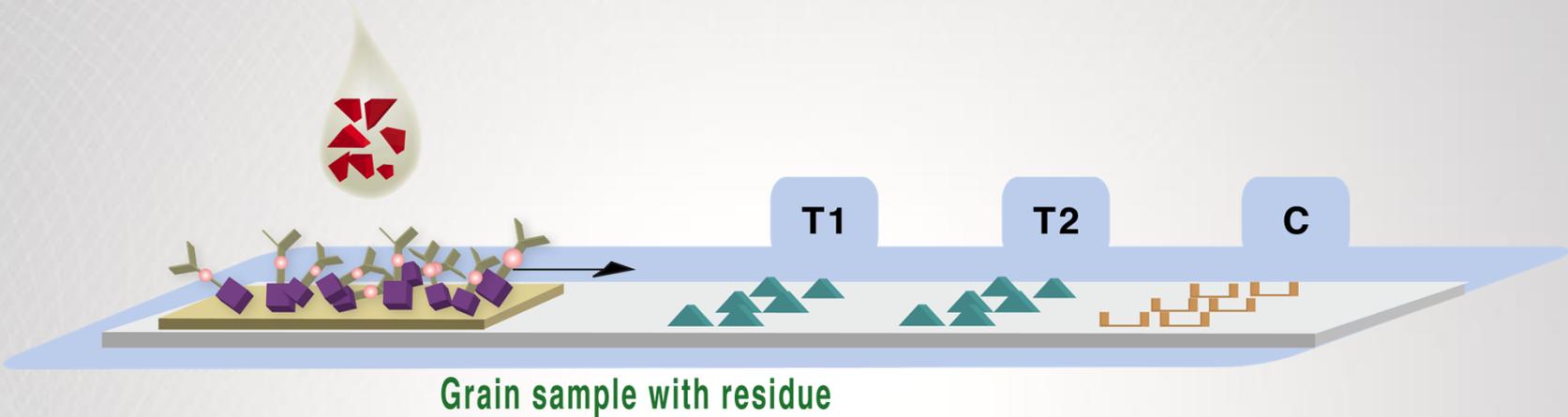
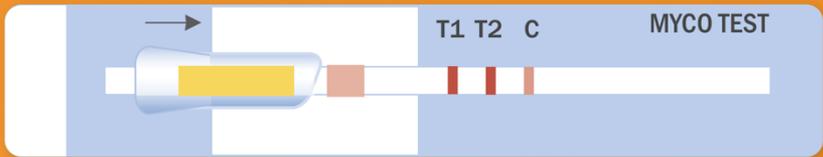
**Charm EZ-M system:** Select appropriate test, commodity and dilution if prompted.

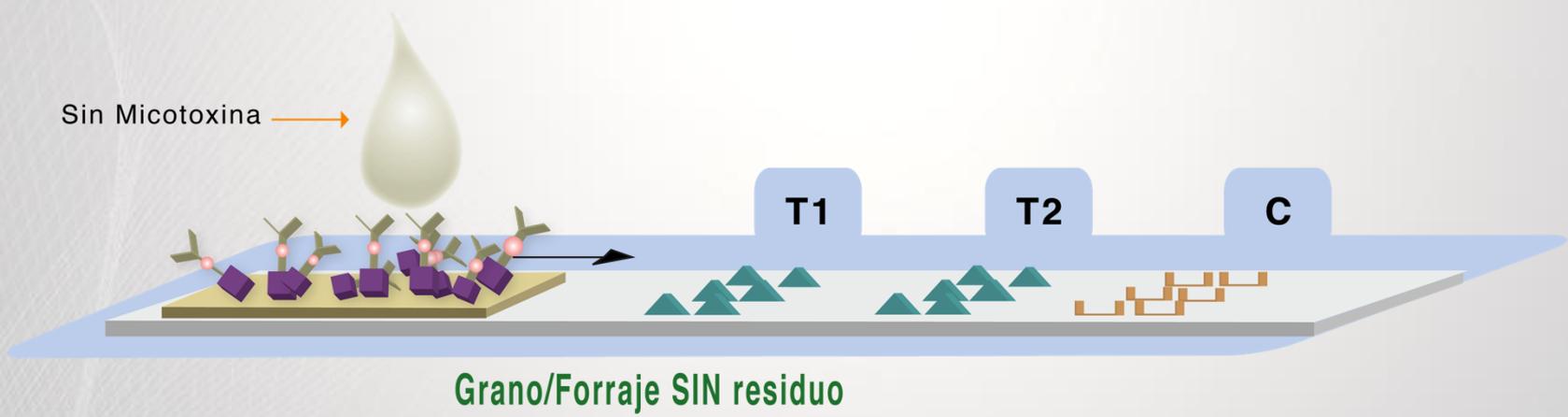
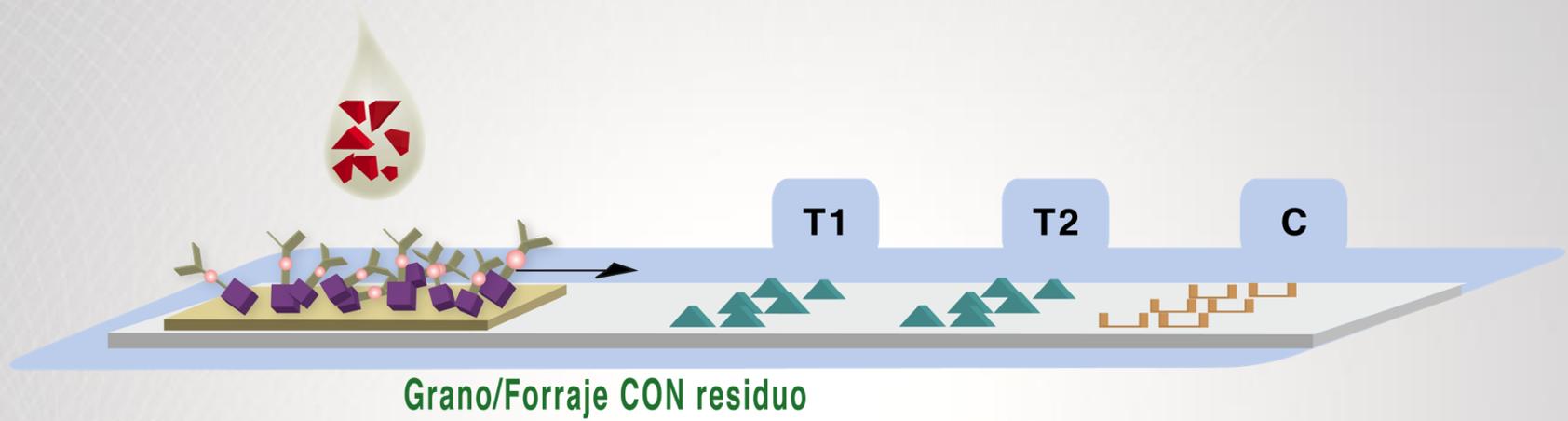
Commodity	Sample (Dilution)	MATRIX	Quantitation Range	LOD
Corn, Corn Grits, Corn Meal, Hominy	Diluted Extract (DE)	00	0 to 150 ppb	2 ppb
		01		
Corn Flour, Corn Screenings, Oats, Rough Rice, Sorghum, Wheat				

PRUEBAS DE MICOTOXINAS PARA GRANOS ROSA  
PRINCIPIO DE LA PRUEBA



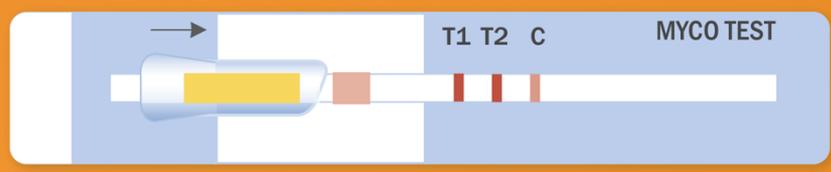
**Rapid One Step Assay**



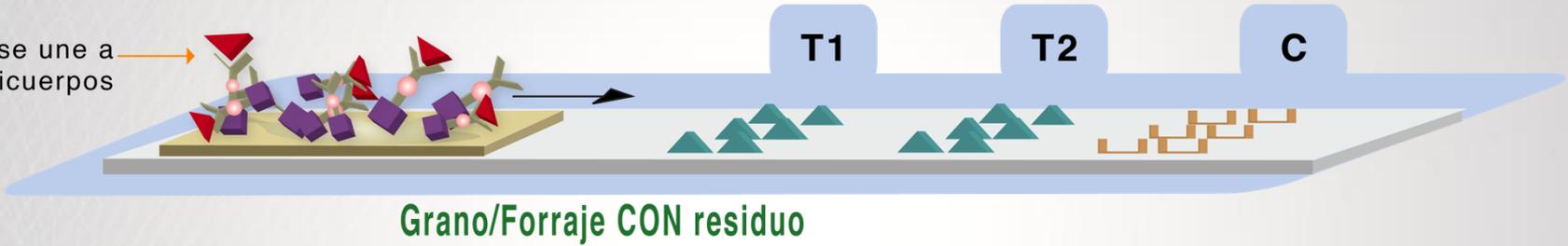


# Principio de la Prueba ROSA

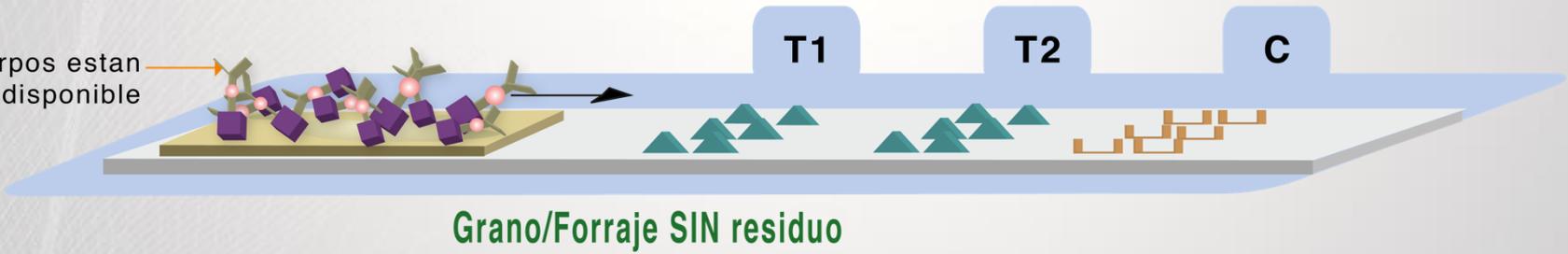




Micotoxina se une a los anticuerpos



Anticuerpos estan disponible

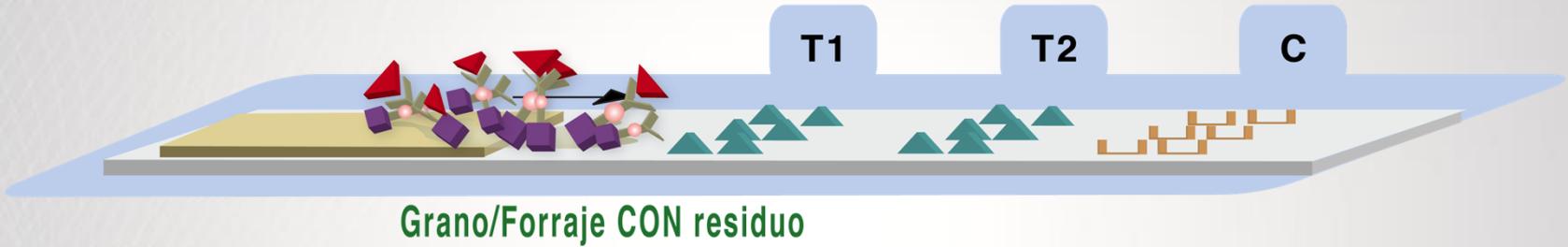
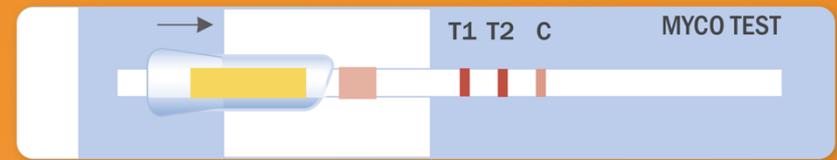


# Principio de la Prueba ROSA



- Oro Coloidal
- Anticuerpos
- Micotoxina

- Línea de prueba
- Línea de control



Movimiento de Flujo Lateral



Grano/Forraje SIN residuo

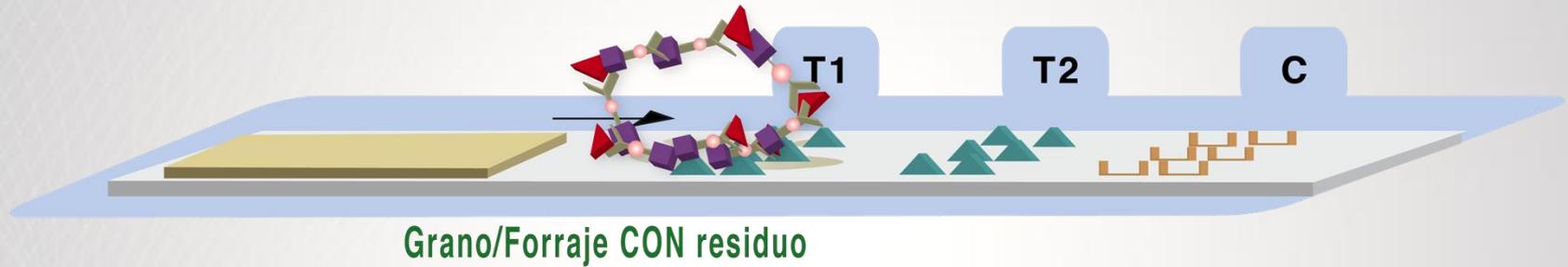


# Principio de la Prueba ROSA

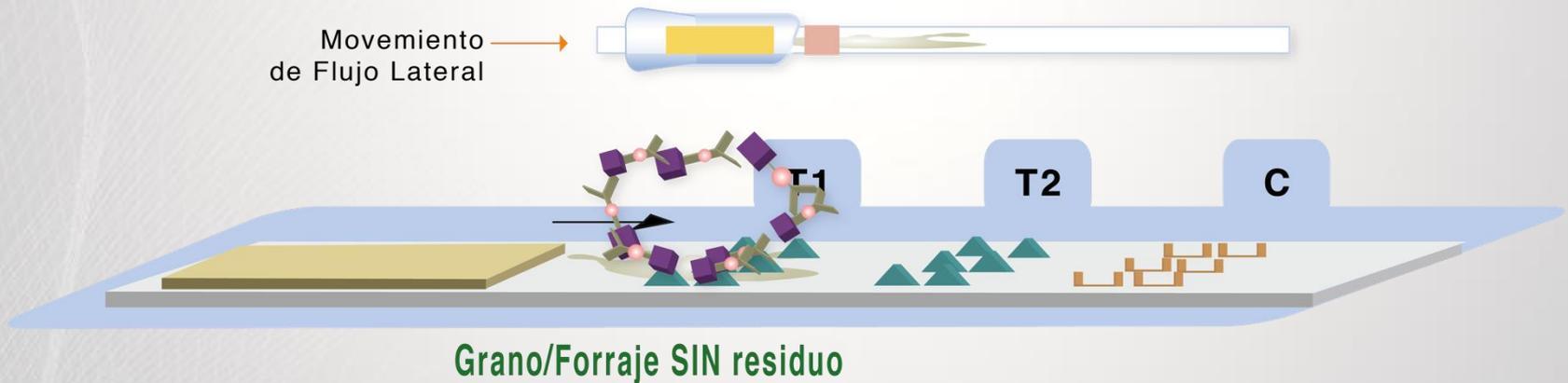


Oro Coloidal  
Anticuerpos  
Micotoxina

Línea de prueba  
Línea de control



Movimiento de Flujo Lateral

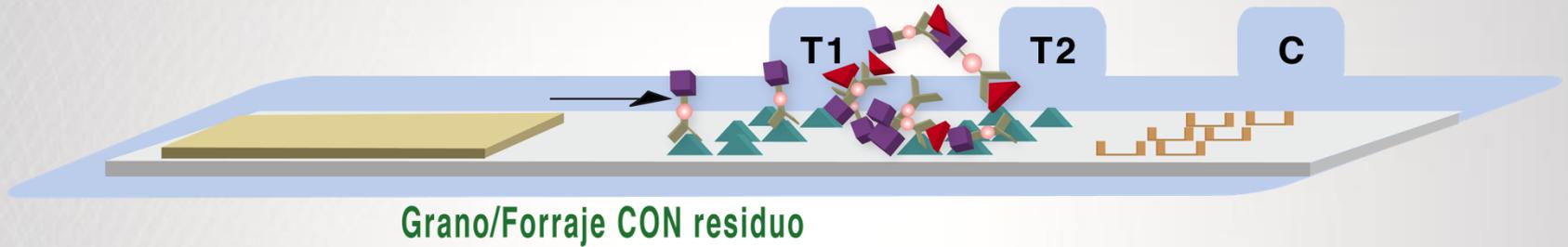
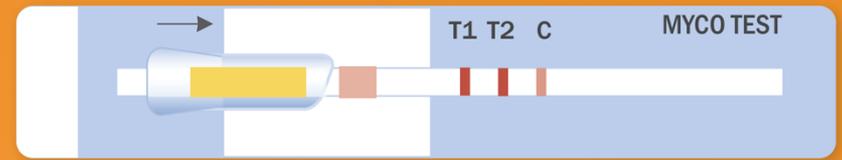


# Principio de la Prueba ROSA

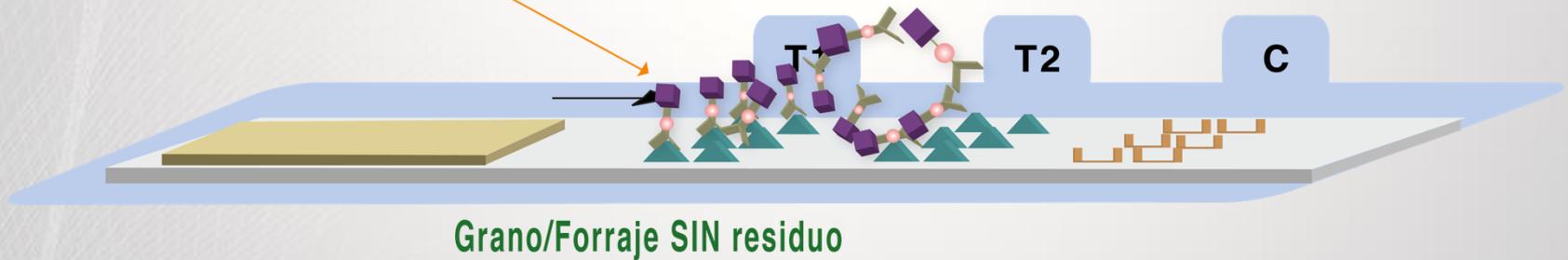


Oro Coloidal  
Anticuerpos  
Micotoxina

Línea de prueba  
Línea de control



Anticuerpos disponibles se unen a la línea de prueba

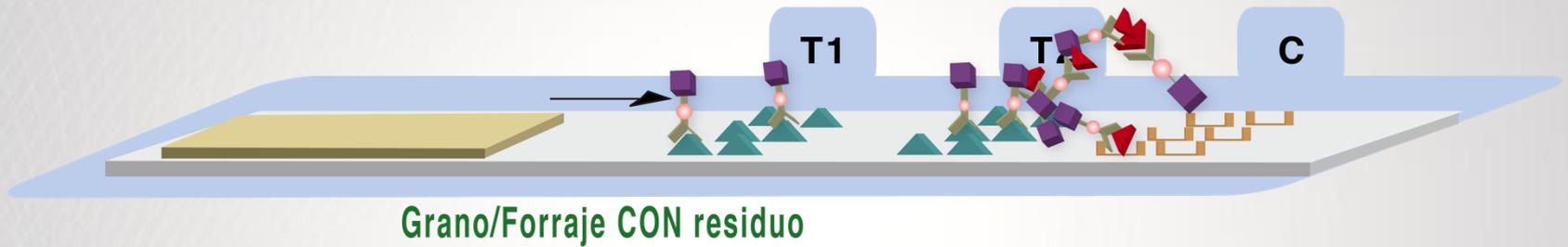
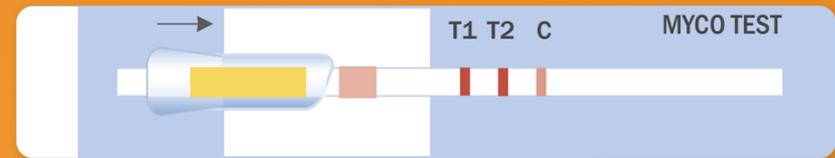


# Principio de la Prueba ROSA

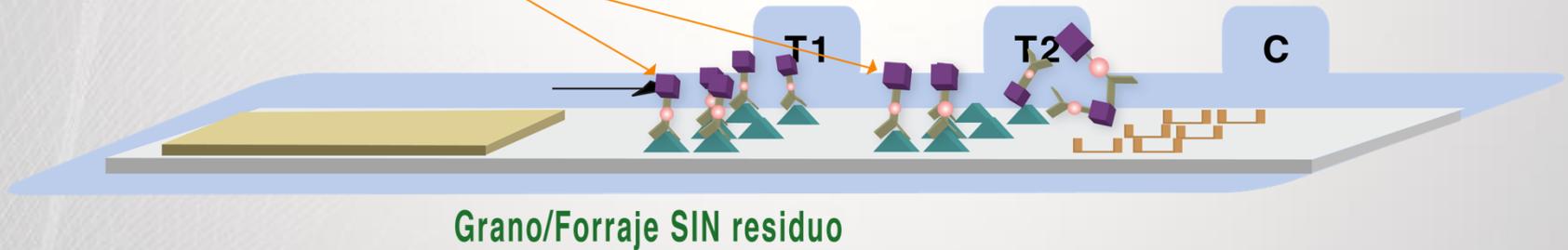


Oro Coloidal  
Anticuerpos  
Micotoxina

Línea de prueba  
Línea de control



Anticuerpos disponibles se unen a la línea de prueba



# Principio de la Prueba ROSA

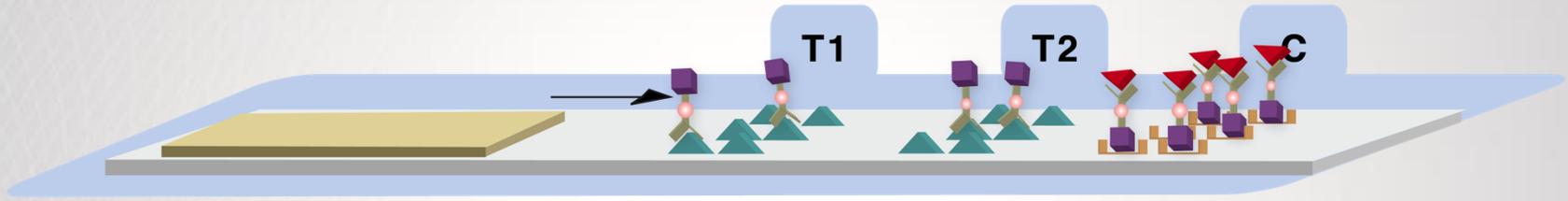


- Oro Coloidal
- Anticuerpos
- Micotoxina

- Línea de prueba
- Línea de control



POSITIVO

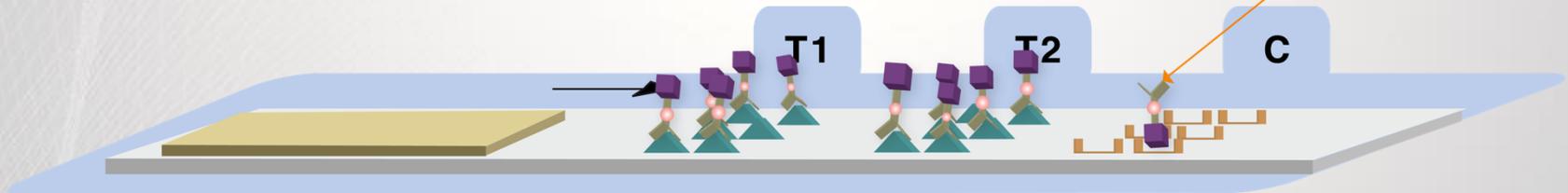


Grano/Forraje CON residuo

NEGATIVO



El resto de los complejos se unen a la línea de control



Grano/Forraje SIN residuo



# Tecnología ROSA de Flujo Lateral

- Tira protegida

- Elimina exposición al ambiente
- Previene contacto directo al usuario, muestras positivas
- Etiqueta permite identificar muestra
- Tiras corridas pueden guardarse
- Control Positive incluido con el kit



- Incubación Controlada – necesaria para unión de anticuerpo

- Temperatura (45°C)
- Tiempo (cronómetro regresivo)

- Interpretación con Lector – **Curva de calibración programada**

- Elimina subjetividad
- Cuantifica
- Transferencia/impresión datos
- Conecta directamente a LIMS



# Beneficios:

## FACILIDAD DE USO REDUCE EL ERROR POR OPERARIOS

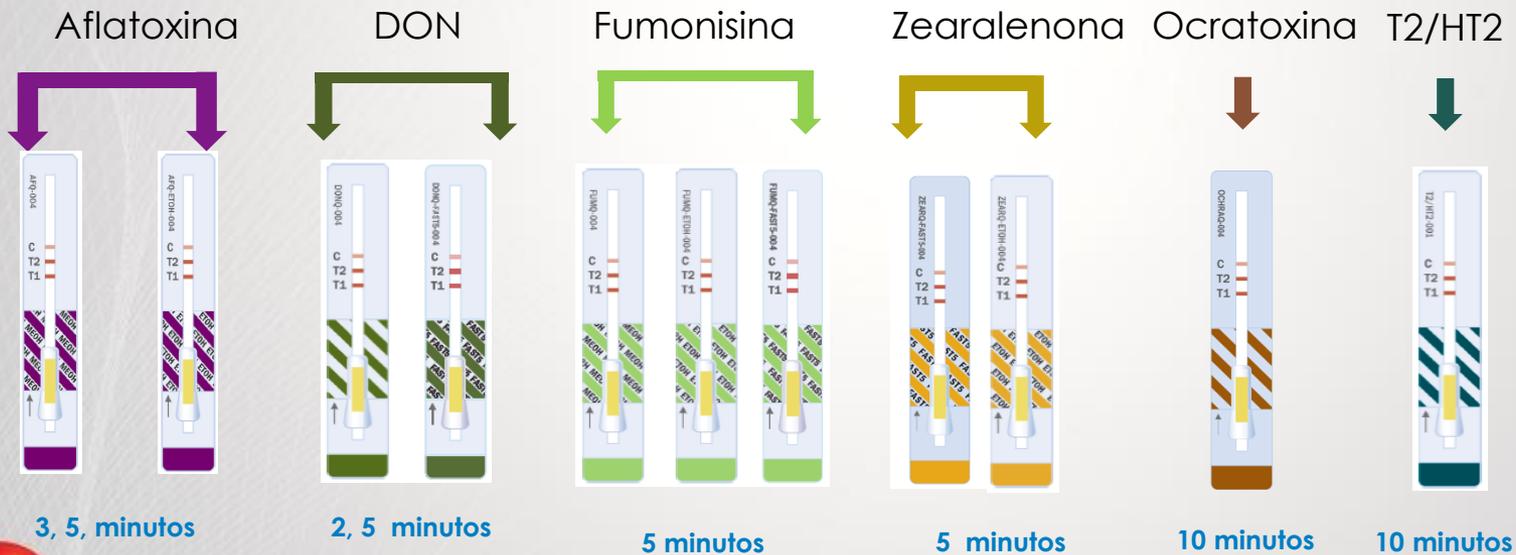
- El sistema EZ-M reconoce el color de la tira ROSA®
- Identifica la familia a analizar automáticamente
- Selecciona
  - Temperatura de Incubación
  - Tiempo de Incubación
- El usuario define
  - Producto
  - Dilución (matrices están pre-programadas)
- Incubadoras externos para correr múltiples muestras



- Dos plataformas primarias para Aflatoxina, DON, Fumonisina y Zearalenona

- **WET(S) (Water Extraction Technology)** utiliza polvo de extracción y agua destilada para extraer toxinas en 3 - 5 minutos

Para Ocratoxina y T2-HT2 extracción con metanol al 70% en 10 minutos





# Tiras de Calibración

Las tiras de calibración determinan si el lector esta leyendo apropiadamente la posición de la línea y su desarrollo pero no tiene impacto en la función de la prueba

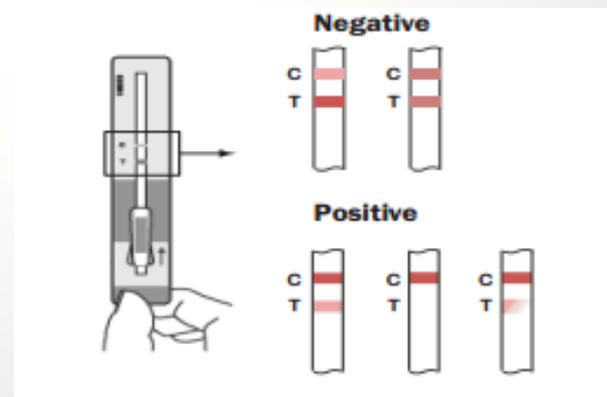
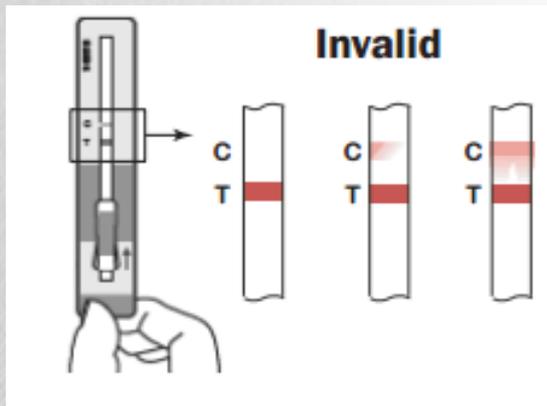


Corra las tiras de calibración diariamente





# Interpretación de resultados Visual



## Kits de tira de flujo lateral ROSA (Rapid One Step Assay)

Prueba	Detecta	Incubación	Tiempo Resultado
Charm ROSA Tetracycline-SL	clortetraciclina, oxitetraciclina y tetraciclina en la leche	56 ± 1 °C	8 minutos
ROSA Amphenicol Test	cloranfenicol en la leche además de florfenicol y tianfenicol	40 ± 2 °C	8 minutos
Charm Tetracycline Test	residuos de tetraciclina en la leche, clortetraciclina, oxitetraciclina	56 ± 1 °C	8 minutos
Charm TRIO Test	Detecta betalactámicos, sulfamidas y tetraciclinas	56 ± 1 °C	3 minutos
Charm QUAD3	Fármacos aminoglucósidos en leche mezclada cruda	56 ± 1 °C	5 minutos
Streptomycin Test	Estreptomina y la dihidroestreptomina, antibióticos en la familia de los aminoglucósidos, en la leche, pueden inhibir el crecimiento de los cultivos de yogur y queso	56 ± 1 °C	8 minutos
MRL Beta-lactam	detecta 13 fármacos beta-lactámicos	56 ± 1 °C	1 minuto
<b>MRL Beta-lactam and Tetracycline Test ***</b>	14 fármacos beta a lactámicos y tres medicamentos con tetraciclina en la leche	56 ± 1 °C	8 minutos
3 SL3 Beta-lactamas	detecta las seis beta-lactamas especificadas por FDA.	56 ± 1 °C	3 minutos
SL Beta-lactam	detectar cinco fármacos beta-lactámicos en leche de bovino, cabra, oveja y búfala	56 ± 1 °C	8 minutos
MRL Beta-lactam Test	detecta 13 fármacos betalactámicos primarios en la leche a los límites máximos de residuos	56 ± 1 °C	8 minutos
SL-KIWI Beta-lactam Test	cinco fármacos beta-lactámicos y otros 10 betalactámicos, incluido el cefalonio	56 ± 1 °C	8 minutos
Beta-lactam and Tetracycline 2-Minute	13 betalactámicos y tres tetraciclínicos	56 ± 1 °C	3 o 8 minutos
Chloramphenicol Test 0,15 ppb	cloranfenicol en la leche, tan bajo como 0,15 ppb	56 ± 1 °C	8 minutos
SL Aflatoxin M1 Quantitative	La prueba permite a las lecherías y fabricantes de alimentos detectar la aflatoxina M1 al nivel de acción de FDA de los EE. UU. De <b>0.5 ppb</b> (500 ppt)	56 ± 1 °C	8 minutos
MRL Aflatoxin M1 Quantitative	lecherías y fabricantes de alimentos detectar la aflatoxina M1 en la leche en el MRL de la UE de <b>0.050 ppb</b> (50 ppt).	56 ± 1 °C	15 minutos
<b>Sulfa Test</b>	15 drogas de sulfonamida en la leche	56 ± 1 °C	8 minutos